

# Can I still get pregnant?

Citation for published version (APA):

Hoenderboom, B. M. (2021). *Can I still get pregnant? Long-term complications of Chlamydia trachomatis infections in women*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Ipskamp.  
<https://doi.org/10.26481/dis.20210701bh>

## Document status and date:

Published: 01/01/2021

## DOI:

[10.26481/dis.20210701bh](https://doi.org/10.26481/dis.20210701bh)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Summary

*Chlamydia trachomatis* infection (“chlamydia”) control is largely focused on detecting and treating asymptomatic infections, limiting ongoing transmission, and thereby reducing the incidence of chlamydia related complications such as pelvic inflammatory disease (PID), ectopic pregnancies and tubal factor infertility (TFI). However, despite the ongoing activities of accelerated testing and treating chlamydia prevalence remains unchanged. Uncertainty exists about the estimates of complications rates following infection as well as determinants associated with developing late complications. To estimate the risk for late complications following a chlamydia infection and to gain insight in factors that contribute to the development of complications, the Netherlands Chlamydia Cohort Study (NECCST) was initiated.

This thesis described research on chlamydia complications and related risk factors in NECCST.

**Part 1** ‘The risk of chlamydia for long-term complications: Setting up the Netherlands Chlamydia Cohort study’ described and discussed the methodology used for the cohort.

**Part 2** focused on ‘The value of chlamydia trachomatis serology’ in either determining a previous chlamydia infection or as a factor potentially related to disease progression.

**Part 3** ‘Long-term complications of chlamydia infections and predictive factors’ described the risk estimates for late complications and pregnancies following chlamydia infection.

In **chapter 1**, a general introduction is provided on *Chlamydia trachomatis*, its characteristics, clinical manifestations, potential complications and the epidemiology is described. Furthermore, the challenges of estimating chlamydia related complications are discussed. Studying the natural history of chlamydia comes with many challenges. Due to the asymptomatic nature of the infection, misclassifications of the chlamydia status is common. Case definitions, specifically of PID, are challenging due to unclear diagnostic criteria. A long follow-up is needed because complications of infections often only become apparent after women try to get pregnant, years following infection. And last a large sample size is required because of low incidences of ectopic pregnancies and TFI. With these challenges and the general limitations of cohort studies in mind, NECCST will be ‘NECCST best’ design in estimating late complications of chlamydia infections.

### *Part 1 The risk of complications following chlamydia infection: setting up the Netherlands Chlamydia Cohort study*

This first part of the thesis focuses on setting up the cohort and the validation studies performed to increase accuracy and reproducibility of the study design. The Netherlands Chlamydia Cohort Study (NECCST) is a longitudinal cohort study following women of reproductive age who previously participated in the Chlamydia Screening Implementation (CSI) study. With NECCST we aimed to estimate the risk for late complications in women with and without a previous infection. Furthermore, the chance of getting pregnant following infection was estimated. Last, determinants associated with developing complications were assessed to help identify women with the highest risk for late complications. **Chapter 2** described the study protocol of NECCST. The study started in 2015 and

will be ongoing until 2022. Information was gathered concerning previous chlamydia infections, late complications, fertility issues, pregnancies and also demographics, sexual risk behaviour and health characteristics. To validate parts of the used methodology, two further studies were performed. **Chapter 3** describes a validation method of the use of home collected capillary blood samples for the assessment of chlamydia IgG antibody presence. Validity was high between chlamydia IgG antibody concentration of samples with and without centrifugation delay, therefore this home collection of blood samples introduced a low cost method with simple logistics and is therefore easy to use in large epidemiological studies. **Chapter 4** describes a pilot study in which the reuse of previously collected CSI samples for isolating host DNA was tested. Additionally in these samples we tried to confirm the role of four genes by investigating proven associated single nucleotide polymorphisms (SNPs, i.e. *TLR2* +2477 G>A, *NOD1* +32656 T->GG, *CXCR5* +10950 T>C, and *IL10* -1082 A>G) in the susceptibility and severity of a chlamydia infection. The majority of previously found associations could not be confirmed. This study underscores the relevance of confirmatory studies and confirmed the use of old biological samples for host DNA isolation.

#### *Part 2 The value of Chlamydia trachomatis serology*

This second part of this thesis focuses on the use and value of chlamydia serology in either identifying people previously infected or to identify antibody patterns associated with chlamydia disease progression. **Chapter 5** describes the study of the value of chlamydia serology in addition to using previous NAAT results and self-reported infections in estimating chlamydia lifetime prevalence. Among women with previous negative chlamydia tests, eight percent tested positive for chlamydia antibodies. This significantly increased chlamydia lifetime prevalence with six percent compared to using NAAT results and self-reported infections only. Combining NAAT outcomes, self-reported positive tests, and antibody testing reduced misclassification in chlamydia prevalence estimates. In **chapter 6** chlamydia whole-proteome microarrays were utilized to identify antibody patterns associated with infection and with complications in a subsample of NECCST participants. Serum pools were analyzed on whole-proteome arrays. The most reactive antigens were used for further analyses with minimized microarrays. To discriminate between seropositive and seronegative serum samples; a panel of eighteen antigens was created which identified 96% of all microarray positive samples. Using a whole-proteome array to select antigens for minimized arrays allows for the identification of novel informative antigens as general infection markers. It is however vital to validate this assay, panel, and potential disease related antigens before it can be used in medical practice.

Overall, chlamydia serology can aid to the surveillance, evaluation of chlamydia control activities and identification of disease specific risk. Current assays however lack sensitivity and specificity in determining population seroprevalence. This reduces the value of chlamydia serology for this purpose. Whole proteome arrays are useful in determining important potential antigens for inclusion in assays which might increase sensitivity and specificity in future assays.

#### *Part 3 Long-term complications of chlamydia infections and predictive factors*

In **Chapter 7 and 8** studies were described in which risks and risk factors for PID, ectopic

pregnancy, TFI and (time to) pregnancies were estimated. About 30% of 5,704 included women were chlamydia-positive. Incidence rates for all complications were low, between 1.3 and 4.4 per 1,000 person-years. However, the incidence rate of PID was two times higher among chlamydia positives compared to chlamydia negatives. For TFI this was four times higher among chlamydia positives. Incidence rates for ectopic pregnancy were similar. Among chlamydia-positive women, the strongest risk factor for PID was symptomatic versus asymptomatic infection and for TFI this was a young age (<20) at first infection. Overall pregnancy rates were similar in chlamydia positive and negative women, both fifty percent. However, among women with a pregnancy intention, chlamydia positive women became significantly less often pregnant within twelve months than chlamydia negative women. Additionally, pregnancy rates were twenty percent less over time among chlamydia positives <33 years of age compared to chlamydia negatives. From these studies it can be concluded that chlamydia-positive women have a considerable higher risk for PID and TFI, and have a longer time to pregnancy. However, the overall incidence rates of complications remained low and ultimately overall pregnancy rates did not differ between chlamydia positive and negative women.

Last, in **chapter 9** a general discussion is provided on all topics described above, as well as recommendations for the future. Building on a previous study provided long-term follow up, relevant data and a large sample size that allowed the estimation of chlamydia risk for late complications. The overall risk for complications was low and overall pregnancy rates were similar. Currently in the Netherlands over 60,000 infections are diagnosed and treated yearly without solid evidence that this will decrease chlamydia prevalence or chlamydia complications. A shift from prevention of infection to prevention of complications can be more effective. The ultimate measure will be to have a prognostic tool which differentiates between women with and without an increased risk for late complications. The NECCST cohort will continue to develop a prognostic tool using among other genetic and serology markers. In the meantime different options can be explored for testing high risk groups, i.e. high risk for late complications instead of high risk for infections.

## Samenvatting

*Chlamydia trachomatis* infectie bestrijding is grotendeels gericht op het diagnosticeren en behandelen van asymptomatische infecties, het verminderen van transmissie en daarmee het verlagen van de incidentie van chlamydia gerelateerde complicaties zoals eileiderontstekingen, buitenbaarmoederlijke zwangerschappen en onvruchtbaarheid veroorzaakt door verklevingen in en rondom de eileiders. Ondanks alle activiteiten om chlamydia transmissie te onderbreken, door het steeds meer testen en behandelen van infecties, blijft de prevalentie van chlamydia in de bevolking onveranderd. Daarnaast is er onzekerheid over hoe vaak complicaties voorkomen na een chlamydia infectie bij vrouwen en welke risicofactoren de kans op complicaties verhogen dan wel verlagen. Om in te kunnen schatten wat het risico van het doormaken van een chlamydia infectie op lange termijn complicaties is en om inzicht te krijgen in de risicofactoren ervan is de Nederlandse Chlamydia Cohort Study (NECCST) opgezet.

Dit proefschrift beschrijft het onderzoek over chlamydia gerelateerde complicaties en geassocieerde risico factoren in NECCST.

**Deel 1** 'Het risico op chlamydia gerelateerde lange termijn complicaties: Het opzetten van de Nederlandse Chlamydia Cohort Studie' beschrijft en bediscussieert de voor het onderzoek gebruikte methode.

**Deel 2** richt zich op de waarde van *Chlamydia trachomatis* serologie voor het bepalen van een doorgemaakte chlamydia infectie en als mogelijke factor in de ontwikkeling van complicaties.

**Deel 3** 'Lange termijn complicaties van chlamydia infecties en voorspellende factoren' beschrijft de risicoschattingen voor het ontwikkelen van complicaties en het zwanger worden na een chlamydia infectie.

Het eerste hoofdstuk (**Hoofdstuk 1**) bestaat uit een algemene introductie over *Chlamydia trachomatis*, de karakteristieken, het klinisch beeld, mogelijke complicaties en de epidemiologie. Vervolgens worden de uitdagingen van het bepalen van de risico's op chlamydia gerelateerde complicatie uitvoerig besproken. Het bestuderen van het natuurlijke beloop van een chlamydia infectie kent vele uitdagingen. Chlamydia heeft vaak een asymptomatisch beloop waardoor missclassificatie van de chlamydia status veel voorkomt. Definities van complicaties, vooral van PID, zijn lastig door onduidelijk diagnostische criteria. Een lange follow-up is nodig omdat complicaties van chlamydia vaak pas zichtbaar worden zodra vrouwen proberen zwanger te worden, meestal jaren na een infectie. Als laatste is een grote onderzoekspopulatie nodig i.v.m. het weinig voorkomen van buitenbaarmoederlijke zwangerschappen en onvruchtbaarheid (veroorzaakt door eileiderafwijkingen). Door deze uitdagingen, naast de algemene limitaties van cohort studies, heeft NECCST een 'NECCST best' studieopzet in het bepalen van het risico op chlamydia gerelateerde complicaties.

*Deel 1 Het risico op chlamydia gerelateerde lange termijn complicaties: Het opzetten van de Nederlandse Chlamydia Cohort Studie*

Het eerste deel van het proefschrift richt zich op het opzetten van het cohort en bijbehorende validatie studies om de validiteit en de betrouwbaarheid van de studie te verhogen. NECCST is een longitudinale cohort studie waarin vrouwen in de reproductieve leeftijd gevolgd worden die eerder hebben meegedaan aan de chlamydia screening implementatie (CSI) studie. Het doel van NECCST is het risico op late complicaties te schatten onder vrouwen met en zonder doorgemaakte chlamydia infectie. Ook de kans op zwangerschap (na een infectie) is geschat. Vervolgens is er gekeken naar factoren die geassocieerd zijn met het ontwikkelen van late complicaties. Met behulp van deze risicofactoren kunnen vrouwen met het hoogste risico op late complicaties geïdentificeerd worden. In **hoofdstuk 2** is het studie protocol van NECCST beschreven. Het onderzoek is gestart in 2015 en zal doorlopen tot 2022. Er is informatie verzameld over doorgemaakte chlamydia infecties, late complicaties, vruchtbaarheidsproblemen, zwangerschappen, maar ook demografische factoren, seksueel risicogedrag en gezondheidsdeterminanten. Om de validiteit te bepalen van onderdelen van de gebruikte methode zijn er twee validatiestudies uitgevoerd. **Hoofdstuk 3** beschrijft de validatie over het gebruik van thuis afgenomen vingerprikbloeddruppels waarin chlamydia antistoffen zijn bepaald. De validiteit was hoog tussen chlamydia immunoglobuline G (IgG) antistof concentraties in bloedmonsters met en zonder verwerkingsvertraging. Deze thuisafname methode van bloeddruppels introduceert een logistiek gemakkelijke en relatief goedkope methode om bloed te verzamelen in grote epidemiologische studies. **Hoofdstuk 4** beschrijft een pilot studie waarin het hergebruik van de eerder verzamelde CSI monsters (vaginale swabs en urine monsters) is getest om humaan DNA uit te isoleren. Daarnaast is in de geteste monsters getracht eerder gevonden associaties te herbevestigen tussen singlepolymorphisms (SNPs) in vier genen en chlamydia vatbaarheid en het verloop van chlamydia infecties. Specifiek ging het om de volgende SNPs: *TLR2* +2477 G>A, *NOD1* +32656 T->GG, *CXCR5* +10950 T>C, and *IL10* -1082 A>G. Humaan DNA bleek goed te isoleren uit de 'oude' verzamelde monsters. Het merendeel van de eerder gevonden associaties kon niet worden bevestigd. Deze studie laat daarmee het belang zien van bevestigingsstudies.

*Deel 2 De toegevoegde waarde van Chlamydia trachomatis serologie*

Het tweede deel van het proefschrift richt zich op het gebruik en de waarde van chlamydia serologie in enerzijds het identificeren van vrouwen die eerder geïnfecteerd zijn (geweest) met chlamydia en anderzijds in het identificeren van antistofpatronen die geassocieerd zijn met chlamydiopathologie. **Hoofdstuk 5** beschrijft de studie waarin de waarde van chlamydia serologie is bepaald als aanvulling op het gebruik van CSI-Nucleic Acid Amplification testen (NAAT) en zelf-gerapporteerde infecties voor het schatten van de chlamydia 'lifetime' prevalentie. Acht procent van vrouwen die eerder NAAT-negatief zijn getest, testten positief op chlamydia antistoffen waardoor de chlamydia lifetime prevalentie met zes procent werd verhoogd. Het combineren van chlamydia serologie, NAAT uitkomsten en zelf gerapporteerde chlamydia infecties reduceerde misclassificatie in chlamydia status. In **hoofdstuk 6** is beschreven hoe chlamydia 'whole proteome arrays' gebruikt zijn om te kijken naar associaties tussen antistofpatronen en infecties en antistoffen en chlamydia

complicaties in een subset van NECCST deelnemers. Serum groepen zijn geanalyseerd op whole-proteome arrays. De meest reactieve antigenen zijn vervolgens gebruikt in de 'minimized microarrays'. Om seronegatieve en seropositieve monsters te onderscheiden is er een panel van achttien antigenen gecreëerd dat uiteindelijk 96% van alle microarray positieve monsters kon identificeren. Door gebruik te maken van whole-proteome arrays om antigenen te selecteren voor de minimized arrays is het mogelijk om nieuwe informatieve antigenen te selecteren als infectie (-ziekte) markers. Het is zeer belangrijk om de minimized array, het panel van achttien antigenen en de potentieel aan chlamydia complicaties geassocieerde antigenen te valideren alvorens het te gebruiken in de (medische) praktijk.

Chlamydia serologie kan de chlamydia surveillance ondersteunen, het kan gebruikt worden bij de evaluatie van chlamydia control activiteiten en in de identificatie van het risico op chlamydia pathologie. De huidige (commercieel verkrijgbare) testen hebben een onvoldoende hoge sensitiviteit en specificiteit in het bepalen van de populatie prevalentie wat de toegevoegde waarde van chlamydia serologie voor dit doel verlaagt. Whole proteome testen kunnen gebruikt worden om potentiële relevante antigenen voor inclusie in testen te bepalen. Hiermee zou de specificiteit en sensitiviteit van testen verhoogd kunnen worden.

### *Deel 3 Lange termijn complicaties van chlamydia infecties en voorspellende factoren*

In **hoofdstuk 7 en 8** worden de studies beschreven waarin het risico en de risicofactoren zijn bepaald op een eileiderontsteking, buitenbaarmoederlijke zwangerschap, onvruchtbaarheid en (tijd tot) zwangerschap. Ongeveer dertig procent van alle 5704 vrouwen die geïncludeerd zijn in NECCST hebben ooit een chlamydia infectie doorgemaakt. Complicaties kwamen niet vaak voor en de incidenties van alle complicaties waren laag, tussen de 1,3 en 4,4 per 1000 persoonsjaren. De incidentie van een eileiderontsteking was wel twee keer zo hoog voor vrouwen die ooit t.o.v. vrouwen die nooit een chlamydia infectie hadden doorgemaakt. Onvruchtbaarheid, door eileiderafwijkingen, kwam zelfs vier keer zo vaak voor bij vrouwen die ooit een chlamydia infectie hebben doorgemaakt. Incidenties van buitenbaarmoederlijke zwangerschappen verschilden niet van elkaar. Onder vrouwen met en doorgemaakte chlamydia infectie was het hebben van symptomen tijdens een infectie geassocieerd met een verhoogd risico op een eileiderontsteking. Een jonge leeftijd bij de eerste chlamydia infectie (<20 jaar) was geassocieerd met een verhoogd risico op onvruchtbaarheid (door eileiderafwijkingen).

Vijftig procent van alle vrouwen in NECCST zijn ooit zwanger geweest. Hier was geen verschil in tussen vrouwen met en zonder doorgemaakte chlamydia infectie. Echter, onder vrouwen met een zwangerschapsintentie bleken vrouwen met een doorgemaakte chlamydia infectie significant minder vaak zwanger binnen twaalf maanden dan vrouwen zonder doorgemaakte infectie. Uit deze beider studies kan geconcludeerd worden dat een doorgemaakte chlamydia infectie geassocieerd is met een verhoogd risico op een eileiderontsteking, op onvruchtbaarheid (door eileiderafwijkingen) en op een verlengde tijd tot zwangerschap. Maar de incidentie van complicaties is laag en het uiteindelijke aantal vrouwen dat zwanger werd is niet verschillend tussen vrouwen

met en zonder doorgemaakte infectie.

In **hoofdstuk 9** volgt de algemene discussie over alle bovengenoemde studies en onderwerpen als ook de aanbevelingen op basis van dit proefschrift en huidige literatuur. NECCST borduurde voort op de eerder uitgevoerde CSI studie. Deze opzet zorgde voor een lange follow-up van deelnemers, relevante gegevens en een grote onderzoekspopulatie. Hierdoor was het mogelijk om het risico op lange termijn complicaties van een chlamydia infectie te kunnen schatten. Het risico op late complicaties was klein en zwangerschappen kwamen even vaak voor onder vrouwen met een zonder doorgemaakte infectie. Momenteel worden er in Nederland jaarlijks meer dan 60.000 chlamydia infecties gediagnosticeerd en behandeld zonder dat er bewijs is dat dit de prevalentie verlaagt of dat het complicaties voorkomt. Een shift in focus van preventie van chlamydia infecties naar preventie van chlamydia complicaties is een mogelijk effectievere manier van chlamydia bestrijding. Hiervoor is een tool nodig om vrouwen met een verhoogd risico op complicaties te kunnen onderscheiden van vrouwen met een laag risico. Het NECCST cohort zal worden vervolgd met als doel een prognostische tool te ontwikkelen op basis van o.a. genetische kenmerken en serologische markers (ZonMw grant gestart per 1 februari 2021). Totdat een dergelijke tool is ontwikkeld kan worden onderzocht of het mogelijk is om hoog risico groepen specifiek voor chlamydia complicaties te testen i.p.v. hoog risicogroepen voor een chlamydia infectie.