



Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) Arbeitsanleitung

BESTELL-NR.	ANTIKÖRPER GEGEN	IG-KLASSE	SUBSTRAT	FORMAT
EI 2060-9601 G	Tetanus-Toxoid	IgG	Ag-beschichtete Mikrotitergefäße	96 x 01 (96)

Indikation: Der vorliegende ELISA-Testsatz dient der quantitativen In-vitro-Bestimmung humaner Antikörper der Immunglobulinklasse IgG gegen Tetanus-Toxoid aus Serum oder Plasma zur Abklärung eines unklaren Immunstatus.

Stellenwert: Der Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) basiert auf inaktiviertem Tetanus-Toxin und dient der quantitativen Bestimmung von humanen IgG-Antikörpern gegen Tetanus-Toxoid in Serum oder Plasma. Dieser Test ist für die Bestimmung des Immunstatus sowie zur Impfkontrolle geeignet.

Testprinzip: Die Testpackung enthält Mikrotiterstreifen zu je 8 vereinzelbaren Reagenzgefäßen, die mit Tetanus-Toxoid beschichtet sind. Die Reagenzgefäße werden im ersten Analyseschritt mit verdünnten Patientenproben inkubiert. Bei positiven Proben binden sich spezifische Antikörper der Klasse IgG (und IgA, IgM) an die jeweiligen Antigene. Zur Darstellung dieser Antikörper inkubiert man in einem zweiten Schritt mit einem Enzym-markierten Anti-Human-IgG (Enzymkonjugat), das eine sich anschließende Farbreaktion katalysiert.

Inhalt einer Testpackung:

Bezeichnung	Farbe	Format	Symbol
1. Antigen-beschichtete Reagenzgefäße 12 Mikrotiterstreifen zu je 8 vereinzelbaren Reagenzgefäßen im Rahmen, gebrauchsfertig	---	12 x 8	<input type="checkbox"/> STRIPS
2. Kalibrator 1 5 IE/ml (IgG, human), gebrauchsfertig	In abnehmender Intensität rot gefärbt.	1 x 2,0 ml	<input type="checkbox"/> CAL 1
3. Kalibrator 2 2 IE/ml (IgG, human), gebrauchsfertig		1 x 2,0 ml	<input type="checkbox"/> CAL 2
4. Kalibrator 3 1 IE/ml (IgG, human), gebrauchsfertig		1 x 2,0 ml	<input type="checkbox"/> CAL 3
5. Kalibrator 4 0,1 IE/ml (IgG, human), gebrauchsfertig		1 x 2,0 ml	<input type="checkbox"/> CAL 4
6. Kalibrator 5 0,01 IE/ml (IgG, human), gebrauchsfertig		1 x 2,0 ml	<input type="checkbox"/> CAL 5
7. Positive Kontrolle (IgG, human), gebrauchsfertig	blau	1 x 2,0 ml	<input type="checkbox"/> POS CONTROL
8. Negative Kontrolle (IgG, human), gebrauchsfertig	grün	1 x 2,0 ml	<input type="checkbox"/> NEG CONTROL
9. Enzymkonjugat Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG (Kaninchen), gebrauchsfertig	grün	1 x 12 ml	<input type="checkbox"/> CONJUGATE
10. Probenpuffer , gebrauchsfertig	hellblau	1 x 100 ml	<input type="checkbox"/> SAMPLE BUFFER
11. Waschpuffer , 10-fach konzentriert	farblos	1 x 100 ml	<input type="checkbox"/> WASH BUFFER 10x
12. Chromogen/Substratlösung TMB/H ₂ O ₂ , gebrauchsfertig	farblos	1 x 12 ml	<input type="checkbox"/> SUBSTRATE
13. Stopplösung 0,5 M Schwefelsäure, gebrauchsfertig	farblos	1 x 12 ml	<input type="checkbox"/> STOP SOLUTION
14. Abdeckfolie	---	2 Stück	<input type="checkbox"/> FOIL
15. Arbeitsanleitung	---	1 Heft	
16. Qualitätskontrollzertifikat	---	1 Protokoll	
<input type="checkbox"/> LOT Chargen-Bezeichnung	CE		<input type="checkbox"/> Lagertemperatur
<input type="checkbox"/> ND In-vitro-Diagnostikum			<input type="checkbox"/> ungeöffnet verwendbar bis

Änderungen zur Vorversion sind grau unterlegt



Inkubation

(Teil-)Manuelle Testdurchführung

Proben-Inkubation: (1. Schritt)

Entsprechend dem Pipettierschema je 100 µl Kalibrator, Positiv- und Negativkontrolle oder verdünnte Patientenproben in die einzelnen Reagenzgefäße pipettieren.

Bei manueller Testdurchführung müssen die Reagenzgefäße mit der beiliegenden Folie abgedeckt werden. Bei automatischer Testdurchführung muss die individuelle Anleitung des Automatenherstellers beachtet werden.

60 Minuten bei **+37 °C ± 1 °C** inkubieren.

Waschen:

Manuell: Abdeckfolie entfernen. Reagenzgefäße entleeren und anschließend 3 x mit jeweils 300 µl gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer waschen.

Automatisch: Abdeckfolie entfernen. Reagenzgefäße 3 x mit je 450 µl gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer waschen (Programm-Einstellung: z. B. TECAN Columbus Washer „Overflow Modus“).

Den Waschpuffer in jedem Reagenzgefäß pro Waschzyklus 30-60 Sekunden einwirken lassen, anschließend absaugen oder ausschütten. Nach dem Waschvorgang sowohl bei manueller als auch automatischer Durchführung die Mikrotiterplatte mit den Öffnungen nach unten kräftig auf Vliespapier ausschlagen, um Waschpufferreste vollständig zu entfernen.

Achtung: Flüssigkeitsreste (>10 µl), die nach dem Waschvorgang in den Reagenzgefäßen verbleiben, können einen Einfluss auf die Substratumsatzung haben und zu falsch erniedrigten Extinktionswerten führen.

Unzureichendes Waschen (z. B. weniger als 3 Waschzyklen, zu geringe Waschpuffervolumina oder zu geringe Einwirkzeiten) kann zu falsch erhöhten Extinktionswerten führen.

Freie Positionen innerhalb des Mikrotiterstreifens sind mit leeren Reagenzgefäßen desselben Plattenformates wie das des zu untersuchenden Parameters aufzufüllen.

Konjugat-Inkubation: (2. Schritt)

Jeweils 100 µl Enzymkonjugat (Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG) in die Reagenzgefäße pipettieren. **30 Minuten** bei Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) inkubieren.

Waschen:

Reagenzgefäße entleeren. Waschen wie oben.

Substrat-Inkubation: (3. Schritt)

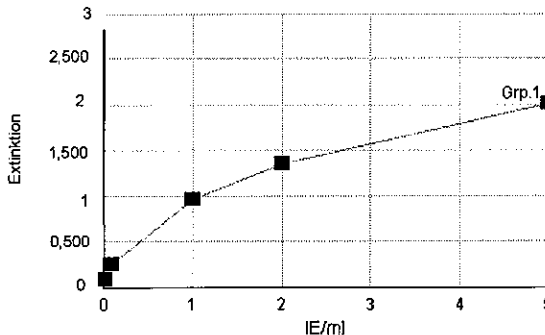
Jeweils 100 µl Chromogen/Substratlösung in die Reagenzgefäße pipettieren. **15 Minuten** bei Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) inkubieren (vor direkter Sonneneinstrahlung schützen).

Stoppen:

Jeweils 100 µl Stopplösung in die Reagenzgefäße pipettieren, in der gleichen Reihenfolge und mit der gleichen Geschwindigkeit wie bei der Zugabe der Chromogen/Substratlösung.

Messen:

Die **photometrische Auswertung** der Farbintensität sollte **Innerhalb von 30 Minuten nach dem Stoppen** erfolgen, bei **450 nm Messwellenlänge** und einer Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm. Vor dem Messen die Mikrotiterplatte vorsichtig schütteln, um eine homogene Verteilung der Farblösung zu gewährleisten.



Liegt die Extinktion einer Patientenprobe oberhalb des Kalibrators 1 (5 IE/ml), ist das Ergebnis mit „>5 IE/ml“ anzugeben. Es empfiehlt sich, diese Probe in einem neuen Testansatz mit einer Verdünnung von z. B. 1:400 wiederholt zu messen. Das aus der Standardkurve ermittelte Ergebnis in IE/ml muss entsprechend diesem Beispiel dann noch mit dem Verdünnungsfaktor 4 multipliziert werden.

Interpretation der Testergebnisse

In Anlehnung an Literaturstellen [4,8,9,13] wird folgende Beurteilung der Testergebnisse empfohlen:

<0,1 IE/ml	Immunschutz nicht ausreichend, Auffrischimpfung wird empfohlen
0,1 – 0,5 IE/ml	Immunschutz vorhanden, Auffrischimpfung verleiht langfristigen Impfschutz
>0,5 – 1,1 IE/ml	Immunschutz ausreichend, Auffrischimpfung in 2 bis 5 Jahren
>1,1 – 5,0 IE/ml	Immunschutz ausreichend, Auffrischimpfung in 5 bis 10 Jahren
>5,0 IE/ml	Immunschutz ausreichend, Auffrischimpfung in ca. 10 Jahren

Für die Interpretation der Antikörpererlöser sollten länderspezifische Empfehlungen berücksichtigt werden.

Bei Doppelbestimmungen ist der Mittelwert für die Berechnung zu verwenden. Weichen die Ergebnisse einer Doppelbestimmung erheblich voneinander ab, empfiehlt EUROIMMUN, die Probe erneut zu messen.

Für die Diagnose ist neben dem serologischen Befund auch immer die Impfanamnese des Patienten zu beachten.

Test-Charakteristika

Kalibrierung: Der Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) wurde mit der ersten internationalen Standardpräparation TE-3 der WHO kalibriert (1st International Standard for Tetanus Immunoglobulin, Human NIBSC Code TE-3).

Bei jedem Testansatz müssen die Extinktionswerte der Kalibratoren sowie die internationalen Einheiten der positiven und negativen Kontrolle innerhalb der für jede Charge angegebenen Toleranzen liegen. Ein Qualitätskontrollzertifikat mit den entsprechenden Daten ist beigelegt. Wenn diese Anforderungen an die Kontrollen nicht erfüllt sind, können die Testergebnisse ungenau sein, und der Test sollte wiederholt werden.

Das Bindungsverhalten der Antikörper sowie die Aktivität des eingesetzten Enzyms hängen von der Temperatur ab. Es empfiehlt sich daher, für alle drei Inkubationsschritte einen Thermostaten einzusetzen. Je höher die Umgebungstemperatur bei den Inkubationen, desto höher werden die Extinktionswerte. Entsprechende Variationen gelten auch für die Inkubationszeiten. Die Kalibratoren sind aber den gleichen Einflüssen unterworfen, sodass sich diese Variationen bei der Ergebnisberechnung weitgehend aufheben.



Antigen: Die Reagenzgefäße wurden mit einem inaktivierten Tetanus-Toxin beschichtet.

Linearität: Zur Bestimmung der Linearität des Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) wurden mindestens 4 serielle Verdünnungen verschiedener Patientenproben durchgeführt. Der Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) ist mindestens im untersuchten Konzentrationsbereich (0,01 IE/ml bis 4,2 IE/ml) linear.

Nachweisempfindlichkeit: Die untere Nachweisgrenze ist definiert als der Mittelwert einer analytischen Probe plus der dreifachen Standardabweichung und gibt den geringsten eindeutig erfassbaren Antikörpertiter an. Die untere Nachweisgrenze des Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) liegt bei 0,001 IE/ml.

Kreuzreaktivität: Die Qualität des verwendeten Antigens garantiert eine hohe Spezifität des ELISA. Seren von Patienten mit Infektionen verschiedener Erreger wurden mit dem Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) untersucht.

Antikörper gegen	n	Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) positiv
Adenovirus	12	0 %
Chlamydia pneumoniae	12	0 %
CMV	8	0 %
EBV-CA	12	0 %
Helicobacter pylori	9	0 %
HSV-1	12	0 %
Influenza A	12	0 %
Influenza B	12	0 %
Masernviren	12	0 %
Mumpsviren	12	0 %
Mycoplasma pneumoniae	12	0 %
Parainfluenza-Pool	12	0 %
Röteln	12	0 %
RSV	12	0 %
Toxoplasma gondii	11	0 %
VZV	12	0 %

Interferenzen: Hämolytische, lipämische und ikterische Proben ergaben bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml für Hämoglobin, von 20 mg/ml für Triglyceride und von 0,4 mg/ml für Bilirubin keine Interferenzen im vorliegenden ELISA.

Reproduzierbarkeit: Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten mit 3 Proben ermittelt. Den Intra-Assay-Variationskoeffizienten liegen jeweils 20 Bestimmungen, den Inter-Assay-Variationskoeffizienten jeweils 4 Bestimmungen in 6 verschiedenen Testansätzen zugrunde.

Probe	Mittelwert (IE/ml)	VK (%)
1	0,6	2,7
2	0,9	2,2
3	2,0	1,1

Probe	Mittelwert (IE/ml)	VK (%)
1	0,6	6,0
2	1,0	9,7
3	2,0	3,6



Sensitivität und Spezifität:

Studie I: 108 vorcharakterisierte Patientenproben (Herkunft: Europa; Referenzmethode: kommerziell erhältlicher ELISA eines anderen Herstellers) wurden mit dem EUROIMMUN Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) untersucht. Die Sensitivität betrug 98 %, bei einer Spezifität von 100 %.

n = 108		ELISA eines anderen Herstellers	
		positiv	negativ
EUROIMMUN Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG)	positiv	97	0
	negativ	2	9

Studie II: 54 klinisch vorcharakterisierte Patientenproben (INSTAND) wurden mit dem EUROIMMUN Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) untersucht. Die Sensitivität betrug 90 % bei einer Spezifität von 100 % (Cut-off 0,1 IE/ml).

n = 54		INSTAND	
		positiv	negativ
EUROIMMUN Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG)	positiv	45	0
	negativ	5	4

Klinische Bewertung:		n = 54	INSTAND	EUROIMMUN Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG)
< 0,1 IE/ml	Immunschütz nicht ausreichend; Auffrischimpfung wird empfohlen	4	4	9
≥ 0,1 - 0,5 IE/ml	Immunschütz vorhanden; Auffrischimpfung verleiht langfristigen Impfschutz	10	10	7
≥ 0,5 - 1,1 IE/ml	Immunschütz ausreichend; Auffrischimpfung in 2 bis 5 Jahren	9	9	8
≥ 1,1 - 5,0 IE/ml	Immunschütz ausreichend; Auffrischimpfung in 5 bis 10 Jahren	29	29	26
> 5,0 IE/ml	Immunschütz ausreichend; Auffrischimpfung in ca. 10 Jahren	2	2	4

Referenzbereich: Die Spiegel der Anti-Tetanus-Toxoid-Antikörper (IgG) wurden bei 500 gesunden Blutspendern mit diesem EUROIMMUN-ELISA ermittelt. Bei einem Cut-off von 0,1 IE/ml wiesen 97 % der Blutspender einen ausreichenden Impfschutz auf. Bei 3 % der Blutspender waren eine Auffrischimpfung oder eine Grundimmunisierung erforderlich.

Klinische Bedeutung

Der Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) dient dem Nachweis und der quantitativen Bestimmung von humanen IgG-Antikörpern gegen Tetanus-Toxoid in Serum oder Plasma. Der Tetanus-Erreger, Clostridium tetani (C. tetani), ist ein obligat anaerobes, bewegliches, grampositives, sporenbildendes Stäbchenbakterium der Gattung Clostridium in der Familie der Bacillaceae. Es wird in der Erde, in Tierkadavern, im Darminhalt und in den Fäzes von Pferden, seltener von Rindern und anderen Tieren gefunden. Die im Erdreich ubiquitär vorkommenden Sporen von C. tetani sind widerstandsfähig gegen Hitze und Desinfektionsmittel. Wenn sie nicht dem Sonnenlicht ausgesetzt sind, können sie in der Erde jahrelang überleben. Eine direkte Ansteckung von Mensch zu Mensch erfolgt nicht.



Die Vorbedingung für eine Infektion ist eine Verletzung. Dabei werden die Sporen von *C. tetani* durch Verunreinigungen oft zusammen mit Fremdkörpern, z. B. Holzsplittern, Nägeln, Dornen, unter die Haut gebracht. Die Wunden müssen nicht offen sein. Auch kaum sichtbare Bagatellverletzungen sind gefährlich. Die Umwandlung der Sporen in die vegetative Form von *C. tetani* findet in den Wunden statt. Optimale Wachstumsbedingungen bestehen bei etwa 37 °C in anaerober Atmosphäre.

C. tetani kann zwei Exotoxine bilden: Tetanolysin und Tetanospasmin. Das letztere, ein 150 kDa-Protein, ruft als Neurotoxin die typischen klinischen Symptome (leichte bis schwerste Muskelspasmen; generalisierte, neonatale oder lokale Form des Tetanus) hervor und wird in seiner pathogenen Wirkung nur noch vom Botulinustoxin übertroffen.

Tetanus ist weltweit verbreitet mit großen regionalen Unterschieden. In den Industriestaaten Europas und Nordamerikas ist die Tetanus-Inzidenz dank umfassender Impfungen sowie der verbesserten Lebensbedingungen niedrig. In Deutschland ist die Zahl der Erkrankungen von weit über 100 Fällen (vor 1970) auf heute wenige Fälle zurückgegangen, wobei nur tödlich verlaufene Erkrankungsfälle über die Todesursachenstatistik erfasst werden, und das auch nicht überall. In Asien und Afrika liegt die Inzidenz bei 10 bis 50 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner. Nach Schätzungen der WHO sterben weltweit jährlich über eine Million Menschen an Tetanus, insbesondere Säuglinge am Tetanus neonatorum über die Eintrittspforte Nabelschnur.

Die Inkubationszeit beträgt in der Regel 4 bis 14 Tage, mitunter 3 Tage bis 3 Wochen. Eine kürzere Inkubation (höhere Toxinmenge) hat eine ungünstigere Prognose.

Das hochpotente Tetanospasmin, das tonische Krämpfe auslöst, und das Tetanolysin, das eine hämolytische und möglicherweise auch eine kardiotoxische Wirkung besitzt, binden sich an die Rezeptorganglioside der Neuronen und wandern etwa 5 mm pro Stunde entlang der peripheren Nerven bis zum ZNS. Die Exotoxine wirken wie Strychnin hemmend auf die Tätigkeit der Vorderhornzellen in der Medulla spinalis und beseitigen die reziproke Innervation, sodass die ausgehenden Impulse eine übertriebene Reaktion verursachen.

Die generalisierte Form des Tetanus ist die häufigste. Sie beginnt meist afebril oder subfebril mit tonischen Spasmen der Skelettmuskulatur von Gesicht („Risus sardonicus“ mit Kieferklemme, Trismus), Pharynx (Dysphagie), Larynx und Rumpf (opistotone Körperhaltung). Durch gleichzeitige Spasmen der Flexoren und Extensoren können im Bereich der Wirbelsäule Frakturen entstehen. Das Bewusstsein bleibt erhalten. Respiratorische Komplikationen wie Obstruktion der Atemwege, Sekretstau, Pneumonien und Atelektasen, führen zur Ateminsuffizienz. Eine Beteiligung des sympathischen Nervensystems zeigt sich in Form von Blutdruckschwankungen, peripheren Durchblutungsstörungen und Schweißausbrüchen. Die Letalität liegt bei moderner Intensivtherapie zwischen 10 und 20 % und ist sonst erheblich höher. Todesursachen sind vor allem respiratorische Insuffizienz und kardiovaskuläre Komplikationen.

Die neonatale Form des Tetanus entwickelt sich bei Kindern, die von unzureichend immunisierten Müttern entbunden werden und bei denen eine hygienisch unzureichende Behandlung des Nabels erfolgte. Die Erkrankung tritt in der Regel in den ersten zwei Lebenswochen als generalisierte Form mit Rigidität, Trinkschwäche und Krämpfen auf.

Die lokale Form des Tetanus ist eine seltene Form, deren Manifestationen sich auf die Muskeln in der Umgebung der Eintrittspforte erstrecken. Diese Form entsteht meist bei einer Teilimmunität und hat eine gute Prognose.

Die Diagnose eines Tetanus wird aufgrund des typischen klinischen Befundes und der Labordiagnostik gestellt. Eine Erkrankung ist unwahrscheinlich, wenn eine vollständige Grundimmunisierung vorliegt und fristgemäße Auffrischungsimpfungen durchgeführt wurden. Zur Absicherung der Diagnose kann ein Toxinnachweis mittels Neutralisationstest im Tierversuch (Mäuseversuch) unter Verwendung von Wundmaterial oder Serum des Patienten durchgeführt werden. Der kulturelle Erregernachweis gelingt meist nicht. Zur Bestimmung des Tetanus-Antitoxin-Titers werden verschiedene Methoden wie RIA, FIA, ELISA oder Mikroneutralisationstests angeboten.

Das Verfahren der Wahl, das sich durch eine hohe Empfindlichkeit, einfache Durchführung sowie die Möglichkeit zur Automatisierung auszeichnet, ist der ELISA. Für die Diagnose der Infektion sowie für eine Prüfung auf ausreichende Mengen an schützenden Antikörpern (nach Impfung) steht der Anti-Tetanus-Toxoid-ELISA (IgG) zur Verfügung.



Da bei Auffrischungsimpfungen Reaktionen wie Polyneuritiden und tonische Muskelkrämpfe, auftreten können, ist es wichtig, vor der Applikation des Impfstoffs die Bestimmung des Anti-Tetanus-Toxoid-Titers durchzuführen, um eine Aussage über die Notwendigkeit dieser Maßnahme zu erhalten. Unabhängig davon empfiehlt die WHO die Impfung Schwangerer zwischen der 27. und 36. Schwangerschaftswoche gegen Tetanus (inklusive Diphtherie und Keuchhusten), um durch die Weitergabe der Antikörper auf den Fetus das Neugeborene bis zur ersten Tetanusimpfung ab dem 2. Lebensmonat vor einer *C. tetani*-Infektion zu schützen.

An therapeutischen Sofortmaßnahmen müssen im Fall einer gefährdenden Verletzung neben einer gründlichen chirurgischen Wundversorgung (Exzision) bei nicht oder nicht ausreichend Geimpften (letzte Impfung länger als fünf Jahre zurückliegend) zur Neutralisation von noch nicht gebundenem Toxin dem Patienten humanes Tetanus-Immunglobulin appliziert und gleichzeitig eine Tetanus-Immunprophylaxe durchgeführt werden. Die fehlenden Impfungen sind entsprechend den für die Grundimmunisierung geplanten Empfehlungen nachzuholen. Weiterhin ist die Einleitung einer umfassenden Intensivtherapie zur Erhaltung der vitalen Funktionen und der Relaxierung der Muskulatur unumgänglich. Das Freihalten der Atemwege (notfalls Tracheotomie und künstliche Beatmung) ist oft lebensrettend.

Zur Prophylaxe des Tetanus ist die aktive Immunisierung die Methode der Wahl. Als Vakzine wird ein Tetanus-Toxoid-Adsorbat-Impfstoff verwendet, der sich durch gute Verträglichkeit auszeichnet. Entsprechend den Impfeempfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut sollte bei allen Säuglingen nach Vollendung des 2. Lebensmonats eine aktive Immunisierung (in Kombination mit anderen Impfstoffen) begonnen und dann gemäß Impfkalender vervollständigt werden. Weiterhin ist eine Impfung bei allen Personen mit fehlender oder unvollständiger Grundimmunisierung indiziert oder wenn die letzte Impfung der Grundimmunisierung oder die letzte Auffrischungsimpfung länger als 10 Jahre zurückliegt.

Besonders wichtig ist ein Impfschutz für ältere Menschen, vor allem dann, wenn sie unter Durchblutungsstörungen, Diabetes mellitus und Erkrankungen der Hautoberfläche, z. B. Ulcus cruris oder einem offenen Ekzem, leiden.

Literaturliste

1. Ahluwalia IB, Ding H, D'Angelo D, Shealy KH, Singleton JA, Liang J, Rosenberg KD; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Tetanus, diphtheria, pertussis vaccination coverage before, during, and after pregnancy – 16 States and New York City, 2011.** MMWR Morb Mortal Wkly Rep 64 (2015) 522-526.
2. Brook I. **Current concepts in the management of Clostridium tetani infection.** Expert Rev Anti Infect Ther 6 (2008) 327-336.
3. Fowkes FJ, McGready R, Johnstone-Robertson S, Nosten F, Beeson JG. **Antibody boosting and longevity following tetanus immunization during pregnancy.** Clin Infect Dis 55 (2013) 749-750.
4. ~~Kuhlmann WD. **Tetanus. Impfung, Impftiter und Impfreaktion**. Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Koblenz. (1991)~~
5. Lassi ZS, Mansoor T, Salam RA, Das JK, Bhutta ZA. **Essential pre-pregnancy and pregnancy interventions for improved maternal, newborn and child health.** Reprod Health 11 (2014) 1-19. Epub 2014 Aug 21.
6. McCormack PL. **Reduced-antigen, combined diphtheria, tetanus and acellular pertussis vaccine, adsorbed (Boostrix®): a review of its properties and use as a single-dose booster immunization.** Drugs 72 (2012) 1765-1791.
7. McVicar J. **Should We test for tetanus immunity in all emergency department patients with wounds.** Emerg Med J 30 (2013) 177-189.
8. ~~Müller HE, Müller M, Schick W. **Tetanus-Schutzimpfung-Indikation und Kontraindikation**. Dtsch. med. Wschr. 113 (1988) 1326-8.~~



9. Pietsch M. **Indikationsbeispiele für die Tetanus-Antikörper-Bestimmung.** Fortschritte der Diagnostik 1 (1991) 30-1.
10. RKI. **Tetanus: Zwei Fallberichte zu Erkrankungen.** Epidemiologisches Bulletin 24 (2008).
11. Orsi GB, Modini C, Principe MA, Di Muzio M, Moriconi A, Amato MG, Calderale SM. **Assessment of tetanus immunity status by tetanus quick stick and anamnesis: a prospective double blind study.** Ann Ig 27 (2015) 467-474.
12. Schlumberger M, Yvonne B, Que HV, Chhem DB, Saliou P, Le Tu TC, Glaziou P. **Serological study carried out in Cambodia during a tetanus vaccination in adults.** [Article in French] Bull Soc Pathol Exot 101 (2008) 36-42.
13. Schröder JP, Kuhlmann WD. **Tetanusimmunität bei Männern und Frauen in der Bundesrepublik Deutschland.** Immun Infekt 19 (1991) 14-7.
14. Shohat T, Marva E, Sivan Y, Lerman I, Mates A, Cohen A. **Immunologic response to a single dose of tetanus toxoid in older people.** J Am Geriatr Soc 48 (2000) 949-951.
15. EUROIMMUN AG. Stöcker W, Schlumberger W, Krüger C. Alle Beiträge zum Thema Autoimmundiagnostik und Labordiagnostik der Infektionskrankheiten. In: Gressner A, Arndt T (Hrsg.) **Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik.** 2. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg (2012).

