Universitätsklinikum Ulm
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. R. Kreienberg

Epidemiologische Studie zur Prävalenz akuter und chronischer Chlamydia trachomatis Infektionen bei gesunden Frauen, Frauen mit vorzeitigem Blasensprung und Frauen, die an einer Sterilität leiden, in Ghana, Westafrika

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Vorgelegt von
Tillmann Oliver Theile
aus Herdecke
2008

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin

1. Berichterstatter: Prof. Dr. R. Kreienberg

2. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Essig

Tag der Promotion: 19.12.2008

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis ..... **III**

1 Einleitung **1**

1.1 DIE CHLAMYDIEN 2

1.2 CHLAMYDIA TRACHOMATIS 4

1.2.1 Klinik *4*

1.2.2 Therapie *6*

1.2.3 Prävalenzen *6*

1.2.4 Diagnostik *7*

1.3 FRAGESTELLUNGEN 8

2 Material und Methode **9**

2.1 STUDIEN - UND KOLLEKTIVGRUNDLAGEN 9

2.1.1 Probandenkollektive *9*

2.1.2 Patienteninterview und Probengewinnung *10*

2.2 MATERIAL 12

2.2.1 Untersuchungsmaterial *12*

2.2.2 Materialien für den ELISA *12*

2.2.3 Materialien für die PCR *12*

2.2.4 Chemikalien für den ELISA *13*

2.2.5 Chemikalien für die PCR *13*

2.2.6 Geräte für den ELISA *14*

2.2.7 Geräte für die PCR *14*

2.3 METHODEN 15

2.3.1 Probenaufarbeitung *15*

2.3.2 Nachweis spezifischer IgG und IgA Antikörper mit Hilfe des ELISA *16*

2.3.3 Nachweis von Chlamydia trachomatis mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) *19*

2.3.4 Mathematisch-statistische Methoden *23*

3 Ergebnisse **24**

3.1 DESKRIPTIVE STATISTIK ZUM GESAMTKOLLEKTIV 24

3.1.1 Prävalenz von akuten C. trachomatis Infektionen in Ghana bei gesunden Frauen, bei Frauen mit vorzeitigem Blasensprung und bei Frauen im gebärfähigen Alter, bei denen eine Sterilität vorliegt *26*

3.1.2 Prävalenz von chronischen bzw. durchgemachten C. trachomatis Infektionen in Ghana bei gesunden Frauen, bei Frauen mit vorzeitigem Blasensprung und bei Frauen im gebärfähigen Alter, bei denen eine Sterilität vorliegt *27*

3.1.3 Risikofaktoren für eine Sterilität bei Frauen im gebärfähigen Alter unter besonderer Berücksichtigung von chronischen Infektionen mit Chlamydia trachomatis *30*

3.1.4 Chlamydia trachomatis als Risikofaktor für einen vorzeitigen Blasensprung 34

4 Diskussion 35

4.1 PRÄVALENZ VON CHLAMYDIA TRACHOMATIS IN DEN UNTERSUCHTEN GRUPPEN 35

4.2 CHLAMYDIA TRACHOMATIS ALS RISIKOFAKTOR FÜR EINEN VORZEITIGEN BLASENSPRUNG 38

4.3 CHLAMYDIA TRACHOMATIS ALS RISIKOFAKTOR FÜR EINE STERILITÄT 39

4.4 EIGNUNG DER SERODIAGNOSTIK FÜR DEN NACHWEIS CHRONISCHER INFEKTIONEN MIT CHLAMYDIA TRACHOMATIS 41

5 Zusammenfassung 45

6 Literaturverzeichnis 47

7 Danksagungen 57

8 Lebenslauf 59

Abkürzungsverzeichnis

AOR	adjustiertes Risiko (engl. adjusted Odds Ratio)
ATP	Adenosintriphosphat
C.	Chlamydia
COI	engl. Cut-off-Index
COV	engl. Cut-off-Wert
CT	Chlamydia trachomatis
CT/NG	Chlamydia trachomatis / Chlamydia trachomatis-Negativkontrolle
DMF	Dimethylformanid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. Desoxyribonuklein acid)
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphate
dUTP	Desoxyuridin-Triphosphate
EIA	engl. Peptide-based Enzyme Immuno Essay
ELISA	engl. Enzyme-linked Immunosorbent Assay
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
KI	Konvidenz Intervall
MIF	Mikroimmunfluorescence
min	Minute
MRP	Meerrettich-Peroxidase
OR	adjustiertes Risiko (engl. adjusted Odds Ratio)
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Kettenreaktion (engl. Polymerase Chain Reaction)
PID	Chronische Unterbauchentzündung (engl. Pelvic inflammatory disease)
PS	Polystyrol
RNA	Ribonukleinsäure (engl. Ribonuclein acid)
SSW	Schwangerschaftswoche
STD	Sexuell übertragbare Erkrankungen (engl. Sexually transmitted diseases)
TMB	Tetramethylbenzidin
UNG	Uracil-N-Glycolase
Upm	Umdrehungen pro Minute
WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl. World Health Organisation)

1 Einleitung

Chlamydia trachomatis gehört weltweit zu den häufigsten sexuell übertragenen Erregern. Infektionen des Urogenitaltraktes mit Chlamydia trachomatis verlaufen meist asymptomatisch, sie chronifizieren aber leicht und führen zu subklinischen Infektionen im kleinen Becken mit konsekutiven Verwachsungen in diesem Bereich. Solche Verwachsungen können die Ursache sein für chronische Unterleibsbeschwerden und tubare Sterilität. Extrauteringraviditäten, die in der Folge der eingeschränkten Eileiterfunktion entstehen können, können im Falle einer Ruptur mit einer lebensgefährlichen Blutung und erheblichen Komplikationen verbunden sein. Darüber hinaus kann eine Infektion mit Chlamydia trachomatis in der Schwangerschaft möglicherweise zu vorzeitigem Blasensprung und Frühgeburt führen.

In Entwicklungsländern führen Extrauteringraviditäten mit Ruptur und Blutung aufgrund der unzureichenden medizinischen Versorgung häufig zum Tod der betroffenen Frauen. Sterilität stellt in diesen Ländern oft ein großes soziales Problem für die betroffenen Frauen dar, da sie nicht selten zur gesellschaftlichen Ausgrenzung und wegen der fehlenden sozialen Absicherung dann meist auch zur Verarmung der betroffenen Frauen führt.

In den Industrieländern sind die Prävalenz des Erregers und die Folgen der Infektion gut untersucht und Präventionsmaßnahmen sowie Screeninguntersuchungen etabliert. Um auch in den Entwicklungsländern sinnvolle Strategien zur Prävention und Behandlung von Chlamydia trachomatis Infektionen zu entwickeln, sind Daten zur Prävalenz und zu den dort relevanten Komplikationen von Chlamydia trachomatis Infektionen unerläßlich. Diese Daten liegen für Afrika bisher kaum vor. Die vorliegende Studie trägt zur Ermittlung dieser Daten bei und untersucht gleichzeitig die Eignung verschiedener Testverfahren für Länder mit Ressourcenknappheit.

1.1 Die Chlamydien

Schon im Altertum wurden durch Chlamydien hervorgerufene Erkrankungen beschrieben und auch therapiert [Schachter u. Dawson1978]. So wurde in Ebers Papyrus vor bereits 3500 Jahren eine granulomatöse Augenerkrankung beschrieben, die mit einem Kupfersalz therapiert wurde. Diese granulomatöse Augenerkrankung, heute als Trachom bekannt, verbreitete sich Ende des 18. Jahrhunderts nach den Feldzügen Napoleons als „ägyptische Augenkrankheit“ auch in Europa.

1907 wurde C. trachomatis erstmals durch Halberstädter und Prowazek als intrazytoplasmatischer Einschluss in Konjunktivalabstrichen von Patienten nachgewiesen, die am Trachom erkrankt waren [Halberstädter u. Prowazek 1907]. Drei Jahre später gelang der Nachweis von Einschlußkörpern auch in Zellen aus Urethralabstrichen von Männern mit nichtgonorrhoischer Urethritis sowie aus Zervikalabstrichen von Müttern, bei deren Kindern eine neonatale Einschlußkörper-Konjunktivitis festgestellt wurde. Es gelang die Aufdeckung des Zusammenhangs zwischen okulären und genitalen Krankheitsbildern [Fritsch et al. 1910]. Dass sie ebenfalls der Erreger von Adnexitiden sein können, wurde 1934 von Hamburger beschrieben.

Heute sind in der Gattung der Chlamydia (C.) in der Familie der Chlamydiaceae, die die drei humanpathogenen Arten C. trachomatis, C. psittaci und C. pneumonie bekannt [Hoyme 1987, Schindler et al. 1983].

Chlamydien sind obligat intrazelluläre, unbewegliche und gramnegative Bakterien. Sie sind nicht in der Lage ATP zu synthetisieren und sind deshalb auf die ATP-Synthese der Wirtszelle angewiesen, um sich zu vermehren. Der Reproduktionszyklus umfasst zwei Formen, das Elementarkörperchen und das intrazelluläre Retikularkörperchen. Das Elementarkörperchen ist die infektiöse Form der Chlamydien, es ist metabolisch inaktiv und kann extrazellulär überleben. Es haftet sich an die Wirtszelle (normalerweise Epithelzellen des Urogenitaltraktes oder des Respirationstraktes) und tritt in einem Phagosom in die Zelle ein. Dort wandelt es sich in das metabolisch aktive Retikularkörperchen um und vermehrt sich innerhalb intrazellulärer Vakuolen, dem Einschlußkörperchen, durch Querteilung. Nach mehreren Teilungen werden aus den Retikularkörperchen wieder Elementarkörperchen und es kommt zu einer Lyse der Wirtszelle mit Freisetzung der Elementarkörperchen, die nun in der Lage sind weitere Zellen zu

infizieren. Der Reproduktionszyklus dauert bei C. trachomatis 24 - 36 Stunden und bei C. pneumonie 72 – 96 Stunden [Storz u. Spears1977] .

Die drei humanpathogenen Arten der Chlamydien verursachen beim Menschen unterschiedliche Erkrankungen:

- C. psittaci ist Auslöser einer Ornithose, die sich beim Menschen als atypische Pneumonie äußert [Smith et al. 2005].
- C. pneumonie verursacht Entzündungen des Atemtraktes und des kardiovaskulären Systems [Essig u. Marre 1997].
- C. trachomatis wird basierend auf den antigenetischen Eigenschaften des Major Outer Membran Protein in 19 Serovare eingeteilt [Epidemiologisches Bulletin 12/2001]:
  Die Serotypen A - C verursachen das Trachom, eine in den Tropen verbreitete chronisch rezidivierende Erkrankung der Bindehäute und der Hornhaut.
  Die Serotypen D - K verursachen sexuell übertragbare urogenitale Infektionen (und Augeninfektionen) sowie nach perinataler Übertragung Neugeborenen-Infektionen.
  Die Serotypen L1, L2 und L3 verursachen das Lymphogranuloma venereum, eine sexuell übertragbare Krankheit, die vorwiegend in den Tropen vorkommt.

Alle Erkrankungen sind bei rechtzeitiger Diagnose mit Antibiotika gut therapierbar. Das Erregerreservoir von C. psittaci sind vor allem Vögel und fast alle Haustiere. Die Übertragung auf den Menschen erfolgt aerogen. C. pneumonie kommt ausschließlich beim Menschen vor, die Übertragung erfolgt aerogen oder durch Speichelkontakt. Die Inkubationszeiten betragen bei beiden Erregern 1 – 4 Wochen. Auch C. trachomatis ist ein rein humanpathogener Erreger. Eine Infektion mit dem Erreger ist durch sexuellen Kontakt sowie perinatal möglich. Weiterhin kann der Erreger durch infektiöses Augensekret (Fliegen und Schmierinfektionen) und durch die Hände übertragen werden. Die Inkubationszeit beträgt etwa 1-3 Wochen, kann jedoch bei Genitalinfektionen auch bis zu 6 Wochen betragen [Epidemiologischen Bulletin 12/2001].

Da es sich bei dem in dieser Dissertation untersuchten Erreger um die Serovare D bis K von Chlamydia trachomatis handelt, soll hier nun auf diesen Erreger genauer eingegangen werden.

1.2 Chlamydia trachomatis

1.2.1 Klinik

Die Serovare D bis K sind chrakteristisch assoziert mit einer mukopurolenten Zervizitis bei Frauen und einer Urethritis bei Männern und Frauen. Abhängig von den sexuellen Praktiken kann sich eine Infektion auch als Proktitis oder Pharyngitis manifestieren. Die akute Infektion mit C. trachomatis verläuft meistens oligo- oder asymptomatisch und wird deshalb häufig nicht erkannt und nicht behandelt [Stamm et al. 1990]. Es entsteht dadurch ein Reservoir für den Erreger, das seine weitere Verbreitung begünstigt. Bei mindestens einem Drittel der infizierten Frauen zeigen sich lokale Symptome. Meist handelt es dabei um einen mukopurolenten Zervixausfluss und eine Hypertrophie der Zervixektopie [Stamm et al. 1990].

1.2.1.1 Komplikationen persistierender Infektionen

Da die Infektion in der Regel asymptomatisch verläuft und deshalb nicht therapiert wird, kann der Erreger persistieren und über die Adnexe in das kleine Becken aufsteigen. Dies kann zu akuten und chronischen Unterleibsentzündungen mit Infektionen der Gebärmutter, der Tuben und der Eierstöcke, dem Komplex der „Pelvic inflammatory disease“ (PID) führen. Als Folge solcher chronischen Entzündungen kommt es oft zu Verwachsungen, die wiederum Ursache für einen auch beidseitigen Tubenverschluss sein können. Diese Tubenfunktionstörung kann zu tubarer Sterilität oder zur Entstehung einer Extrauterin-Gravidität führen. Die Ruptur einer Extraunteringravidität ist nicht selten mit einer lebensbedrohlichen Blutung assoziiert, die wegen des nicht ausreichend vorhandenen Blutdepots eine der häufigsten Todesursachen junger Frauen in den Entwicklungsländern ist [Rice u. Schachter 1991]. Bereits nach einer Episode PID liegt die Rate der Sterilität bei 11%, welche auf 23% bzw. 54% nach zwei bzw. drei Episoden ansteigt [Westrom et al. 1992]. Die Rate der zu erwartenden Extrauteringraviditäten wird weit höher liegen, da für ihr Enstehen schon die Passagestörung in nur einem Eileiter ausreicht. Neben der Extrauteringravidität mit ihren lebensbedrohlichen Folgen bedeutet für die Frauen in den Entwicklungsländern auch die Sterilität ein besonderes Problem. Frauen mit einer Sterilität droht die soziale Ausgrenzung, es ist ihnen kaum möglich zu heiraten und eine Familie zu gründen. Damit bleibt die gesellschaftliche Anerkennung verwehrt und es drohen enorme wirtschaftliche Probleme, da durch fehlende staatliche Sozialleistungen die Absicherung für das

Alter durch Nachkömmlinge in der eigenen Familie besonders wichtig ist [Walraven et al. 2001].

1.2.1.2 Komplikationen während der Schwangerschaft

Akute Infektionen während einer Schwangerschaft können durch perinatale Übertragungen Neugeborenen-Infektionen auslösen. Bei der Passage durch den Geburtskanal können die Chlamydien direkt in die Augen gelangen oder durch die Inhalation von infektiösen Sekreten in den Respirationstrakt gelangen. 20 bis 40 % der Kinder von Schwangeren mit einer Chlamydienzervizitis entwickeln eine meist einseitige Konjuktivitis [Salpietro et al. 1999; Shen et al. 1995]. Bei mindestens 20% der Kinder chlamydieninfizierter Schwangeren tritt eine Pneumonie auf, die aber wegen der Symptomarmut meist nicht erkannt wird [Darville 2005, Shen et al. 1995].

Bisher nicht geklärt ist die Frage, ob eine Infektion während der Schwangerschaft zu einem vorzeitigen Blasensprung führen kann. Eine Infektion der Zervix mit C. trachomatis könnte über die Freisetzung von Enzymen aus den Eihäuten zur Prostaglandinsynthese und damit zur Auslösung von uterinen Kontraktionen führen. Es ist allerdings auch möglich, daß die Freisetzung von lysosomalen Enzymen eine direkte Schädigung der Eihäute verursacht und somit deren Ruptur bedingt. Chlamydien sind in der Lage, sich in Amnionzellen zu vermehren und sich auf den wandständigen Amnionzellen auszubreiten. Von da aus schädigen sie dann die Eihäute [Link 1990]. Doch ist bisher die Studienlage widersprüchlich und es gibt sowohl Studien, die einen vorzeitigen Blasensprung nachweisen konnten [Kovacs et al. 1998, Mardh 2004, Ryan et al. 1990], als auch Studien, die keinen Zusammenhang zwischen C. trachomatis und einem vorzeitigen Blasensprung sehen [Cohen et al. 1990, Ismail et al.1992].

1.2.2 Therapie

Zur Behandlung einer Infektion mit C. trachomatis stehen unkomplizierte und effektive Antibiotikatherapien zur Verfügung:

- Unkomplizierte urogenitale Infektionen: Doxycyclin 100 mg, 2x am Tag für 7 Tage oder Azithromycin 1g als Einmalgabe.
- Infektionen während der Schwangerschaft: Erythromycin 500 mg oral 4x am Tag für 7 Tage oder Amoxicillin 500 mg oral 3x am Tag für 7 Tage.
- Neonatale Infektionen: Erythromycin-Sirup 50 mg/Tag auf 4 Einzelgaben verteilt für 14 Tage.

[Guidelines for the management of sexually transmitted infections, WHO 2003]

1.2.3 Prävalenzen

Chlamydia trachomatis gehört weltweit zu den häufigsten sexuell übertragenen Erregern. Abhängig von der untersuchten Population liegen die Prävalenzraten von C. trachomatis zwischen 2 und 20 %. In einer großen amerikanischen Studie hatten 4,19% der 12548 Probanden eine akute C. trachomatis Infektion [Miller et al. 2004], in europäischen Studien lag die Prävalenz zwischen 8,4% und 10,9% [Domeika et al. 2001, Tobin et al. 2001], in afrikanischen Studien zwischen 1,2% und 4,9% [Bentsi et al. 1985, Drescher et al. 1988, Gomes et al. 2001, Nagot et al. 2004, Pepin et al. 2004, Walraven et al. 2001] und in anderen Entwicklungsländern zwischen 15% bis 26% [Garland et al. 2001, Passey et al. 1998, Sullivan et al. 2003]

Es gibt verschiedene Risikofaktoren, die mit einer Infektion assoziiert sind. Am größten ist die Gefahr einer Infektion für junge sexuell aktive Personen. Zusätzlich haben Prostituierte, Personen mit einem neuen Sexualpartner oder Personen mit vielen und wechselnden Sexualpartnern ein erhöhtes Risiko für eine Infektion [Gaydos et al. 1998, US Preventive Services Task Force 2001].

Nach Schätzungen des Centers for Disease Control and Prevention, USA, infizieren sich in den USA jedes Jahr 3 Millionen junge, sexuell aktive Menschen mit C. trachomatis. Wegen der hohen Prävalenzraten und des asymptomatischen Verlaufs einer Infektion mit C. trachomatis sind Screening Programme zum Beispiel in den USA, Schweden und Großbritannien etabliert

worden, um die Rate der PID zu senken und geburtshilflichen Komplikationen vorzubeugen [Peipert 2003, Scholes et al. 1996, US Preventive Services Task Force 2001].

1.2.4 Diagnostik

Zur Diagnostik von Infektionen mit C. trachomatis stehen eine vielzahl verschiedener Testverfahren zur Verfügung. Zum direkten Erregernachweis bei genitalen C. trachomatis Infektionen haben sich Nukleinsäure-Amplifikationstests bewährt. Aufgrund ihrer hohen Sensitivität (90-95%) und Spezifität (bis zu 100%) sind sie zur Zeit der Goldstandard in der Diagnostik akuter Infektionen mit C. trachomatis [Schütt u. Essig 2004]. Studien aus letzter Zeit haben gezeigt, dass die Sensitivität für nicht invasiv gewonnene Proben wie Erststrahlurin oder vulvovaginale Abstriche vergleichbar sind mit Proben, die direkt aus der Cervix oder Urethra entnommen wurden. Dies hat auch den Vorteil, dass die Probenentnahme von den Patientinnen selbst durchgeführt werden kann, was für die Akzeptanz von Screeninguntersuchungen eine große Relevanz besitzt [Schachter et al. 2003, Shafer et al. 2003]. Deshalb sind Nukleinsäure-Amplifikationstests ein attraktives Diagnostikwerkzeug für das Screening von asymptomatischen Personen auch im Rahmen von epidemiologischen Studien.

Serologische Tests zur Diagnostik von akuten C. trachomatis Infektionen des unteren Genitaltraktes werden bisher nicht empfohlen. Doch könnte ein Screening nach C. trachomatis spezifischen Antikörpern hilfreich für die Diagnose von chronischen Infektionen mit C. trachomatis des oberen Genitaltraktes wie bei PID und Tubarschäden sein [Debattista et al. 2003, Shibahara et al. 2003], da hierbei der direkte Nachweis der Erreger-DNA oft nicht möglich ist.

Als Test der ersten Wahl für die Serodiagnostik von Chlamydia trachomatis gilt immer noch der Microimmunofluorescence Test (MIF), bei dem auf Glasträgern aufgebrachte gereinigte Elementarkörperchen von Chlamydia trachomatis zum Nachweis von Antikörpern verwendet werden. Doch stellt der Test an das Labor hohe technische und personelle Anforderungen und ist sehr zeitaufwändig und eignet sich deshalb nicht zum Screening großer Populationen. Neuere Peptide-based Enzyme Immuno Essays (EIA) basieren auf synthetischen Peptiden, die aus der variablen Domaine 4 (VD4) des Major Outer Membrane Protein von Chlamydia trachomatis hergeleitet werden. Diese EIAs haben eine vergleichbare Leistungscharakteristik wie der MIF für den Nachweis von Chlamydia trachomatis Antikörpern [Morre et al. 2002]. Der Arbeitsablauf dieser Essays ist automatisiert und das Ergebnis anhand von Titern abzulesen. Dies erlaubt eine bessere Vergleichbarkeit einzelner Messergebnisse im Vergleich zum MIF. Die EIAs eignen sich deshalb für epidemiologische Studien.

1.3 Fragestellungen

In Entwicklungsländern sind Daten zur Prävalenz von urogenitalen C. trachomatis Infektionen und deren Komplikationen kaum erhältlich. Eine genaue Kenntnis der epidemiologischen Situation ist jedoch die Grundlage, um geburtshilfliche Komplikationen und Sterilität vorzubeugen, und Behandlungs- und Screeningstrategien für Frauen mit einem hohen Risiko für eine C. trachomatis Infektion zu entwickeln. Eine Voraussetzung zur Gewinnung der erforderlichen Daten ist die Verfügbarkeit eines zuverlässigen, kosteneffizienten und einfach anwendbaren Testsystems zum Nachweis der C. trachomatis Infektionen.

Deshalb galt es, folgenden Fragen nachzugehen:

- Wie hoch ist die Prävalenz von akuten und durchgemachten bzw. chronischen C. trachomatis Infektionen in Ghana bei gesunden Frauen, bei Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung und bei Frauen im gebärfähigen Alter, bei denen eine Sterilität vorliegt?
- Welche Risikofaktoren können bei Frauen mit einer diagnostizierten Sterilität identifiziert werden? Und spielt insbesondere eine C. trachomatis Infektion als Risikofaktor für eine Sterilität in Ghana eine bedeutende Rolle?
- Ist eine Infektion mit C. trachomatis ein Risikofaktor für einen vorzeitigen Blasensprung?
- Sind der Nachweis von IgG/IgA-Antikörpern sinnvolle Diagnostika zum Nachweis einer chronischen C. trachomatis Infektion? Und sind diese Testverfahren als Screeningtest in Ländern mit Resourcenknappheit geeignet?
- Welche Konsequenzen können aus den Ergebnissen der Studie in Bezug auf Diagnostik und Therapie von Chlamydieninfektionen in Entwicklungsländern gezogen werden?

2 Material und Methode

2.1 Studien - und Kollektivgrundlagen

Es wurde eine Fall–Kontroll–Studie erarbeitet, die in der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe des Komfo Anokye Universitätskrankenhauses (Department of Obstetrics and Gynaecology, Komfo Anokye Teaching Hospital) in Kumasi, Ghana stattfand. Die Probanden dieser Studie waren schwarzafrikanische Frauen, die im Rahmen einer Sterilitätsbehandlung, einer Schwangerenvorsorgeuntersuchung oder aufgrund eines vorzeitigen Blasensprungs in dieser Abteilung behandelt wurden.

Die Teilnahme an dieser Studie war freiwillig. Die Probanden wurden über Sinn und Zweck dieser Studie aufgeklärt und wurden erst nach schriflicher Einwilligung in die Studie aufgenommen. Ein Ethikvotum für die Durchführung dieser Studie wurde im Vorfeld von der Ethikkommission (Committee on Human Research, Publication and Ethics) der Universität Kumasi und der Ethikkommission der Universität Ulm erteilt.

2.1.1 Probandenkollektive

Die Proben wurden von November 2002 bis Februar 2003 gesammelt. Insgesamt wurden von 491 Probanden Proben entnommen. Die Probanden wurden entsprechend ihrer Einschlusskriterien in drei Gruppen unterteilt. Die Gesamtzahl der Probanden betrug 491.

2.1.1.1 Gruppe A = gesunde Schwangere

Um die Prävalenz von asymptomatischen Infektionen mit C. trachomatis zu klären, wurde in Gruppe A ein gesundes Kollektiv auf C. trachomatis untersucht. In dieses Kollektiv wurden gesunde Schwangere des 1. und 2. Trimenon (bis 28+0 SSW), die sich in der Schwangerenambulanz des Komfo Anokye Teaching Hospitals vorstellten rekrutiert. Ausschlusskriterien waren Schwangerschaftserkrankungen sowie gynäkologische und internistische Erkrankungen. In Gruppe A wurden 248 Probandinnen aufgenommen.

2.1.1.2 Gruppe B = Schwangere mit vorzeitigem Blasensprung

Um die Prävalenz von C. trachomatis bei Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung zu überprüfen wurden in der Gruppe B Schwangere mit vorzeitigem Blasensprung aufgenommen. Eingeschlossen wurden stationäre Patientinnen des Komfo Anokye Teaching Hospitals, die zwischen der 28. und 37. SSW einen Blasensprung hatten. In Gruppe B wurden 52 Probandinnen aufgenommen.

2.1.1.3 Gruppe C = Sterilitätspatientinnen

Um die Bedeutung einer chronischen Infektion mit Chlamydia trachomatis bei Patientinnen mit primärer und sekundärer Sterilität zu untersuchen, wurden Patientinnen aus der Sterilitätsambulanz untersucht. Aufnahmekriterium war, dass es bei bestehendem Kinderwunsch trotz regelmäßigem ungeschütztem Verkehr zu keiner Schwangerschaft gekommen war. In Gruppe C wurden 191 Probandinnen aufgenommen.

2.1.2 Patienteninterview und Probengewinnung

Die anamnestischen und klinischen Parameter wurden in Form eines Fragebogens erfasst.
Folgende Parameter wurden abgefragt:

- Alter (in Jahren)
- Wohnort
- Familienstatus (verheiratet, ledig, feste Beziehung)
- Alkoholkonsum (ja/nein)
- Zigarettenkonsum (ja/nein)
- Sexuelle Praktiken (vaginal, oral, anal, andere)
- Frühere Unterleibsoperationen (wenn ja, welche?)
- Frühere sexuell übertragbare Erkrankungen (wenn ja, welche?)
- Schwangerschaftswoche
- Gravida
- Parida
- Anzahl der Abtreibungen
- Fehlgeburten
- Totgeburten
- Bisherige Anzahl der Sexualpartner
- Alter beim ersten Geschlechtsverkehr
- Menarche

Zusätzlich wurden Blutproben zur Untersuchung auf Chlamydia trachomatis spezifische IgA- und IgG-Antikörper und Urinproben zum späteren Nachweis von Chlamydia trachomatis spezifischer DNA gewonnen. Zur Gewinnung der Urinproben wurden die Probandinnen aufgefordert, eine Erststrahlurinprobe in einen sterilen Urinbecher abzugeben.

2.2 Material

2.2.1 Untersuchungsmaterial

Es wurden Blutproben und Urinproben auf Chlamydia trachomatis spezifische Antikörper bzw. auf Chlamydia trachomatis spezifische DNA untersucht.
Die Analyse der Proben fand im Labor der Abteilung für Mikrobiologie und Hygiene der Universität Ulm statt.

2.2.2 Materialien für den ELISA

Es wurde ein kommerzieller Testkit verwendet (SeroCT™-IgG und SeroCT™-IgA, Savyon Diagnostics, Israel), um Antikörper gegen Chlamydia trachomatis aus den Blutproben nachzuweisen. Zusätzlich wurden folgende Materialien zum Antikörpernachweis benötigt:

- Serum-Röhrchen (Sarstedt)
- Monovetten-Kanülen (Sarstedt)
- Einmalpipetten (Falcon 3 ml Transfer Pipet, Becton Dickinson)
- Cryos-Röhrchen (1,8 ml, Sarstedt)
- Pipetten 0,5-10 µl, 50-200 µl, 50 µl, 100 µl mit dazugehörigen Spritzen (Eppendorf)
- Multipipette mit dazugehörigen Combitips (Eppendorf)
- Mehrkanalpipette 200 ml mit dazugehörigen Spitzen (Eppendorf)
- Abdeckung für ELISA-Platten (im Testkit enthalten)
- Plastikwanne für Waschpuffer (DC-Biermann)
- Reaktionsgefäße z.B. PS-Röhrchen (Greiner)

2.2.3 Materialien für die PCR

Für die PCR wurde ein kommerzieller Testkit (*AMPLICOR CT-Test*, der Firma Roche, Schweiz) verwendet, um Chlamydia trachomatis spezifische DNA aus den Urinproben nachzuweisen. Zusätzlich wurden zum DNA-Nachweis folgende Materialien benötigt:

- Sterile Urinbecher (Sarstedt)
- Einmalpipetten (Falcon 3 ml Transfer Pipet, Becton Dickinson)
- Cryos-Röhrchen (1,8 ml, Sarstedt)
- 50-1000 µl Pipetten mit passenden gestopften Spritzen (Eppendorf)
- COBAS Amplicor A-Ring-Halter (Roche)

2.2.4 Chemikalien für den ELISA

Die Chemikalien sind alle Bestandteil der Testkits zum Antikörpernachweis (SeroCT™-IgG und SeroCT™-IgA, Savyon Diagnostics, Israel):

- Waschpuffer (PBS-Tween Puffer, 20x konzentriert)
- Serumverdünnung
- Konjugatsverdünnung
- Negativ Kontrolle (C. trachomatis IgG bzw. IgA negatives Humanserum)
- Positiv Kontrolle (C. trachomatis IgG bzw. IgA positives Humanserum)
- MRP-Konjugat (300x konzentriert, mit Meerrettich-Peroxidase konjugiertes Anti-Human IgG bzw IgA)
- TMB-Substrat (Tetramethylbenzidin als Chromogen und Peroxid als Substrat)
- Stoplösung (enthält 1M H_2SO_4)

zusätzlich benötigte Chemikalien:

- Aqua bidest.

2.2.5 Chemikalien für die PCR

Die Chemikalien sind alle Bestandteil des *AMPLICOR Chlamydia trachomatis Test* der Firma Roche:

- CT/NG-Urin-Waschpuffer (Chlamydia trachomatis / Chlamydia trachomatis-Negativkontrolle)
- CT/NG-Lysereagenz
- CT/NG-Probeverdünnungsmittel
- CT/NG-Master-Mix
- Interne CT/NG-Kontrolle
- Chlamydia trachomatis-Positivkontrolle
- Chlamydia trachomatis-Negativkontrolle
- CT-Sondensuspension 1
- CT-Sondensuspension 2
- Denaturierungslösung
- Avidin-Meerrettichperoxidase-Konjugat
- Substrat A (Zitratlösung)
- Substrat B (0,1% TMB, 40% DMF)
- Waschpuffer

zusätzlich benötigte Chemikalien:

- Natriumhypochlorid (Aug. Hedinger)

- Ethanol 80% (eigene Herstellung)

2.2.6 Geräte für den ELISA

Folgende Geräte wurden verwendet:

- Zentrifuge (3000 Upm) (Heraeus)
- Vortex Mischgerät (Scientific Industries)
- Brutschrank 37°C (Heraeus)
- Photometer für Mikrotiterplatte mit 450/620nm Filter (DC-Biermann)

2.2.7 Geräte für die PCR

Folgende Geräte wurden verwendet:

- Arbeitswerkbank (Erlab)
- Vortex Mischgerät (Scientific Industries)
- Brutschrank 37° C (Heraeus)
- Kühlschrank (Liebherr)
- Gefrierschrank (Liebherr)
- Zentrifuge bis min.1400 Upm (Heraeus)

2.3 Methoden

2.3.1 Probenaufarbeitung

Alle Probanden des Kollektives wurden durch die Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe des Komfo Anokye Teaching Hospitals betreut. Die gewonnen Proben wurden im Labor der Kinderklink des Anokye Teaching Hospitals aufgearbeitet und bis zum Transport nach Deutschland dort gelagert.

2.3.1.1 Blutabnahme und Aufarbeitung für die Lagerung

Die Blutabnahme fand in der Ambulanz der Schwangerenvorsorge (Gruppe A und C) bzw. unmittelbar nach stationärer Aufnahme (Gruppe B) statt.
Die Blutproben wurden nach 2 Stunden Koagulationszeit bei 3000 Upm für 10 min. zentrifugiert. Vom Überstand wurden 1,8 ml in Cryos-Röhrchen überführt und fest verschlossen. Diese wurden dann bei -80 Grad Celsius gelagert.

2.3.1.2 Gewinnung der Urinprobe und Aufarbeitung für die Lagerung

Nach der Blutabnahme wurden die Probandinnen aufgefordert, eine Erststrahlurinprobe in einen sterilen, wiederverschließbaren Urinbecher abzugeben. Den Urinproben wurden im Labor der Kinderklinik 1,8 ml Urin entnommen und in Cryos-Röhrchen überführt. Diese wurden fest verschlossen und sogleich bei -80 Grad Celsius tiefgefroren.

2.3.1.3 Lagerung und Transport

Der Zeitraum der Probensammlung erstreckte sich von November 2002 bis Februar 2003.
Während dieses Zeitraums und bis zum Transport im März 2003 wurden die Proben bei -80˚C gelagert.
Für den Transport von Kumasi, Ghana, nach Ulm, Deutschland, wurden die Proben in einen Transportcontainer, der mit flüssigem Stickstoff gefüllt war, umgelagert. Die Dauer des Transports betrug 4 Tage.

2.3.2 Nachweis spezifischer IgG und IgA Antikörper mit Hilfe des ELISA

Die Analyse der Proben wurde im Labor der Abteilung medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Ulm durchgeführt. Es wurde ein kommerzieller Analyse-Test verwendet (SeroCT™-IgG und SeroCT™-IgA, Savyon Diagnostics, Israel).

2.3.2.1 Prinzip der Untersuchungsmethode

Dem ELISA liegt das Prinzip einer spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion zugrunde.
Das Antigen (hier Chlamydia trachomatis spezifische Proteine) ist auf der so genannten Festphase (in den Reaktionsvertiefungen der Mikrotiterplatte) gebunden.
Anschließend wird Patientenserum hinzugegeben, und wenn es spezifische Antikörper gegen die Antigene enthält, kommt es zu einer Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen.
Diese werden dann durch Zugabe eines enzymmarkierten "Konjugates" nachgewiesen. Das Konjugat ist ein gegen menschliche Antikörper gerichteter Sekundärantikörper, der mit dem Enzym Peroxidase markiert ist. Schließlich setzt die Peroxidase ein zugegebenes Substrat um, wodurch es zum Farbumschlag kommt; die gemessene Intensität ("optical density") dieser Farbreaktion ist proportional zum Antikörpergehalt der Probe.
Das Prinzip des ELISA ist auch in Abbildung 1 dargestellt.

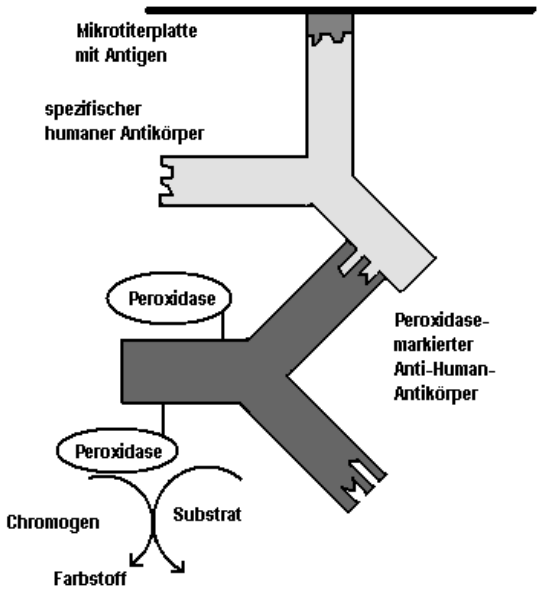

Abbildung 1: Prinzip des ELISA
An einer Mikrotiterplatte sind für Chlamydia trachomatis spezifische Antigene gebunden. Sind in einer Blutprobe Antikörper gegen Chlamydia trachomatis vorhanden, binden diese an die Antigene. Im nächsten Schritt werden Peroxidase markierte Sekundärantikörper dazugegeben, die an diese humanen Antikörper binden. Zuletzt wird ein Substrat dazugegeben, das einen Farbstoff enthält, der durch Umsatz durch die Peroxidase die Farbe ändert. Dieser Farbumschlag wird gemessen und ist dem Antikörpergehalt der Blutprobe proportional.

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

2.3.2.2 Ablauf des Tests

Zu den Probandenseren wurde Serumverdünnung gegeben und in die Reaktionvertiefungen der Mikrotiterplatten des ELISA`s titriert. Die Reaktionsvertiefungen waren mit spezifischen, synthetischen Peptiden beschichtet, an die Chlamydia trachomatis spezifische Antikörper binden können.

Nach einer 1-stündigen Inkubationszeit wurden die Proben mit einem Waschpuffer gewaschen, um nicht gebundene, unspezifische Antikörper zu entfernen und nur die spezifischen Antikörper zurück blieben.

An diese spezifischen Antikörper bindet sich an Meerrettich-Peroxidase konjugierte Anti-Human IgG bzw. IgA. Nicht gebundenes Konjugat wurde durch erneutes Waschen entfernt.

Nach Inkubation mit dem TMB Substrat wurde das Substrat durch die Peroxidase reduziert, was zu einer Blaufärbung des Substrats führte.

Nach Zufügen der Stoplösung erfolgte ein Farbumschlag nach gelb, der photometrisch gemessen werden konnte. Die Absorption ist der Menge der spezifischen Antikörper, die an die immobilisierten Peptide gebunden sind, proportional.

Gleichzeitig zu den Probandenseren wurden auf jeder Mikrotiterplatte eine Positiv-Kontrolle und zwei Negativ-Kontrollen mitgeführt, um methodische Fehler auszuschließen.

2.3.2.3 Befundinterpretation

A. Testbewertung

Der Test war gültig, wenn der Absorptionswert der Positiv-Kontrolle ≥ 0,8 war und der durchschnittliche Absorptionswert der Negativ-Kontrolle, die zweifach durchgeführt wurde, zwischen 0,1 und 0,4 lag. Diese Werte wurden vom Hersteller angegeben.

B. Berechnung

- **COV (Cut-Off-Wert)**

Um den Absorbtionswert der Proben zu interpretieren, mußte ein Cut-Off-Wert berechnet werden.

Der Cut-Off-Wert wurde nach folgender Formel berechnet: COV = NC x 2

wobei NC = Durchschnittliche Absorption der zwei Negativ Kontrollen

- **COI (Cut-Off-Index)**

Um die in verschiedenen Tests erzielten Ergebnisse zu normen, wurde ein Cut-Off-Index berechnet.

Der Cut-Off-Index wurde laut folgender Formel berechnet:

Cut-Off-Index = Absorption der Serumprobe bei 450/620 nm **:** Cut-Off-Wert

C. Beurteilung

Die Proben wurden als negativ bewertet, wenn der COI-Index < 1,0 war. Es wurden dann keine IgA bzw. IgG gegen Chlamydia trachomatis nachgewiesen.

Ein COI-Index zwischen 1 - 1,1 galt als grenzwertig und wurde in dieser Studie wie ein negativer Befund bewertet.

Positiv war eine Probe, wenn der COI-Index > 1,1 war. In diesem Fall konnten IgA- bzw. IgG-Antikörper gegen Chlamydia trachomatis nachgewiesen werden.

2.3.2.4 Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität des SeroCT™-IgG ELISA im Vergleich zur Mikroimmunofluoreszens wird vom Hersteller mit 95% und die Spezifität mit 90% angegeben. Verglichen mit einer Kultur, C. trachomatis positiver Patienten, ist die Sensitivität 78%.

Für den SeroCT™-IgA ELISA gibt der Hersteller eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 90% im Vergleich zur Mikroimmunofluoreszens an. Verglichen mit einer Kultur, C. trachomatis positiver Patienten, ist die Sensitivität 76%.

2.3.3 Nachweis von Chlamydia trachomatis mittels Polymerasekettenreaktion (PCR)

2.3.3.1 Prinzip der PCR

Mit Hilfe der PCR wird Chlamydia trachomatis spezifische DNA nachgewiesen. Die Polymerasekettenreaktion funktioniert nach folgendem Prinzip, das Saiki et al beschrieb [Saiki 1988]:
Da native DNA in Doppelsträngen vorliegt, muss erst eine Aufspaltung in Einzelstränge erfolgen. Zu erreichen ist dies durch die Erwärmung auf Temperaturen um 92°C (Aufspaltung der Doppelstrang-DNA: Denaturierung) (Schritt 1 in Abbildung 2).

Nach Absenkung der Temperatur erfolgt die Zugabe der Primer, die sich nun wegen der geringen Größe und der daraus resultierenden höheren Beweglichkeit schneller an die DNA anlagern können als der zweite Nativstrang (Anlagerung der Primer: Hybridisierung) (Schritt 2 in Abbildung 2).

Nachdem dieser Vorgang beendet ist, werden nun die DNA-Polymerase und alle vier Nukleotide (Adenosin, Cytosin, Guanin und Thymidin, in Form von Desoxynukleotid- triphosphaten, dNTPs) zugegeben. Die DNA-Polymerase benötigt zum Start ein kurzes Stück doppelsträngiger DNA, die durch den angelagerten Primer geschaffen wird. Mit dem freien 3‘-OH Ende des Primers als Startpunkt synthetisiert die Polymerase durch Veresterung der Nukleotide, unter Abspaltung der Phosphatgruppen, einen neuen DNA-Strang, wobei sie die zu vervielfältigende Sequenz als Vorlage (Matrize) benutzt. Bei diesem Vorgang werden die jeweiligen Primer durch Einbau in das Amplifikat verbraucht (Schritt 3 in Abbildung 2).
Die thermostabile Polymerase ist ein Isolat aus dem Bakterium Thermus aquaticus, das in heißen Quellen gefunden wird.

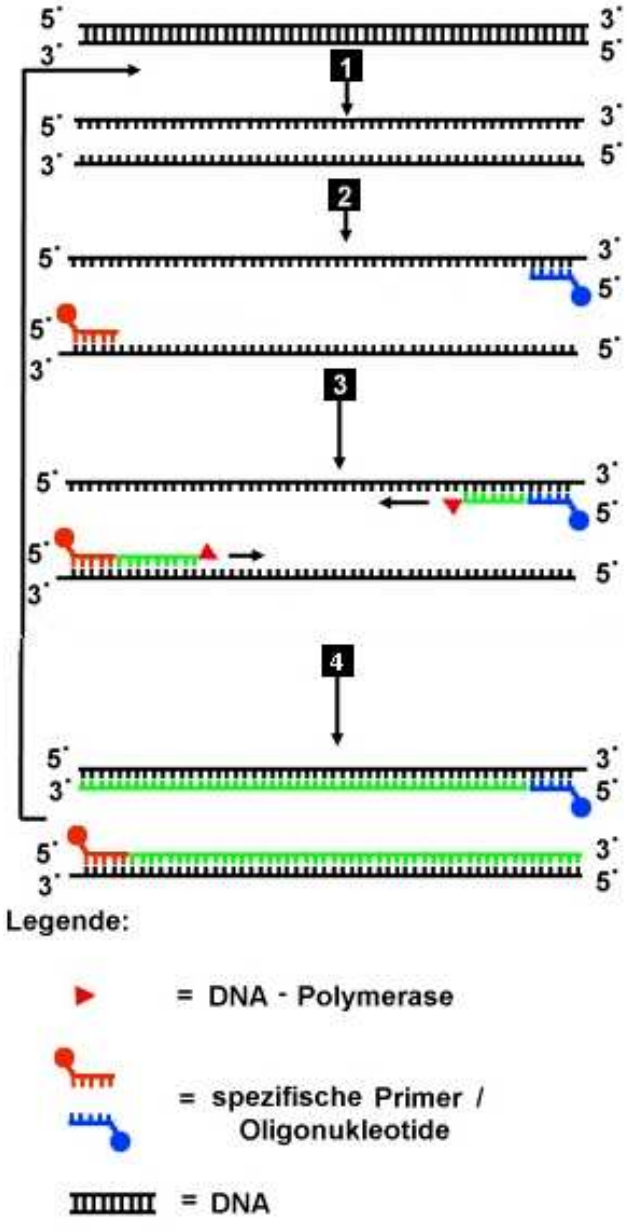

Abbildung 2: Prinzip der PCR
Im ersten Schritt wird die doppelsträngige DNA zu Einzelsträngen denaturiert. Im zweiten Schritt erfolgt die Hybridisierung mit den Primern, die DNA-Polymerase kann nun einen neuen DNA Strang synthetisieren., so dass wieder eine doppelsträngige DNA vorhanden ist. Jetzt kann der Zyklus wieder von vorne beginnen.

PCR: Polymerase Kettenreaktion (engl. Polymerase Chain Reaction)

DNA: Desoxyribonukleinsäure (engl. Desoxyribinucleic acid)

2.3.3.2 Ablauf der PCR

Für die PCR wurde ein kommerzieller Analyse-Test (AMPLICOR CT-Test, der Firma Roche) verwendet. Der Test beruht im wesentlichen auf 4 Schritten:

- Probenvorbereitung
- PCR-Amplifikation der Ziel-DNA mit Hilfe CT-spezifischer, komplementärer biotinylierter Primer
- Hybridisierung der amplifizierten Produkte an eine zielspezifische Oligonukleotidsonde
- Nachweis der an die Sonde gebundenen amplifizierten Produkte mittels einer Farbreaktion

2.3.3.2.1 Probenvorbreitung

Die aus den Urinproben stammenden Epithelzellen des Urogenitaltraktes wurden mit einer Detergenzlösung behandelt, um die in den Retikularkörperchen enthaltene Chlamydien-DNA freizusetzen. Dann wurde eine zweite Detergenzlösung zugefügt, um die lysierte Probe für die Amplifikation vorzubereiten.

2.3.3.2.2 PCR-Amplifikation

Die PCR-Amplifikation wurde mit dem COBAS AMPLICOR CT Test durchgeführt. Zusätzlich zu der chromosomalen DNA enthält Chlamydia trachomatis in allen Serovaren ein kryptisches Plasmid (etwa 7500 Basenpaare groß) in mehreren Kopien. Von diesem Plasmid amplifiziert der COBAS AMPLICOR CT Test mit Hilfe der biotinylierten Primer CP24 und CP27 eine Sequenz von etwa 207 Nukleotiden.

Die mit der Detergenzlösung vorbereiteten Urinproben werden dem Amplifikationsgemisch in Reaktionsröhrchen zugegeben, in denen die PCR abläuft. Zunächst wird das Reaktionsgemisch im Thermocycler erwärmt, wodurch die doppelsträngige DNA denaturiert wird und die Zielsequenzen für die Primer freigelegt werden. Beim Abkühlen des Gemisches binden die biotinylierten Primer CP24 und CP27 an die Ziel-DNA von Chlamydia trachomatis. Die thermostabile Thermus aquaticus-DNA-Polymerase verlängert anschließend in Gegenwart überschüssiger dNTPs die angelagerten Primer entlang der Zielmatrizen und produziert ein 207 Basenpaare umfassendes, doppelsträngiges DNA-Molekül, das sogenannte Amplifikat. Das Verfahren wird in mehreren Zyklen wiederholt, wobei jeder Zyklus die Menge an Ziel-DNA in Form von Amplifikaten theoretisch verdoppelt.

In Amplifikationsvorgängen auf Enzymbasis, wie der PCR, kann die Leistungsfähigkeit durch eventuell in der klinischen Probe vorhandene Inhibitoren verringert werden. Um Proben zu identifizieren, die solche Inhibitoren enthalten wird dem AMPLICOR CT Test eine Chlamydia trachomatis Kontrolle beigefügt, auch diese Kontrolle wird theoretisch bei jeder

Amplifikationsreaktion verdoppelt. Die Interne Chlamydia trachomatis Kontrolle ist ein DNA-Plasmid mit Primer-Bindungsregionen, die mit denen der Chlamydia trachomatis DNA-Zielsequenz identisch sind. Auch hat die interne Sequenz eine ähnliche Länge und Basenzusammensetzung wie die Chlamydia trachomatis-Zielsequenz.
Eindeutig unterscheiden kann man die Amplifikate der Chlamydia trachomatis-Zielsequenz und die Interne Chlamydia trachomatis Kontrolle durch unterschiedliche Sonden-Bindungsregionen. Die Sonden können jeweils nur spezifisch an die Chlamydia trachomatis-Amplifikate bzw. nur an die Kontroll-Amplifikate binden. In der Detektionsreaktion, kann man dann beide wieder eindeutig unterscheiden.

2.3.3.2.3 Hybridisierungsreaktion

Nach der Amplifikation durch die PCR wird das Amplifikat zu einzelsträngiger DNA denaturiert. Diesen Proben werden Oligonukleotidsonden zugefügt, die für Clamydia trachomatis spezifisch sind. Diese Sonden sind mit Magnetpartikeln beschichtet. Die Sonden lagern sich an die Chlamydia trachomatis-Amplifikate an (= Hybridisierung).

2.3.3.2.4 Detektionsreaktion

Im Anschluss an die Hybridisierungsreaktion werden die Proben gewaschen, die an die magnetbeschichteten Sonden gebundenen Chlamydia trachomatis-Amplifikate werden durch einen Magnet festgehalten, ungebundenes Material wird beseitigt. Nun wird den Proben ein Avidin-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat zugegeben. Dieses wiederum bindet an das Biotin, welches von Anfang an an den Primern gebunden ist. Erneutes Waschen beseitigt ungebundenes Avidin-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat. Den Proben wird nun eine Substratlösung (TMB) zugegeben, welche mit der Avidin- Meerrettich-Peroxidase reagiert. Dadurch kommt es zu einer Farbreaktion. Die Reaktion wird durch Zugabe einer schwachen Säure gestoppt, und die Extinktion wird am Photometer bei 660 nm gemessen.

2.3.3.2.5 Befundinterpretation

Die Proben wurden als positiv in Bezug auf Chlamydia trachomatis bewertet, wenn die Extinktion > 0,8 war. Als negativ galt eine Probe, wenn die Extinktion < 0,2 war und Extinktion der Internen Kontrolle > 0,2 war. War aber die Extinktion der Internen Kontrolle < 0,2 , so war das Testresultat ungültig, da zu vermuten war, dass Inhibitoren die Amplifikation der DNA behinderten. Für Extinktionswerte zwischen 0,2 - 0,8 galt das Testresultat als grenzwertig, d.h. die Proben konnten

nicht eindeutig als Chlamydia trachomatis positiv oder negativ bewertet werden. Im Rahmen dieser Studie wurden entsprechend den Herstellerangaben grenzwertige Proben als negativ betrachtet.

2.3.3.2.6 Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität des AMPLICOR CT-Tests für Urinproben wird vom Hersteller mit 85,7% angegeben. Die Spezifität liegt bei 97,4%. [36]

2.3.4 Mathematisch-statistische Methoden

In der Fall-Kontroll-Studie wurden in den Gruppen A und C zur Identifikation von Risikofaktoren einer Sterilität kontinuierlich Parameter in kategorische konvertiert. Die bivariante Analyse erfolgte mittels Person-Chi²-Test. P-Werte <0,05 wurden als signifikant betrachtet. Außerdem wurde eine multivariante Analyse mittels schrittweiser logistischer Regression durchgeführt. Dabei wurden Parameter mit einem p-Wert <0,05 beibehalten.

Die unabhängigen Variablen waren folgende:

Alter (<25 Jahre, 25–29 Jahre, 30–34 Jahre, > 34 Jahre), Wohnort (ländlich, städtisch), Familienstand (verheiratet, ledig), Alkoholkonsum (ja, nein), Zigarettenkonsum (ja, nein), sexuelles Verhalten (nur vaginal, auch andere Geschlechtspraktiken), frühere Unterleibsoperation (ja, nein), frühere Geschlechtskrankheit (ja, nein), Gravidität (0, 1, 2, 3, >3), Paridität (0, 1, 2, >2), Schwangerschaftsabbrüche (0, 1, 2, >2); spontante Aborte (ja, nein), Totgeburten (ja, nein), Anzahl der bisherigen Geschlechtspartner (1, 2, 3, 4, >4), Alter beim ersten Geschlechtsverkehr (<17, 17-18, 19-20, >20, unbekannt), Menarche (<14, 14-16, >16, unbekannt), PCR Ergebnis (negativ, positiv), IgG Ergebniss (negativ, positiv) und IgA Ergebniss (negativ, positiv)

Die Rate der Chlamydien Infektionen der Gruppe mit vorzeitigem Blasensprung (Gruppe B) wurde mit der Kontrollgruppe (Gruppe A) mittels einer One-way ANOVA Varianzanalyse verglichen. p-Werte <0,05 wurden als signifikant betrachtet.

Das Programm SPSS Version 12.0. (SPSS Inc., Chicago, Illinois) wurde für die statistischen Auswertungen benutzt.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik zum Gesamtkollektiv

Das Gesamtkollektiv bestand aus 491 weiblichen Probandinnen. Davon waren 248 Probandinnen im ersten oder zweiten Trimenon schwanger (Gruppe A), 52 Probandinnen hatten einen vorzeitigen Blasensprung zwischen der 28. und 37. Schwangerschaftswoche (Gruppe B) und 191 Probandinnen wurden aufgrund einer Sterilität behandelt (Gruppe C).
Das durchschnittliche Alter betrug 29,47 Jahre, die jüngste Probandin war 16 Jahre, die älteste 48 Jahre alt. In der Gruppe A betrug das durchschnittliche Alter 28,3 Jahre, in der Gruppe B 30,4 Jahre und in der Gruppe C 30,8 Jahre. 488 Probandinnen machten Angaben zum Familienstand, davon waren 459 (94%) Probandinnen verheiratet, 28 (6%) Probandinnen gaben an, ledig zu sein und eine Probandin war geschieden. In der Gruppe A waren 220 (89,1%) Probandinnen verheiratet, in der Gruppe B 50 (99%) und in der Gruppe C 189 (98,4%).
489 Probandinnen machten Angaben zum Beruf. 456 (93,25%) gaben an, berufstätig zu sein, davon waren 226 (49,6%) Probandinnen als Straßenhändler tätig. Nur 33 (6,75%) Probandinnen gaben an, arbeitslos zu sein. In der Gruppe A waren 226 (91,5%) der Probandinnen berufstätig, 101 (40,1%) Probandinnen gaben an, Straßenhändlerin zu sein. In der Gruppe B waren 49 (94,2%) Probandinnen berufstätig, 29 (55,8%) waren Straßenhändlerin. In der Gruppe C waren 183 (95,3%) Probandinnen berufstätig, 96 (50%) waren Straßenhändlerin.
Aus diesen Angaben und den Angaben in Tabelle 1 ist zu erkennen, dass die Studienpopulation sehr homogen ist und sich die Gruppen in den wesentlichen Charakteristika kaum unterscheiden.
Weitere Parameter sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tab. 1: Deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs sowie der Gruppen A, B und C.
Die wesentlichen Charakteristika unterscheiden sich kaum zwischen den Gruppen.
An 100 fehlende Prozent bzw. zur Gesamtzahl sind durch fehlende Angaben bedingt.

Variable	**Gesamtkollektiv**	**Gesunde Schwangere (Gruppe A)**	**Schwangere mit vorzeitigem Blasensprung (Gruppe B)**	**Sterilitätspatientinnen (Gruppe C)**
Größe des Kollektivs	491	248	52	191
Durchschnittliches Alter (in Jahren)	29,47	28,3	30,4	30,8
Jüngste Probandin (Lebendsalter)	16	16	20	19
Älteste Probandin	48	41	48	45
Familienstand: verheiratet	459 (93,5%)	220 (88,7%)	50 (96%)	189 (98,4%)
Familienstand: ledig	23 (4,7%)	19 (7,6%)	2 (4%)	2 (1,6%)
Berufstätig	456 (92,9%)	226 (91,1%)	49 (94,2%)	183 (95,8%)
Berufstätigkeit als Straßenhändler	226 (46,0%)	101 (40,7%)	29 (55,8%)	96 (50,3%)
Wohnort: ländlich	365 (74,3%)	202 (81,5%)	38 (73,1%)	125 (65,4%)
Wohnort: städtisch	118 (24,0%)	46 (18,5%)	12 (23,1%)	60 (31,4%)
Zigarettenkonsum: ja	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Zigarettenkonsum: nein	469 (95,5%)	235 (94,8%)	50 (96%)	184 (96,3%)
Alkoholkonsum: ja	33 (6,7%)	10 (4,0%)	7 (13,5%)	16 (8,4%)
Alkoholkonsum: nein	436 (88,8%)	225 (90,7%)	43 (82,7%)	168 (88,0%)

3.1.1 Prävalenz von akuten C. trachomatis Infektionen in Ghana bei gesunden Frauen, bei Frauen mit vorzeitigem Blasensprung und bei Frauen im gebärfähigen Alter, bei denen eine Sterilität vorliegt

Der Erststrahlurin von 248 gesunden Schwangeren, 52 schwangeren Frauen mit einem vorzeitigen Blasensprung und 191 sterilen Frauen wurde mittels PCR auf akute Infektionen mit C. trachomatis untersucht.

Die PCR war bei sechs der 248 (2,4%) gesunden schwangeren Frauen positiv, bei einer von 52 (1,9%) Frauen mit vorzeitigem Blasensprung und bei drei von 191 (1,6%) sterilen Frauen.

Somit liegt ist Rate der akuten Infektionen mit Chlamydia trachomatis in den drei Gruppen sehr eng beieinander, es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt. (jeweils $p>0,05$).

Die Ergebnisse sind auch in Tabelle 2 und 3, sowie in der Abbildung 3 dargestellt.

Tab. 2: Bivariante Analyse der PCR bezogen auf vorzeitigen Blasensprung. PCR = polymerase chain reaction
Es ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Rate der akuten Infektionen mit Chlamydia trachomatis zwischen der Gruppe B und der Gruppe A
PCR = polymerase chain reaction

Variable	Wert	Gesamtzahl der Probandinnen	Zahl der gesunden Schwangeren (Gruppe A)	Zahl der Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung (Gruppe B)	p-Wert
PCR	Negativ	293 (97,6%)	242 (97,6%)	51 (98,1%)	0,830
	Positiv	7 (2,4%)	6 (2,4%)	1(1,9%)	
Total		300 (100%)	248 (100%)	52 (100%)	

Tab. 3: Bivariante Analyse der PCR bezogen auf Sterilität.
Es ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Rate der akuten Infektionen mit Chlamydia trachomatis zwischen der Gruppe C und der Gruppe A.
PCR = polymerase chain reaction.

Variable	Wert	Gesamtzahl der Probandinnen	Zahl der gesunden Schwangeren (Gruppe A)	Zahl der Sterilitätspatientinnen (Gruppe C)	p-Wert
PCR	Negative	430 (97.9%)	242 (97.6%)	188 (98.4%)	0.738
	Positive	9 (2.1%)	6 (2.4%)	3 (1.6%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	

3.1.2 Prävalenz von chronischen bzw. durchgemachten C. trachomatis Infektionen in Ghana bei gesunden Frauen, bei Frauen mit vorzeitigem Blasensprung und bei Frauen im gebärfähigen Alter, bei denen eine Sterilität vorliegt

Serumproben von 248 gesunden schwangeren Frauen, 52 schwangeren Frauen mit einem vorzeitigen Blasensprung und 191 sterilen Frauen wurden auf IgG- und IgA-Antikörper auf durchgemachte und chronische Infektionen mit C. trachomatis untersucht.

Das IgG war in der Gruppe der gesunden schwangeren Frauen bei 48 (19,4%) Probandinnen positiv und das IgA bei 9 (3,6%) Probandinnen.

Die Seroprävalenzen in der Gruppe der schwangeren Frauen mit vorzeitigen Blasensprung unterschieden sich nicht signifikant von denen der gesunden Schwangeren ($p=1$). Hier war das IgG bei 9 (17,3%) der 52 Probandinnen positiv und das IgA bei 2 (3,9%).

Doch waren die Seroprävalenzen in der Gruppe der sterilen Frauen signifikant gegenüber der Gruppe der gesunden schwangeren Frauen erhöht.

So waren 75 der 191 (39,3%) Probandinnen IgG positiv ($p<0,001$; im Vergleich zur Gruppe der gesunden Schwangeren) und 27 der 191 (14,1%) IgA positiv ($p<0,001$; im Vergleich zur Gruppe der gesunden Schwangeren).

Die Prävalenzen sind in Abbildung 3 dargestellt.

Die Seroprävalenzrate des IgG stieg auf 47,3% und auf 14,5% für das IgA in der Gruppe der sterilen Frauen, wenn nur diejenigen Probandinnen beachtet wurden, die ein normales Spermiogramm des Partners vorlegen konnten ($n=55$; Daten nicht dargestellt).

Die Ergebnisse sind auch in Tabelle 4 und 5, sowie in der Abbildung 3 dargestellt.

Tab. 4: Bivariante Analyse bezogen auf vorzeitigen Blasensprung;
Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Seroprävalenzen zwischen der Gruppe B und A.
IgG = Immunoglobulin G, IgA = Immunoglobulin A

Variable	**Wert**	**Gesamtzahl der Probandinnen**	**Zahl der gesunden Schwangeren (Gruppe A)**	**Zahl der Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung (Gruppe B)**	**p-Wert**
IgG	Negative	243 (81,0%)	200 (80,6%)	43 (82,7%)	0,925
	Positive	57 (19,0%)	48 (19,4%)	9 (17,3%)	
Total		300 (100.0%)	248 (100.0%)	52 (100.0%)	
IgA	Negative	289 (81,0%)	239 (96.4%)	50 (96,1%)	1
	Positive	11 (3,7%)	9 (3.6%)	2 (3,9%)	
Total		300 (100.0%)	248 (100.0%)	52 (100.0%)	

Tab. 5: Bivariante Analyse bezogen auf Sterilität;
Die Seroprävalenz sowohl für IgG als auch für IgA waren in der Gruppe C signifikant gegenüber der Gruppe A erhöht.
IgG = Immunoglobulin G; IgA = Immunoglobulin A.

Variable	**Wert**	**Gesamtzahl der Probandinnen**	**Zahl der gesunden Schwangeren (Gruppe A)**	**Zahl der Sterilitätspatientinnen (Gruppe C)**	**p-Wert**
IgG	Negative	316 (72.0%)	200 (80.6%)	116 (60.7%)	**<0.001**
	Positive	123 (28.0%)	**48 (19.4%)**	**75 (39.3%)**	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	
IgA	Negative	403 (91.8%)	239 (96.4%)	164 (85.9%)	**<0.001**
	Positive	36 (8.2%)	**9 (3.6%)**	**27 (14.1%)**	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	

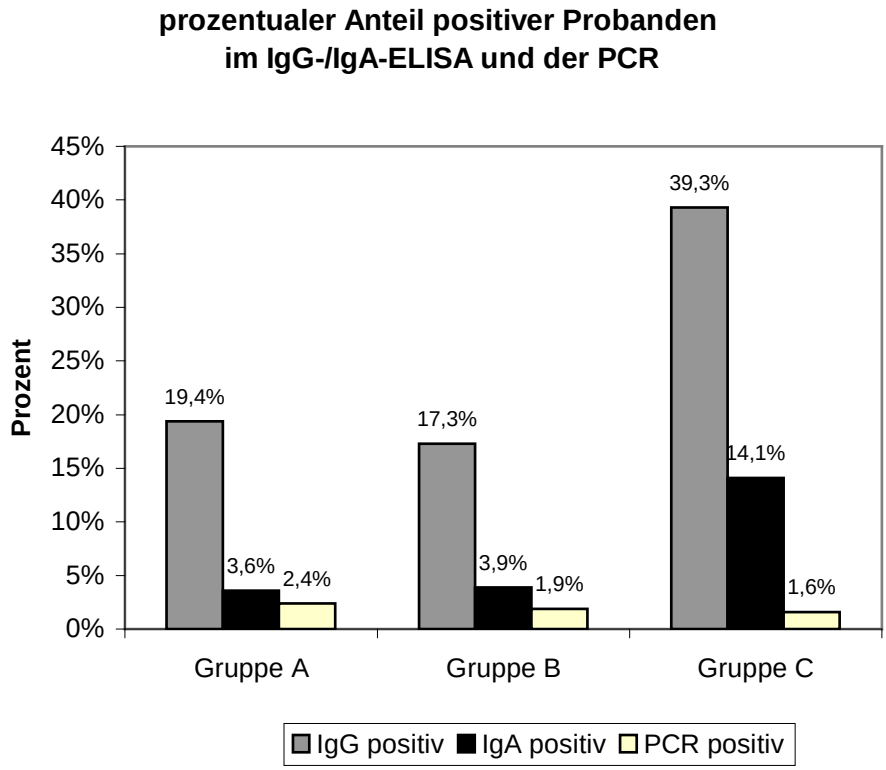

Abbildung 3: Prozentualer Anteil der Probanden bei denen im Serum IgA- bzw. IgG-Antikörper gegen Chlamydia trachomatis, bzw. DNA von Chlamydia trachomatis in der Urinprobe nachgewiesen werden konnten.
Die Seroprävalenzen für IgG und IgA sind in der Gruppe A und B sehr ähnlich, in der Gruppe C sind sie signifikant erhöht. Die PCR-Prävalenzen sind in allen Gruppen sehr ähnlich.

Gruppe A: gesunde schwangere Frauen des 1. oder 2. Trimenon
Gruppe B: schwangere Frauen mit vorzeitigem Blasensprung zwischen der 28. und 37. SSW
Gruppe C: sterile Frauen, die seit mindestens einem Jahr versuchten schwanger zu werden
IgA = Immunglobulin A; IgG = Immunglobulin G; ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay; PCR = Polymerase Chain Reaction; SSW = Schwangerschaftswoche

3.1.3 Risikofaktoren für eine Sterilität bei Frauen im gebärfähigen Alter unter besonderer Berücksichtigung von chronischen Infektionen mit Chlamydia trachomatis

Um abzuschätzen welche der Parameter Risikofaktoren für eine Sterilität sind, führten wir mit dem Person-Chi²-Test eine bivariante Analyse durch.
Wie oben schon dargestellt korrelierten IgG und IgA, als Parameter einer chronischen bzw. durchgemachten Infektion mit Chlamydia trachomatis, signifikant mit der Diagnose Sterilität (jeweils $p<0,001$).
Weitere Parameter, die signifikant mit einer Sterilität korrelierten waren Alter ($p<0,001$), Herkunft ($p=0,002$), Familienstand ($p<0,001$), Sexualverhalten ($p=0,005$), Paridität ($p<0,001$), Anzahl der Sexpartner ($p=0,009$) und junges Alter beim ersten Geschlechtsverkehrs ($p<0,006$). Alkoholmissbrauch und Nikotinkonsum korrelierten nicht signifikant.
Die Ergebnisse der bivarianten Analyse sind in Tabelle 6 und 7 dargestellt.

In der multivarianten Analyse korrelierte das IgA signifikant mit der Diagnose Sterilität ($p=0,003$), nicht jedoch das IgG. Die adjusted odds ratio (OR) für einen Probanden mit positivem IgA war 6,360.
Neben dem IgA korrelierten als Risikofaktoren der Familienstand ($p=0,004$; OR 12,325) und früher erlittene Fehlgeburten ($p<0,001$; OR 8,360) signifikant. Frühere Schwangerschaften korrelierten ebenfalls signifikant. Je häufiger eine Frau schwanger war, desto niedriger war die OR ($p<0,001$; OR 0,059 für eine Schwangerschaft, $p<0,001$; OR 0,002 für mehr als drei Schwangerschaften).
Je häufiger Schwangerschaftsabbrüche durchgeführt wurden, desto höher wurde die OR ($p=0,001$; OR 6,100 für einen Abbruch, $p<0,001$; OR 16,806 für mehr als zwei Abbrüche). Das Alter des ersten Geschlechtsverkehrs korrelierte ebenfalls signifikant mit der Sterilität. Je jünger die Probandinnen beim ersten Geschlechtsverkehr waren, desto höher war die OR (Alter 19-20: $p=0,009$; OR 6,004 / Alter <17: $p=0,005$; OR 7,144). Jedoch war die OR am höchsten bei den Probandinnen die keine Angaben zum Alter des ersten Geschlechtsverkehrs machten ($p=0,038$; OR 7,868). Auch das Alter der Probandinnen korrelierte signifikant mit der Sterilität der Probandinnen. Je älter die Probandinnen waren, desto höher war die OR (Alter 25-29: $p= 0,180$; OR 0,477 / Alter >35: $p<0,001$; OR 9,633).
Die Ergebnisse der multivarianten Analyse sind in der Tabelle 8 dargestellt.

Tab. 6: Bivariante Analyse der Patientencharakteristika bezogen auf Sterilität
p-Werte≤0,05 wurden als signifikant betrachtet und sind fettgedruckt.
PCR = polymerase chain reaction; IgG = immunoglobulin G; IgA = immunoglobulin A.

Variable	**Wert**	**Gesamtzahl der Probandinnen**	**Zahl der gesunden Schwangeren**	**Zahl der Sterilitätspatientinnen**	**p-Wert**
Alter	<25	70 (15.9%)	49 (19.8%)	21 (11.0%)	**<0.001**
	25-29	158 (36.9%)	103 (41.4%)	55 (28.8%)	
	30-34	134 (30.5%)	69 (27.8%)	65 (34.0%)	
	>34	77 (17.5%)	27 (10.9%)	50 (26.0%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	
Wohnort	städtisch	324 (75.7%)	200 (81.3%)	124 (68.1%)	**0.002**
	ländlich	104 (24.3%)	46 (18.7%)	58 (31.9%)	
Total		428 (100.0%)	246 (100.0%)	182 (100.0%)	
Familienstand	verheiratet	409 (93.8%)	221 (90.2%)	188 (98.4%)	**<0.001**
	unverheiratet	27 (6.2%)	24 (9.8%)	3 (1.6%)	
Total		436 (100.0%)	245 (100.0%)	191 (100.0%)	
Alkoholkonsum	nein	393 (93.8%)	226 (95.8%)	167 (91.3%)	0.067
	ja	26 (6.2%)	10 (4.2%)	16 (8.7%)	
Total		419	236 (100.0%)	183 (100.0%)	
Zigarettenkonsum	nein	419 (100.0%)	236 (100.0%)	183 (100.0%)	-------
	ja	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
		419 (100.0%)	236 (100.0%)	183 (100.0%)	
Sexuelle Praktiken	Nur vaginal	388 (90.2%)	209 (86.7%)	179 (94.7%)	**0.005**
	Auch andere	42 (9.8%)	32 (13.3%)	10 (5.3%)	
Total		430 (100.0%)	241 (100.0%)	189 (100.0%)	
Unterleibsoperation	nein	358 (81.9%)	201 (81.4%)	157 (82.6%)	0.802
	ja	79 (18.1%)	46 (18.6%)	33 (17.4)	
Total		437 (100.0%)	247 (100.0%)	190 (100.0%)	
durchgemachte STD	nein	391 (90.5%)	223 (91.4%)	168 (89.4%)	0.510
	ja	41 (9.5%)	21 (8.6%)	20 (10.6%)	
Total		432 (100.0%)	244 (100.0%)	188 (100.0%)	
Gravidität	0	82 (18.8%)	37 (15.0%)	45 (23.6%)	0.202
	1	94 (21.5%)	52 (21.1%)	42 (22.0%)	
	2	87 (19.9%)	52 (21.1%)	35 (18.3%)	
	3	72 (16.5%)	42 (17.1%)	30 (15.7%)	
	>3	102 (23.3%)	63 (25.6%)	39 (20.4%)	
Total		437 (100.0%)	246 (100.0%)	191 (100.0%)	
Paridität	0	184 (41.9%)	88 (35.5%)	96 (50.3%)	**<0.001**
	1	130 (29.6%)	66 (26.6%)	64 (33.5%)	
	2	71 (16.2%)	49 (19.8%)	22 (11.5)	
	>2	54 (12.3%)	45 (18.1%)	9 (4.7%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	

Tab. 7: Bivariante Analyse der Patientencharakteristika bezogen auf Sterilität.
p-Werte ≤0,05 wurden als signifikant betrachtet und sind fettgedruckt.
PCR = polymerase chain reaction; IgG = immunoglobulin G; IgA = immunoglobulin A.

Variable	Wert	Gesamtzahl der Probandinnen	Zahl der gesunden Schwangeren	Zahl der Sterilitätspatientinnen	p-Wert
Anzahl der Abtreibungen	0	262 (60.0%)	149 (60.6%)	113 (59.2%)	0.925
	1	74 (16.9%)	42 (17.1%)	32 (16.8%)	
	2	60 (13.7%)	34 (13.8%)	26 (13.6%)	
	>2	41 (9.4%)	21 (8.5%)	20 (10.5%)	
Total		437 (100.0)	246 (100.0%)	191 (100.0)	
Spontane Aborte	nein	315 (71.9%)	185 (74.9%)	130 (68.1%)	0.133
	ja	123 (28.1%)	62 (25.1%)	61 (31.9%)	
Total		438 (100.0%)	247 (100.0%)	191 (100.0%)	
Totgeburten	nein	418 (95.4%)	232 (93.9%)	186 (97.4%)	0.107
	ja	20 (4.6%)	15 (6.1%)	5 (2.6%)	
Total		438 (100.0%)	247 (100.0%)	191 (100.0%)	
Anzahl der bisherigen Sexualpartner	1	98 (23.2%)	67 (27.8%)	31 (17.1%)	**0.009**
	2	117 (27.7%)	73 (30.3%)	44 (24.3%)	
	3	117 (27.7%)	59 (24.5%)	58 (32.0%)	
	4	53 (12.6%)	27 (11.2%)	26 (14.4%)	
	>4	37 (8.8%)	15 (6.2%)	22 (12.2%)	
Total		422 (100.0%)	241 (100.0%)	181 (100.0%)	
Alter beim ersten Geschlechtsverkehr	<17	29 (6.6%)	11 (4.4%)	18 (9.4%)	**0.006**
	17-18	106 (24.1%)	56 (22.6%)	50 (26.2%)	
	19-20	149 (33.9%)	81 (32.7%)	68 (35.6%)	
	>20	90 (20.5%)	51 (20.6%)	39 (20.4%)	
	Unknown	65 (14.8%)	29 (19.8%)	16 (8.4%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	
Alter zum Zeitpunkt der Menarche	<14	46 (10.5%)	28 (11.3%)	18 (9.4%)	0.139
	14-16	53 (12.1%)	37 (14.9%)	16 (8.4%)	
	>16	256 (60.4%)	141 (56.9%)	124 (64.9%)	
	Unknown	75 (17.1%)	42 (16.9%)	33 (17.3%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	
PCR	Negative	430 (97.9%)	242 (97.6%)	188 (98.4%)	0.738
	Positive	9 (2.1%)	6 (2.4%)	3 (1.6%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	
IgG	Negative	316 (72.0%)	200 (80.6%)	116 (60.7%)	**<0.001**
	Positive	123 (28.0%)	48 (19.4%)	75 (39.3%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	
IgA	Negative	403 (91.8%)	239 (96.4%)	164 (85.9%)	**<0.001**
	Positive	36 (8.2%)	9 (3.6%)	27 (14.1%)	
Total		439 (100.0%)	248 (100.0%)	191 (100.0%)	

Tab. 8: Multivariate Analyse der Risikofaktoren für eine Steriilität.
Es sind nur die Parameter aufgeführt, die sich in der multivarianten Analyse als signifikant erwiesen (p-Wert ≤0,05). Diese Parameter sind Risikofaktoren für eine Sterilität.
IgA = Immunoglobulin A, KI = Konvidence Intervall

Variable	Wert	p-Wert	Adjusted odds ratio	95% KI	
IgA	Negativ		1		
	Positiv	**0.003**	6.360	1.874	21.584
Familienstand	Negativ		1		
	Positiv	**0.004**	12.325	2.148	69.556
Gravidität	0		1		
	1	**<0.001**	0.059	0.016	0.219
	2	**<0.001**	0.026	0.006	0.111
	3	**<0.001**	0.012	0.002	0.067
	>3	**<0.001**	0.002	0.000	0.016
Anzahl der Abtreibungen	0		1		
	1	**0.001**	6.100	2.033	18.302
	2	**<0.001**	16.345	4.176	63.975
	>2	**<0.001**	16.806	3.766	75.007
Spontane Aborte	Nein		1		
	ja	**<0.001**	8.360	2.989	23.386
Alter beim ersten Geschlechtsverkehr	>20		1		
	19-20	**0.009**	6.004	1.586	22.988
	17-18	**0.009**	5.515	1.524	19.961
	<17	**0.005**	7.144	1.794	28.447
	unbekannt	**0.038**	7.868	1.123	55.125
Alter	<25		1		
	25-29	0.180	0.477	0.162	1.406
	30-34	**0.009**	4.261	1.426	12.733
	>35	**0.001**	9.633	2.537	36.579

3.1.4 Chlamydia trachomatis als Risikofaktor für einen vorzeitigen Blasensprung

Die Gruppe der schwangeren Frauen mit vorzeitigem Blasensprung zwischen der 28 und 37 SSW (Gruppe B) umfasste 52 Probandinnen.

Eine akute Infektion mit Chlamydia trachomatis konnte einmal (1,9%) festgestellt werden.

In der Kontrollgruppe (Gruppe der gesunden schwangeren Frauen) wurde eine ähnliche Rate an akuten Infektionen (6 von 248 = 2,4%) festgestellt. Somit unterschieden sich die Raten nicht signifikant (p=0,830).

Auch die Seroprävalenzen in der Gruppe der schwangeren Frauen mit vorzeitigen Blasensprung unterschieden sich nicht signifikant von denen der gesunden Schwangeren (p=0,925 für das IgG, p=1 für das IgA). Hier war das IgG bei 9 (17,3%) der 52 Probandinnen positiv und das IgA bei 2 (3,9%).

Somit konnten wir keinen Zusammenhang zwischen einer akuten Infektion mit Chlamydia trachomatis als auch einer durchgemachten bzw. chronischen Infektion mit Chlamydia trachomatis und einem vorzeitigem Blasensprung feststellen.

Die Ergebnisse sind auch in Tabelle 2 und 4 und Abbildung 3 dargestellt.

4 Diskussion

Die vorliegende Studie entstand, um der Frage nach der Prävalenz von Chlamydia trachomatis und deren Komplikationen bzgl. Schwangerschaft und Sterilität in Afrika nachzugehen. Insbesondere standen dabei die Fragestellung nach der Relevanz einer Infektion mit Chlamydia trachomatis bei Patientinnen mit einer Sterilität und Patientinnen mit vorzeitigem Blasensprung im Vordergrund. Darüberhinaus soll die vorliegende Arbeit die Fragen beantworten, ob sich der Nachweis von IgG und IgA als sinnvolles Screeningverfahren von chronischen Infektionen mit Chlamydia trachomtis eignet und ein sinnvolles diagnostisches Verfahren im Rahmen einer Sterilitätsabklärung, insbesondere in Ländern mit Ressourcenknappheit ist.

4.1 Prävalenz von Chlamydia trachomatis in den untersuchten Gruppen

An dieser Studie nahmen insgesamt 491 schwarzafrikanische Frauen aus Ghana teil. Dieses Probandenkollektiv setzte sich aus drei Gruppen zusammen, 248 gesunde schwangere Frauen, im ersten oder zweiten Trimenon, 52 schwangere Frauen mit einem vorzeitigen Blasensprung zwischen der 28. und 37. SSW und 191 sterile Frauen. Wir untersuchten die Prävalenz von akuten Chlamydia trachomatis Infektionen mittels PCR und die Seroprävalenz von Chlamydia trachomatis spezifischen Antikörpern IgA und IgG, sowie weitere Risikofaktoren für eine Sterilität.

Fortschritte in der Möglichkeit Chlamydia trachomatis aus nicht invasiv gewonnenen Patientenproben mit molekularen Methoden nachzuweisen, haben das Verständnis der Epidemiologie von genitalen Chlamydia trachomatis Infektionen in den Industrieländern dramatisch vorangebracht. Dank der hohen Sensitivität und Spezifität werden heute Nukleinsäure-Nachweise für das Screening von asymptomatisch infizierten Frauen empfohlen, als auch für die Diagnose akuter, unkomplizierter Chlamydia trachomatis Infektionen, wie Zervicitis und Urethritis [Black 1997, Johnson et al. 2002]. Nukleinsäure-Nachweise werden aber kaum in Entwicklungsländern eingesetzt, da diese Tests mit hohen Kosten verbunden und technisch sehr aufwändig sind und hohe Ansprüche an das Labor stellen. Deshalb sind solide Daten über die Prävalenz von genitalen Chlamydia trachomatis Infektionen in Entwicklungsländern kaum erhältlich. In dieser Studie, wurde der Erststrahlurin von insgesamt 491 ghanaischen Frauen mit einem kommerziellen Test zum Nachweis von Nukleinsäure untersucht. Dieser Test wird von vielen klinischen Laboren zur Routinediagnostik von Chlamydia trachomatis verwendet.

In unserer Studie wurde Chlamydia trachomatis bei 2,4% der gesunden Schwangeren, bei 1,9% der Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung und bei 1,6% der sterilen Frauen nachgewiesen. Damit scheint eine Infektion des unteren Genitaltraktes und der Urethra mit Chlamydia trachomatis ein relativ seltenes Ereignis in Ghana zu sein, dessen Häufigkeit mit der von gesunden Schwangeren in Europa, Nordamerika und Australien vergleichbar ist [Bassiri et al. 1997, Garland et al. 2000]. Auch sind unsere Ergebnisse denen zweier früherer Studien aus Ghana ähnlich, die 1985 und 1988 veröffentlicht wurden. Die Prävalenzraten von asymptomatischen Frauen lagen hier bei 3,6% und 4,9%, die von Sterilitätspatientinnen bei 3,6%. Allerdings wurden damals deutlich weniger spezifische Nachweisverfahren angewendet [Bentsi et al. 1985, Drescher et al. 1988]. In einem jüngst veröffentlichten Review über die Epidemiologie von Sexually Transmitted Diseases in Burkina Faso, einem westafrikanischen Nachbarland, lag die Prävalenzrate von Chlamydia trachomatis Infektionen (nachgewiesen mit einer PCR aus Erststrahlurin) bei 2% im Jahre 2000 [Nagot et al. 2004].

Wesentlich höher als die Prävalenzen im Nukleinsäurenachweis waren die Seroprävalenzen der Antikörper IgG und IgA gegen Chlamydia trachomatis. In Gruppe A (gesunde Schwangere) betrug die Prävalenz der IgG-Antikörper 19,4%, die der IgA-Antikörpern 3,6%. In Gruppe B (schwangere mit vorzeitigem Blasensprung) waren 17,3% der Probandinnen IgG positiv und 3,9% IgA positiv. In Gruppe C (Sterilitätspatientinnen) wurden bei 39,3% der Probandinnen IgG-Antikörper und in 14,1 % IgA-Antikörper nachgewiesen. Bei Nachweis von IgG und/oder IgA gegen Clamydia trachomatis im Blut ist das Risiko für eine Sterilität statistisch signifikant erhöht ($p< 0,001$). Die niedrige Rate, in der Chlamydia trachomatis spezifische DNA in den Urinproben nachgewiesen wurde, scheint in einem starken Kontrast zu dieser hohen Seroprävalenz von Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis zu stehen. Da durch den DNA-Test jedoch nur akute Infektionen mit Chlamydia trachomatis nachgewiesen werden widersprechen sich diese Ergebnisse nicht. Zusätzlich war das Durchschnittsalter der Probandinnen mit 29,47 Jahren relativ hoch und mehr als 90% der Frauen waren verheiratet. Beide Faktoren senken das statistische Risiko für eine akute Infektion mit Chlamydia trachomatis deutlich, da die Erstinfektion mit dem Erreger meist schon im teenager oder jungen erwachsenen Alter stattfindet. In den Industrienationen läßt sich in Urinproben eines Kollektivs von Teenagern oder jungen Erwachsenen mit häufig wechselnden Sexualpartnern, Patienten mit klinischen Symptomen und Prostituierten Chlamydia trachomatis spezifische DNA in bis zu 10% der Fälle nachweisen. Auf die Frage, ob diese Prävalenz akuter Chlamydia trachomatis Infektionen für dieses Kollektiv auch in afrikanischen Gesellschaften zutrifft, kann unsere

Studie keine Antwort geben. Eine kürzlich veröffentlichte Studie aus Botswana zeigt eine Prävalenz von Chlamydia trachomatis DNA aus Urinproben von Frauen mit vaginalem Ausfluß oder Unterbauchschmerzen von 13,7%. Das Durchschnittsalter der dort untersuchten Frauen betrug 16,6 Jahre und nur 21% der fast 800 untersuchten Frauen waren verheiratet [Paz-Bailey et al. 2005]. In den von uns insgesamt 491 untersuchten Probandinnen (aller Gruppen) konnte bei 27,1% IgG und bei 7,8% IgA Antikörper gegen Chlamydia trachomatis als Nachweis einer durchgemachten Infektion nachgewiesen werden. Dies spricht für eine eher höhere Prävalenz von akuten Chlamydia trachomatis Infektionen in einem jüngeren und unverheirateten Kollektiv in Ghana.

Des weiteren stellt sich die Frage, in wieweit unser Probandenkolletiv repräsentativ für die weibliche Bevölkerung Ghanas ist. Schwangere, die zu einer Vorsorgeuntersuchung gehen, gehören in einem Drittweltland wie Ghana wahrscheinlich einer aufgeklärten und gebildeten Schicht an und stellen nicht unbedingt einen repräsentativen Querschnitt der Bevölkerung dar. Das gleiche gilt, jedoch in geringerem Masse, für die Sterilitätspatientinnen, die den Weg in die Klinik finden.

4.2 Chlamydia trachomatis als Risikofaktor für einen vorzeitigen Blasensprung

Bisher nicht geklärt ist die Frage, ob eine Infektion mit Chlamydia trachomatis während der Schwangerschaft zu einem vorzeitigen Blasensprung führen kann. Die Studienlage ist widersprüchlich und es gibt sowohl Studien, die einen vorzeitigen Blasensprung nachweisen konnten [Kovacs et al. 1998, Mardh 2004, Ryan et al. 1990], als auch Studien, die keinen Zusammenhang zwischen C. trachomatis und einem vorzeitigen Blasensprung sehen [Cohen et al. 1990, Ismail et al. 1992, Nishimura et al. 1990].

In unserer Studie untersuchten wir den Erststrahlurin von 52 schwangeren Frauen, die einen vorzeitigen Blasensprung zwischen der 28. und 37. SSW erlitten hatten mit einer PCR auf akute C. trachomatis Infektionen. Nur in einem Fall lag eine akute Infektion mit Chlamydia trachomatis vor. Dies entsprach der Prävalenz von akuten Chlamydien Infektionen, die auch in der Kontrollgruppe vorlag. Auch die Seroprävalenz von IgA und IgG Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis war gegenüber der Kontrollgruppe nicht erhöht. Unsere Daten zeigen somit keinen Zusammenhang zwischen einer Infektion mit Chlamydia trachomatis und dem Auftreten eines vorzeitigen Blasensprungs. Unsere Studienpopulation war mit 52 Probandinnen relativ klein. Für eine abschliessende Bewertung der Frage des Zusammenhanges zwischen Chlamydia trachomatis Infektionen und vorzeitigen Blasensprung müssen größere Studien abgewartet werden.

4.3 Chlamydia trachomatis als Risikofaktor für eine Sterilität

Chronisch aufsteigende Infektionen mit Chlamydia trachomatis führen häufig zu einer Salpingitis, in deren Folge die Eileiter verkleben können und somit nicht mehr durchgängig sind. In den westlichen Gesellschaften sind aufsteigende Infektionen mit Chlamydia trachomatis eine Hauptursache für die tubare Sterilität. Wie hoch der Anteil von Chlamydia trachomatis bedingten Sterilitäten an der Gesamtzahl der Sterilitäten in den Entwicklungsländern ist, ist mangels Daten bisher noch nicht bekannt.

Unsere Daten zeigen, dass Chlamydia trachomatis auch in Westafrika ein wichtiger Risikofaktor für eine Sterilität ist. Die hohen Seroprävalenzen von IgG und IgA Antikörpern mit 39,3% bzw. 14,1% bei Frauen mit primärer oder sekundärer Sterilität weisen darauf hin. Diese Seroprävalenzen sind signifikant ($p<0,001$) höher als in der Kontrollgruppe, der gesunden schwangeren Frauen, in der die Seroprävalenzen nur 19,4% (IgG) bzw. 3,6% (IgA) betrugen.

Durch die multivariante Analyse von Risikofaktoren für eine Sterilität konnten wir zeigen, dass Frauen mit einem positiven IgA-Antikörper-Nachweis eine Odds ratio (OR) von 6,360 haben. Dies bedeutet, dass Frauen, bei denen IgA-Antikörper gegen Chlamydia trachomatis nachgewiesen wurde, ein 6-fach erhöhtes Risiko für eine Sterilität haben (OR 6,360). Nach unserem Wissen, ist dies die erste Studie, die den Zusammenhang zwischen Chlamydia trachomatis und Sterilität bei Frauen in Westafrika untersucht und aufzeigt.

Wie erwartet wurden viele weitere Risikofaktoren für eine Sterilität gefunden. Für die Frauen in unserer Studienpopulation waren frühere Abtreibungen der stärkste Risikofaktor. Patientinnen, die schon zwei oder mehrmals abgetrieben haben, hatten eine OR größer als 16. Dies scheint sich dadurch zu erklären, dass Abtreibungen durch unzureichend ausgebildete Personen oder in einem Umfeld, das kaum den medizinischen Minimalanforderungen entspricht, ein relevantes Problem in Entwicklungsländern sind. Durch fehlende Hygiene führen die Eingriffe häufig zu Infektionen, die wiederum zu Langzeitfolgen wie chronischen Unterbauchbeschwerden und Sterilität führen können [Van Look u. Cottingham 2002].

Aus denselben Gründen erhöht erwartungsgemäß auch die Anzahl der vorangegangenen Spontanaborte das Risiko für eine Sterilität (OR > 8).

Das Alter beim ersten Geschlechtsverkehr hatte ebenfalls einen Einfluss auf die Sterilität der Frauen. Je jünger die Probandinnen beim ersten Geschlechtsverkehr waren, desto höher war das Risiko für eine Sterilität. Auch dies bedeutet wiederum wahrscheinlich, dass diese Frauen bis zum Untersuchungszeitpunkt schon mehr genitale Infektionen durchgemacht hatten, als Frauen die erst sehr spät sexuell aktiv wurden.

Das Risiko für eine Sterilität stieg erwartungsgemäß auch mit dem Alter der Probandinnen. Frauen älter als 30 Jahre und vor allem Frauen über 35 Jahre hatten eine OR von 4,3 bzw. 9,6. Dies ist auf das häufige Auftreten der anderen Risikofaktorten bei älteren Probandinnen zurückzuführen, zusätzlich nimmt die Reproduktivität bei Frauen ab dem 30. Lebensjahr ab. Das höchste Risiko hatten aber die Probandinnen, die das Alter ihrer ersten sexuellen Kontakte nicht angeben konnten (OR 7,868). Möglicherweise war es für die Frauen, die den ersten Geschlechtsverkehr sehr früh hatten, zu bloßstellend das Alter anzugeben.

Das hohe Risiko für eine Infektion mit Chlamydia trachomatis bei jungen Frauen wird dabei nicht nur auf ihre höhere sexuelle Aktivität zurückgeführt, sondern auch dadurch, dass die bei jungen Frauen größere Ektopie der Endometriumschleimhaut den Chlamydien eine größere Angriffsfläche für eine Infektion bieten [Peipert 2003].

Das vermeintlich hohe Risiko verheirateter Frauen für eine Sterilität mit einer OR von 12,3, ist am ehesten dadurch zu erklären, dass sich vorwiegend verheiratete Frauen in eine Sterilitätsbehandlung begaben.

Für Frauen, die bereits Kinder geboren hatten, nahm das Risiko für eine Sterilität mit zunehmender Anzahl der Kinder konstant ab. Bereits ein Kind reduzierte das Risiko auf beinahe die Hälfte, drei Kinder reduzierte es auf ein Achtel.

4.4 Eignung der Serodiagnostik für den Nachweis chronischer Infektionen mit Chlamydia trachomatis

In unserer Studie zeigte sich bei den Sterilitätspatientinnen signifikant erhöhte IgA-Antikörper gegen Chlamydia trachomatis, deshalb stellte sich die Frage, ob der Nachweis dieses Antikörpers ein sinnvolles Diagostikum in der Sterilitätsabklärung ist.

Frühere Studien haben gezeigt, dass spezifische Antigene oder DNA von Chlamydia trachomatis im Gewebe der Tuben von Frauen mit tubar bedingter Sterilität nachgewiesen werden können. Doch müssen hierbei sehr invasive Methoden, wie eine Laparoskopie, angewendet werden, um an geeignetes Probenmaterial zu kommen [Barlow et al. 2001]. Nichtinvasive Proben scheinen aber weniger zum Nachweis von Chlamydien Infektionen der Adnexe geeignet zu sein, auch in unserer Studie konnte nur bei 1,6% der sterilen Frauen im Erststrahlurin Chlamydia trachomatis-DNA nachgewiesen werden.

Um das Problem der invasiven Probengewinnung zu umgehen, könnten serologische Tests weiterhelfen durch Chlamydia trachomatis verursachte Tubenpathologien indirekt nachzuweisen [den Hartog et al. 2004, Mouton et al. 2002].

Als Test der ersten Wahl für die Serodiagnostik von Chlamydia trachomatis gilt immer noch der Microimmunofluorescence Test (MIF), bei dem auf Glasträgern aufgebrachte gereinigte Elemetarkörperchen von Chlamydia trachomatis zum Nachweis von Antikörpern verwendet werden. Doch stellt der Test an das Labor hohe technische und personelle Anforderungen und ist sehr zeitaufwändig und eignet sich deshalb nicht zum Screening großer Populationen. Neuere EIAs basieren auf synthetischen Peptiden, die aus der variablen Domaine 4 (VD4) des Major Outer Membrane Protein von Chlamydia trachomatis hergeleitet werden. Diese EIAs haben eine gleiche oder sogar gering bessere Leistungscharakteristik als der MIF für den Nachweis von Chlamydia trachomatis Antikörpern [Morre et al. 2002]. Zusätzlich ist der Arbeitsablauf automatisierter und das Ergebnis objektiver anhand von Titern abzulesen als beim MIF. Durch diese Vorteile eignen sich die EIAs besonders für epidemiologische Studien.

Wir fanden eine signifikant erhöhte Prävalenz von IgG und IgA Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis in der Gruppe der sterilen Frauen gegenüber der Gruppe der gesunden schwangeren Frauen. Dies stimmt mit Daten von Hartog et al. überein, der bei Frauen mit Eileiterpathologien signifikant erhöhte IgA und IgG Antikörper gegen das Chlamydial Heat Shock Protein 60 und C-reaktive Protein fand, als es bei Frauen ohne Eileiterpathologien der Fall war. Den Nachweis der Eileiterpathologien stellte er mittels Laparoskopie [den Hartog et al. 2004]. Auch in unserer Studie hatten Frauen mit positiven Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis ein signifikant

erhöhtes Risiko für eine Sterilität. Nach Auswertung unserer Ergebnisse durch eine multivariante Analyse haben Frauen mit positiven IgA Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis ein 6-fach erhöhtes Risiko für eine Sterilität. Im Gegensatz zum IgA war der Nachweis von IgG Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis in unserer Population nur in der bivarianten Analyse als Risikofaktor für eine Sterilität statistisch signifikant, jedoch konnte es nicht als unabhängiger Risikofaktor in der multivarianten Analyse identifiziert werden. Dies ist wiederum in Übereinstimmung mit Logan et al., der gezeigt hat, dass der Nachweis von Chlamydia trachomatis IgG Antikörper mittels ELISA nicht zur Diagnostik einer Eileitersterilität bei subfertilen Frauen geeignet ist [Logan et al. 2003]. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Mouton et al. der nachweisen konnte, dass das IgA einen höheren positiven und negativen Vorhersagewert für eine tubarbedingte Sterilität hat als das IgG [Mouton et al. 2002].

Limitiert wird die Aussagekraft unsere Studie durch die weite Fassung der Einschlußkriterien der Gruppe der sterilen Frauen, da am Komfo Anokye Hospital eine systematische Diagnostik zur Sterilitätsursache kaum durchgeführt wurde. Es wurden deshalb alle Frauen in unsere Studie aufgenommen, die seit 12 Monaten vergeblich versuchten schwanger zu werden. Da auch keine systematische Laparoskopie zur Testung der Durchgängigkeit der Tuben durchgeführt wurde, ist in unserer Studie der Anteil der Frauen unbekannt, bei denen die Sterilität durch Pathologien an den Tuben verursacht wurde. Auch war es nur in wenigen Fällen möglich eine Aspermie des Partners durch ein Spermiogramm auszuschließen. Doch konnten wir eine Subgruppe mit n = 52 bilden, in der ein normales Spermiogramm des Partners vorlag. In dieser Subgruppe stiegen die Seroprävalenzen auf 47,3% für das IgG und auf 14,5% für das IgA, was den Verdacht weiter erhärtet, dass Chlamydia trachomatis für einen großen Anteil der Sterilitäten in unserer Studienpopulation verantwortlich ist. Trotzdem müssen auch andere Gründe neben Eileiterpathologien für eine Sterilität wie Anovulation oder Störungen der Spermiogenese des Partners bedacht werden.

Trotz aller Einschränkungen unserer Studie scheint der Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis ein geeignetes Diagnostikum in der Sterilitätsabklärung. Es ist ein einfaches, billiges und nicht invasives Verfahren mit einem hohen positiven und negativen Vorhersagewert für Eileiterpathologien [Barlow et al. 2001, den Hartog et al. 2005, Keltz et al. 2006, Logan et al. 2003, Meikle et al. 1994, Mol et al. 1997, Mouton et al. 2002]. Nach unseren Ergebnissen scheint der IgA-Nachweis spezifischer für eine Sterilität zu sein als der Nachweis von IgG-Antikörpern. Dies stimmt mit den Ergebnissen überein, die Logan et al. und Mouton et al. im Jahre 2003 und 2002 publizierten.

Aufgrund des hohen positiven und negativen Vorhersagewertes für Eileiterpathologien durch den Nachweis von IgA-Antikörpern erscheint es nicht mehr notwendig die Eileiterpathologien durch eine Laparoskopie nachzuweisen, insbesondere wenn auch das Spermiogramm des Partners unauffällig ist und die Klinik sich ins Bild fügt. Insbesondere für die resourcenarmen Länder scheint der diagnostische operative Eingriff in dieser Situation überflüssig. Ob in solchen Situationen eine Therapie der Chlamydieninfektion sinnvoll ist und zu einer Verbesserung der tubaren Situation führen kann müssen weitere Studien zeigen. Entsprechende Daten liegen bisher nicht vor. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von IgA-Antikörpern von wenigen Monaten ist es jedoch wahrscheinlich, dass zum Zeitpunkt des Nachweises von IgA eine noch aktive Infektion mit Chlamydia trachomatis vorliegt. Folgerichtig könnte auch eine Therapie erfolgreich sein.

Um den Komplikationen einer Infektion mit Chlamydia trachomatis vorzubeugen, sind in den USA, Schweden und Großbritannien Screeningprogamme etabliert worden [Peipert 2003, Scholes et al. 1996, US Preventive Services Task Force 2001]. Diese Screeningprogramme setzen darauf, bei jungen Frauen die akute Infektion mittels PCR nachzuweisen, um diese dann rechtzeitig und ausreichend zu behandeln und so die Langzeitkomplikationen zu verhindern.
Ob sich diese Methode der Reihenuntersuchungen auf ein Drittweltland wie Ghana anwenden läßt, ist fraglich. Zum einen ist damit ein hoher finanzieller und personeller Aufwand verbunden, der von einem Gesundheitssystem, wie es in Ghana existiert, nicht getragen werden kann. Zum anderen stellt sich die Frage in welchem Rahmen solch eine Screeninguntersuchung stattfinden sollte. Denn nur in den seltensten Fällen wird sich eine junge gesunde Frau einem Arzt vorstellen, auch dann nicht, wenn sie an einer solch symptomarmen Infektion, wie mit Chlamydia trachomatis, erkrankt ist.
Somit bleibt das primäre Ziel, eine Infektion zu verhindern. Im Rahmen der HIV-Aufklärung gibt es schon etablierte Präventionskampagnen, insbesondere zum regelmäßigen Gebrauch von Kondomen. Diese Maßnahmen müssen weiter unterstützt werden.
Für die Untersuchung der Frauen, die sich einem Arzt vorstellen, stellt sich die Frage nach einem geeigneten effektiven und kostengünstige Screeninginstrument. Da sich die Frauen meist erst in einem späteren Lebensabschnitt, wie z.B. im Rahmen einer Schwangerschaftsvorsorgeuntersuchung, vorstellen, ist es nach den vorliegenden Daten dieser Untersuchung mehr als fraglich, ob der PCR-Nachweis dabei die geeignete Methode ist. Um eine Infektion dieser Frauen nachzuweisen, ist wie unsere Ergebnisse zeigen am ehesten ein IgA-ELISA geeignet. Durch den Nachweis des schleimhautständigen IgAs im Serum ist es

möglich auch die aufgestiegene, chronifizierende Infektion mit Chlamydia trachomatis nachzuweisen und ggf. noch zu behandeln, bevor es zu weiteren Komplikationen wie einem vollständigen Tubenverschluss kommt.

Zum anderen hat der ELISA den Vorteil preisgünstiger zu sein und stellt geringere Anforderungen an die technische Ausstattung des Labors, ein nicht außer acht zu lassender Aspekt für ressourcenarme Länder wie Ghana.

5 Zusammenfassung

Hintergrund: Chlamydia trachomatis gehört weltweit zu den häufigsten sexuell übertragenen Erregern. Chronische Chlamydia trachomatis Infektionen können zu Verwachsungen der Adnexe führen, die einer der Hauptgründe für eine infektassoziierte Sterilität bei Frauen in den Industrieländern sind. Extrauteringraviditäten, die in der Folge der eingeschränkten Eileiterfunktion entstehen können, können im Falle einer Ruptur mit einer lebensgefährlichen Blutung verbunden sein. Während der Schwangerschaft führen Infektionen mit Chlamydia trachomatis möglicherweise zu einem vorzeitigen Blasensprung. Zuverlässige Daten über die Prävalenz von urogenitalen Infektionen mit Chlamydia trachomatis und deren Folgen für die Fertilität und das Outcome der Schwangerschaft sind für Entwicklungsländer jedoch kaum erhältlich, aber wichtig um geeignete Gegenmaßnahmen ergreifen zu können. Zur Erhebung entsprechender Daten in den resourcenarmen Ländern ist darüber hinaus die Etablierung eines kosteneffektiven und einfach anwendbaren Testverfahrens nötig.

Methoden: 491 Patientinnen eines Universitätskrankenhaus in Ghana, West Afrika, wurden auf die Prävalenz von akuten Infektionen mit Chlamydia trachomatis und auf die Serokonversion Chlamydia trachomatis spezifischer Antikörper untersucht.

Die Arbeit wurde als Fall-Kontroll-Studie angelegt. Es wurden 248 gesunde Frauen, die im ersten oder zweiten Trimenon schwanger waren, 52 schwangere Frauen, die einen vorzeitigen Blasensprung zwischen der 28. und 37. Schwangerschaftswoche erlitten hatten und 191 sterile Frauen in die Studie aufgenommen. Die Probandinnen gaben eine Blutprobe und eine Erststrahlurinprobe ab und beantworteten einen Fragebogen. Die Unrinproben wurde mit einer Polymerase Kettenreaktion (PCR) auf akute Infektionen mit Chlamydia trachomatis untersucht. Die Blutproben der Probandinnen wurden mit einem Enzym-linked Immunosorbent Assay (ELISA) auf eine Serokonversion der Immunglobuline (Ig) G und A untersucht. Demographische Angaben und Angaben zum sozialen Stand, zu sexuellen Praktiken, sowie der medizinischen Vorgeschichte, insbesondere der geburtshilflichen, chirurgischen und internistischen Vorgeschichte, wurden mit einem Fragebogen erfasst und mit einer bivarianten und multivarianten Risikoanalyse ausgewertet.

Ergebnisse: Die Prävalenz akuter Infektionen mit Chlamydia trachomatis, nachgewiesen mittels PCR im Urin, waren relativ gering und es zeigten sich keine signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Sie betrug bei gesunden schwangeren Frauen 2,4%, bei Schwangeren mit einem vorzeitigen Blasensprung 1,9% und für Frauen mit einer Sterilität 1,6%, und

entsprach damit in etwa der Prävalenz für asymptomatisch Schwangere in Europa und Nordamerika.

Im Gegensatz dazu war die Prävalenz durchgemachter und möglicherweise chronifizierter Erkrankungen mit Chlamydia trachomatis, nachgewiesen durch IgG- und IgA-Antikörper gegen Chlamydia trachomatis, relativ hoch. Die Seroprävalenz der Antikörper gegen Chlamydia trachomatis betrug in der Gruppe der gesunden schwangeren Frauen 19% (IgG) und 3% (IgA). Ähnliche Prävalenzen fanden sich bei Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung (IgG 17% p=0,925, IgA 4% p=1). Im Vergleich lag die Prävalenz dieser Antikörper in der Gruppe der sterilen Frauen signifikant höher (IgG 39%, IgA14%, p jeweils <0,001).

Die multivariante Analyse zeigte dabei, dass Probandinnen mit positven IgA-Antikörpern ein sechsfach erhöhtes Risiko für eine Sterilität hatten (adjusted odds ratio (OR) 6,360). Weitere Risikofaktoren für eine Sterilität waren spontane Aborte (OR 8,360), Alter beim ersten Geschlechtsverkehr (OR 6,004 (19-20 Jahre), 5,515 (17-18 Jahre), 7,144 (<17 Jahre), 7,868 (Alter unbekannt)) und Anzahl der Abtreibungen (OR 6,100 (1), 16,345 (2), 18,806 (>2)).

Schlussfolgerung: Die Prävalenz akuter Infektionen mit Chlamydia trachomatis war in allen untersuchten Gruppen relativ gering und zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Im Gegensatz dazu waren in der Gruppe der Sterilitätspatientinnen die Seroprävalenzen von IgG und IgA signifikant erhöht. Frauen mit spezifischen IgA Antikörpern hatten ein mehr als sechsmal erhöhtes Risiko für eine Sterilität, was nahelegt, dass eine chronische Chlamydia trachomatis Infektion auch für ghanaische Frauen ein Hauptrisikofaktor für eine Sterilitat ist. Alle übrigen ermittelten Risikofaktoren für eine Sterilität gehen mit einem erhöhten Risiko für urogenitale Infektionen einher. Diese stellen die Hauptursache für die weibliche Sterilität dar.

Die niedrige Rate des Nachweises von Chlamydien-DNA (Desoxyribonucleic acid) stellt diese Methode der Chlamydiendiagnostik in Frage. Unsere Daten zeigen dagegen, dass der Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydia trachomatis mittels ELISA sich sehr gut für die Diagnostik subakuter und chronischer Infektionen eignet. Insbesondere der Nachweis von IgA mittels ELISA kann zukünftig ein geeignetes Instrument zur Diagnostik von Chlamydia trachomatis Infektionen und mit dieser Infektion assoziierter Folgeerkrankungen werden. Dies gilt insbesondere auch für die ressourcenarmen Länder.

6 Literaturverzeichnis

Barlow R E, Cooke I D, Odukoya O, Heatley M K, Jenkins J, Narayansingh G, Ramsewak S S, Eley A.

The prevalence of Chlamydia trachomatis in fresh tissue specimens from patients with ectopic pregnancy or tubal factor infertility as determined by PCR and in-situ hybridisation.

J Med Microbiol 2001; 50: 902-908

Bassiri M, Mardh P A, Domeika M.

Multiplex AMPLICOR PCR screening for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in women attending non-sexually transmitted disease clinics. The European Chlamydia Epidemiology Group.

J Clin Microbiol 1997; 35: 2556-2560

Bentsi C, Klufio C A, Perine P L, Bell T A, Cles L D, Koester C M, Wang S P.

Genital infections with Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in Ghanaian women.

Genitourin Med 1985; 61: 48-50

Black C M.

Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections.

Clin Microbiol Rev 1997; 10: 160-184

Cohen I, Tenenbaum E, Fejgin M, Michaeli G, Beyth Y, Sarov I.

Serum-Specific Antibodies for Chlamydia trachomatis in Preterm Premature Rupture of the Membranes.

Gynecol Obstet Invest 1990; 30:155-158

Cook R L, Hutchison S L, Ostergaard L, Braithwaite R S, Ness R B.

Systemic review: noninvasiv testing for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae.

Ann Intern Med 2005; 142: 914-925

Darville T.

Chlamydia trachomatis infections in neonates and young children.

Semin Pediatr Infect Dis 2005;16: 235-244

Debattista J, Timms P, Allan J, Allan J.

Immunopathogenesis of chlamydia trachomatis infections in women.

Fertil Steril 2003; 79: 1273-1287

den Hartog J E, Land J A, Stassen F R, Slobbe-van Drunen M E, Kessels A G, Bruggeman C A.

The role of chlamydia genus-specific and species-specific IgG antibody testing in predicting tubal disease in subfertile women.

Hum Reprod 2004; 19: 1380-1384

Domeika M, Butylkina R, Hallen A, Spukaite T, Juceviciute V, Morkunaite D, Jakutiene R, Paliuniente V, Barakauskiene J, Goberis M.

Prevalence of Chlamidia trachomatis infections in women attending six women`s healthcare units in Kainas, Lithuania.

Sex Transm Infect 2001; 77: 459-460

Drescher C, Elkins T E, Adkeo O, Akins-Bekoe P , Agbemadzo T, Foster R L, Martey J O.

The incidence of urogenital Chlamydia trachomatis infections among patients in Kumasi, Ghana.

Int J Gynaecol Obstet 1988; 27: 381-383

Epidemiologischen Bulletin 12/2001:

Chlamydiosen (Teil 1): Erkrankungen durch Chlamydia trachomatis.

Erhältlich unter http://www.rki.de/infekt/ratgeber/rat.htm

Essig A, Marre R.

Diagnosis and therapy of chlamydia infections

Dtsch Med Wochenschr 1997;122: 971-975.

Fritsch H O, Hofstätter A, Lindner K.
Experimentelle Studien zur Trachomfrage.
Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1910; 76: 547-552

Garland S M, Tabrizi S, Chen S, Byambaa C, Davaajav K.
Prevalence of sexually transmitted infections (Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis and human papillomavirus) in female attendees of a sexually transmitted disease clinic in Ulaanbaatar, Mongolia.
Infect Dis Obstet Gynecol 2001; 9: 143-146

Garland S M, Tabrizi S, Hallo J, Chen S.
Assessment of Chlamydia trachomatis prevalence by PCR and LCR in women presenting for termination of pregnancy.
Sex Transm Infect 2000; 76: 173-176

Gaydos C A, Howell M R, Pare B, Clark K L, Ellis D A, Hendrix R M, Gaydos J C, McKee K T Jr, Quinn T C.
Chlamydia trachomatis infections in female military recruits.
N Engl J Med 1998; 339: 739-744

Gomes JP, Tavira L, Exposto F, Prieto E, Catry MA.
Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis infections in patients attending STD and family planning clinics in Bissau, Guinea-Bissau.
Acta Tropica 2001; 80: 261-264

Guidelines for the management of sexually transmitted infections
Veröffentlicht durch die World Health Organization 2003
Erhältlich unter http://www.emro.who.int/aiecf/web79.pdf

Halberstädter L, Prowazek S V.
Über Zelleinschlüsse parasitärer Natur beim Trachom.
Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte 1907; 26: 44-47

Hardick J, Hsieh Y H, Tulloch S, Kus J, Tawes J, Gaydos C A.
Surveillance of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections in women in detention in Baltimore, Maryland.
Sex Transm Dis 2003; 30: 64-70

Hoyme U B.
Chlamydieninfektionen aus der Sicht des Frauenarztes und Geburtshelfers. Diagnostik, Epidemiologie, Komplikationen und Therapie.
Öff Gesundheitswes 1987; 49: 438-441

Hubacher D, Lara-Ricalde R, Taylor DJ, Guerra-Infante F, Guzman-Rodriguez R.
Use of copper intrauterine devices and the risk of tubal infertility among nulligravid women.
N Engl J Med 2001; 345: 561-567

Ismail M A, Pridjian G, Hibbard J U, Harth C, Moawad A A.
Significance of positive cervical cultures for Chlamydia trachomatis in patients with preterm premature rupture of membranes.
Am J Perinatol 1992; 9: 368-370

Johnson R E, Newhall W J, Papp J R, Knapp J S, Black C M, Gift T L, Steece R, Markowitz L E, Devine O J, Walsh C M, Wang S, Gunter D C, Irwin K L, DeLisle S, Berman S M.
Screening tests to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections--2002.
MMWR Recomm Rep 2002; 51: 1-38

Keltz MD, Gera PS, Moustakis M.
Chlamydia serology screening in infertility patients.
Fertil Steril 2006 Mar; 85: 752-754

Kovacs L, Nagy E, Berbik I, Meszaros G, Deak J, Nyari T.
The frequency and the role of Chlamydia trachomatis infection in premature labor.
Int J Gynaecol Obstet Jul; 62: 47-54

Link M.
Chlamydien-Screening am Schwangerschaftsende?
Zent Bl Gynäkol, 1990; 112: 1069-1070

Logan S, Gazvani R, McKenzie H, Templeton A, Bhattacharya S.
Can history, ultrasound, or ELISA chlamydial antibodies, alone or in combination, predict tubal factor infertility in subfertile women?
Hum Reprod 2003; 18: 2350-2356

Mardh PA.
Influence of infection with Chlamydia trachomatis on pregnancy outcome, infant health and life-long sequelae in infected offspring.
Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2002; 16: 847-864

Mardh PA.
Tubal factor infertility, with special regard to chlamydial salpingitis.
Curr Opin Dis 2004; 17: 49-52

Meikle SF, Zhang X, Marine WM, Calonge BN, Hamman RF, Betz G.
Chlamydia trachomatis antibody titers and hysterosalpingography in predicting tubal disease in infertility patients.
Fertil Steril 1994; 62: 305-312

Miller WC, Ford CA, Morris M, Handcock MS, Schmitz JL, Hobbs MM, Cohen MS, Harris KM, Udris JR.
Prevelance of Chlamydial and Gonococcal infections among young adults in the United States.
JAMA 2004; 291:2229-2236

Mol BW, Dijkman B, Wertheim P, Lijmer J, van der Veen F, Bossuyt PM.
The accuracy of serum chlamydial antibodies in the diagnosis of tubal pathology: a meta-analysis.
Fertil Steril. 1997; 67: 1031-1037

Moore DE. Spadoni LR. Foy HM. Wang SP. Daling JR. Kuo CC. Grayston JT. Eschenbach DA.
Increased frequency of serum antibodies to Chlamydia trachomatis in infertility due to distal tubal disease.
Lancet 1982; 2: 574-577

Morre SA, Munk C, Persson K, Kruger-Kjaer S, van Dijk R, Meijer C J, van Den Brule A J.
Comparison of three commercially available peptide-based immunoglobulin G (IgG) and IgA assays to microimmunofluorescence assay for detection of Chlamydia trachomatis antibodies.
J Clin Microbiol 2002; 40: 584-587

Mouton J W, Peeters M F, von Rijssort-Vos J H, Verkooyen R P.
Tubal factor pathology caused by Chlamydia trachomatis: the role of serology.
Int J STD AIDS 2002; 13: 26-29

Nagot N, Meda N, Ouangre A, Ouedraogo A, Yaro S, Sombie I, Defer M C, Barennes H, van de Perre P.
Review of STI and HIV epidemiological data from 1990 to 2001 in urban Burkina Faso: implications for STI and HIV control.
Sex Transm Infect 2004; 80: 124-129

Nishimura M, Kumamoto Y, Koroku M, Tsunekawa T, Hiroe T, Hayashi K, Matsukawa M, Nishijima N, Minami K, Yoshio H, et al.
Epidemiological study on Chlamydia trachomatis infection in pregnant housewives and investigation on its influence on outcome of pregnancy and on their newborns
Kansenshogaku Zasshi 1990 ;64: 179-187

Passey M, Mgone CS, Lupiwa S, Suve N, Tiwara S, Lupiwa T, Clegg A, Alpers MP.
Community based study of sexually transmitted diseases in rural women in the highlands of Papua New Guinea: Prevalence and risk faktors.
Sex Transm Inf 1998; 74: 120-127

Paz-Bailey G, Rahman M, Chen C, Ballard R, Moffat H J, Kenyon T, Kilmarx P H, Totten P A, Astete S, Boily M C, Ryan C.
Changes in the etiology of sexually transmitted diseases in Botswana between 1993 and 2002: implications for the clinical management of genital ulcer disease.
Clin Infect Dis 2005; 41:1304-1312

Peipert J F.
Clinical practice. Genital Chlamydial Infections.
N Engl J Med 2003; 349: 2424-2430

Pepin J, Deslandes S, Khode N, Kintin DF, Diakite S, Sylla M, Meda H, Sobela F, Asamoah-Adu C, Agyarko-Poku T, Frost E.
Low pravalence of cervical infections in women with vaginal discharge in west Africa: implications for syndromic management.
Sex Transm Infect 2004; 80: 230-235

Pospísil L, Canderle J, Huser M, Stroblová H, Unzeitig V, Vezník Z.
Infection with Chlamydophila pneumoniae as a cause of female infertility of tubal origin?
Ceska Gynekol 2004; 69: 347-51.

Rice P A, Schachter J.
Pathogenesis of pelvic inflammatory disease: what are the questions?
JAMA 1991; 266: 2587-2593

Ryan GM Jr, Abdella TN, McNeeley SG, Baselski VS, Drummond DE.
Chlamydia trachomatis infection in pregnancy and effect of treatment on outcome.
Am J Obstet Gynecol 1990; 162: 34-39

Saiki RK, Gelfan DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA.
Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase.
Science 1988; 239: 487-491

Salpietro C D, Bisignano G, Fulia F, Marino A, Barberi I.
Chlamydia trachomatis conjunctivitis in the newborn.
Arch Pediatr, 1999; 6: 317-320

Schachter J, Dawson C R.
Human Chlamydial infections.
Littleton Mass, PSG Publishing Co, Littlejohn, 1978; 144-148

Schachter J, McCormack W M, Chernesky M A, Martin D H, Van der P B, Rice P A.
Vaginal Swabs are appropriate specimens for diagnosis of genital tract infection with Chlamydia trachomatis.
J Clin Microbiol 2003; 41: 3784 – 3789

Schindler J F, Feldmann H U, Petersen E E.
Das unterschätzte Risiko: Chlamydien- Infektionserkrankungen (I).
Gyne 1993; 10: 15-19

Scholes D, Stergachis A, Heidrich F E, Andrilla H, Holmes K K, Stamm W E.
Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical chlamydial infection.
N Engl J Med 1996; 334: 1362-1366

Schütt S, Essig A.
Diagnostik von Chlamydien-Infektionen.
J Lab Med 2004; 28: 144 – 153

Shafer M A, Moncada J, Boyer C B, Betsinger K, Flinn S D, Schachter J.
Comparing first-void urine specimens, self collected vaginal swabs, and endocervical specimens to detect Chlamydia trachomatis and Neiseria gonorrhoeae by a nucleid acid amplification test.
J Clin Microbiol 2003; 41: 4395 – 4399

Shen L, Wu S, Liu G.
Study on the perinatal infection caused by Chlamydia trachomatis.
Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih 1995; 30: 714-717

Shibahara H, Takamizawa S, Hirano Y, Ayustawati, Takei Y, Fujiwara H, Tamada S, Sato I.

Relationships between Chlamydia trachomatis antibody titers and tubal pathology assessed using transvaginal hydrolaparoscopy in infertile women.

Am J Reprod Immunol 2003; 50: 7-12

Smith KA, Bradley KK, Stobierski MG, Tengelsen LA;

National Association of State Public Health Veterinarians Psittacosis Compendium Committee.

Compendium of measures to control Chlamydophila psittaci (formerly Chlamydia psittaci) infection among humans (psittacosis) and pet birds, 2005.

J Am Vet Med Assoc 2005; 226: 532-539.

Stamm W E, Holmes K K. Chlamydia trachomatis infections of the adult. In: Holmes K K, Mardh P A, Sparling P F, Wiesner P J, eds.

Sexually transmitted diseases.

2nd ed. New York: McGraw-Hill 1990; 181-193

Storz J, Spears P.

Chlamydiales: Properties, Cycle of Development and Effekt on Eukaryotic Host Cells.

Curr Top in Microbiol Immunol 1977; 76: 167-214

Sullivan EA, Abel M, Tabrizi S, Garland SM, Grice A, Poumerol G, Taleo H, Chen S, Kaun K, O`Leary M, Kaldor J.

Prevalence of Sexually Transmitted Infections among antenatal women in Vanuatu, 1999-2000.

Sex Transm Dis 2003; 30: 362-366

Teran S, Walsh C, Irwin K L.

Chlamydia trachomatis Infection in women: bad news, good news, and next steps in prevention.

J Am Med Womens Assoc 2001; 56: 100-104

Tobin C, Aggarwal R, Clarke J, Chown R, King D.
Chlamydia trachomatis: opportunistic screening in primary care.
Br J Gen Pract 2001; 51: 565-566

US Preventive Services Task Force.
Screening for chlamydial infection: recommendations and rationale.
Am J Prev Med 2001; 20: 90-94

Van Look P F, Cottingham J C.
Unsafe abortion: an avoidable tragedy.
Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2002; 16: 205-220

Walraven G, Scherf C, West B, Ekpo G, Paine K, Coleman R, Bailey R, Morison L.
The burden of reproductive-organ disease in rural women in The Gambia, West Africa.
Lancet 2001; 357: 1161-1167

Westrom L, Joesoef R, Reynolds G, Hagdu A. Thompson S E.
Pelvic inflammatory disease and infertility: a cohort study of 1,844 women with laparoscopically verified disease and 657 control women with normal laparoscopic results.
Sex Transm Dis 1992; 19: 185-192

7 Danksagungen

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen Bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Dem ärtztlichen Direktor der Universitätsfrauenklinik **Prof. Dr. med. Rolf Kreienberg** danke ich für die Möglichkeit diese Dissertation in seiner Abteilung anfertigen zu können.

Bei Frau **Dr. med. Tanja Groten** von der Universitätsfrauenklinik bedanke ich mich, da von Ihr die Idee zu dem Thema der Doktorarbeit stammt. Und natürlich bedanke ich mich für die ausdauernde Korrektur der Doktorarbeit.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei **Prof. Dr. med. Andreas Essig** für die hervorragende Betreuung. Er nahm sich immer Zeit, wenn es galt Fragen zu klären.

Herrn **Dr. med. Danso** danke ich für die Möglichkeit diese Arbeit in der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe des Komfo Anokye Teaching Hospitals, Kumasi, Ghana durchzuführen.

Mein Dank gilt den **Krankenschwestern** der Ambulanz der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe des Komfo Anokye Teaching Hospitals, Kumasi, Ghana für die Unterstützung und Übersetzung während meiner Zeit in Ghana.

Bei Herrn **Dr. Thomas F. Kruppa**, dem Direktor des Kumasi Centre for Collaborative Research, bedanke ich mich für die Hilfe beim Lösen der logistischen Probleme.

Bedanken möchte ich mich bei bei Frau **Sonja Rothenberger** für die Durchführung der Tests in Ulm.

Syron Belak danke ich für die ausdauernde Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Mein ganz besonderen Dank gilt meinem Betreuer Herrn **Dr. med. Jörn Siemer**. Auch nach seinem Wechsel nach Erlangen hat die Betreung trotz der räumlichen Distanz immer vorbildlich funktioniert.

8 Lebenslauf

Name:	Tillmann Oliver Theile
Geburtstag:	10.08. 1977
Geburtsort:	Herdecke
Eltern:	Birgit und Dr. ing. Jürgen Theile
Schule:	**1984–1988** Grundschule Vinckenberg in Herdecke **1988–1997** Friedrich-Harkort-Gymnasium in Herdecke **Juni 1997** Allgemeine Hochschulreife
Zivildienst:	**1997-1998** Krankenpflege auf einer Station für Innere Medizin am Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke
Praktika:	**Sept. 1998–April 1999** Praktikum in einer Einrichtung für geistig behinderte Menschen in Südafrika **Juni 1999–Sept. 1999** Jugendreiseleiter und Mountainbikeguide für RuF Jugendreisen auf Sardinien/Italien **Sept. 2002–Feb. 2003** Aufenthalt in Ghana im Rahmen der Promotion
Studium:	seit **Sept.1999** Studium der Humanmedizin an der Universität Ulm **Aug. 2001** Physikum **Aug. 2002** Erstes Staatsexamen **März 2005** Zweites Staatsexamen **April 2005–Aug. 2005** 1. Tertial des PJ: Innere Medizin am Elisabethenkrankenhaus Ravensburg **Aug. 2005–Dez.2005** 2. Tertial des PJ: Anästhesie am Elisabethenkrankenhaus Ravensburg **Dez. 2005-März 2006** 3. Tertial des PJ: Chirugie am University Hospital Liverpool

	Mai 2006 Drittes Staatsexamen
Beruf	seit **Juli 2006** Assistenzarzt am Zentrum für Innere Medizin am Klinikum Konstanz
Promotion:	seit **Sept. 2002** Prävalenz akuter und durchgemachter Infektionen mit Chlamydia trachomatis bei gesunden Schwangeren, Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung und Sterilitätspatientinnen in Kumasi/Ghana
Veröffentlichungen	Siemer J, Theile T O, Larbi Y, Fasching P A, Danso K A, Kreienberg R, Essig A. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for infertility among women in Ghana, West Africa American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2008; 78: 323-327