

Tetanusimmunität bei Männern und Frauen in der Bundesrepublik Deutschland

J. P. Schröder, W. D. Kuhlmann

Fachbereich Immunologie, Ernst-Rodenwaldt-Institut Koblenz, Bundesrepublik Deutschland

Immun. Infekt. 19, 14-17, 1991

Zusammenfassung

Tetanus-Antitoxin wurde unter Verwendung eines Festphasen-Enzymimmunoassays im Serum von 4187 Männern und 408 Frauen im Alter zwischen 19 und 90 Jahren gemessen. Unter der Annahme einer protektiven Schutzwelle von 0,1 IE/ml Antitoxin-Antikörpern ließ sich bei 96% aller Männer und bei 71% aller Frauen ein ausreichender Impfschutz feststellen. Bei den jüngeren Probanden beiderlei Geschlechts war die Tetanusimmunität günstiger ausgeprägt als bei den älteren Personen. In den Proben von Männern und Frauen zwischen dem 60. und dem 70. Lebensjahr wurde ein rapider Verlust des Impfschutzes verzeichnet. Die Notwendigkeit einer Auffrischimpfung läßt sich durch die quantitative Messung von Tetanus-Antitoxin leicht objektivieren. Die serologische Überprüfung des Impfstatus ist auch in unklaren Fällen angezeigt, um Hyperimmunreaktionen bei ausreichend immunisierten Personen zu vermeiden. Die verwendete Methode zur Antikörperbestimmung ist im Routinelabor einfach durchzuführen.

Schlüsselwörter: Tetanus, Tetanusimmunität, Tetanus-Antitoxin, ELISA

Einleitung

Die Inzidenz der durch hohe Letalität gekennzeichneten Tetanuserkrankung konnte in zahlreichen Ländern dank der ständig verbesserten Hygieneverhältnisse und insbesondere durch breit angelegte Impfmaßnahmen gesenkt werden. Nach Angaben der WHO ist Tetanus vor allem in unterentwickelten Ländern noch immer weit verbreitet, woran jährlich ca. 400000 bis 800000 Menschen sterben (24). In der Bundesrepublik Deutschland werden ungefähr 15 Fälle pro Jahr registriert (9). Diese niedrige Zahl ist wohl nicht zuletzt zurückzuführen auf die hohe Durchimpfungsrate der Bevölkerung. Untersuchungen an kleinen Kollektiven und ausgesuchten Probanden weisen dennoch auf Lücken der Tetanusimmunität bei meist älteren und besonders bei weiblichen Bundesbürgern hin (4,12). Gemessen an der Häufigkeit von Komplikationen ist das Impfrisiko sehr gering (1). Anlässlich von Wiederimpfungen kann die Verwendung des Tetanus-Adsorbat-Impfstoffes gelegentlich zu lokalen Reaktionen wie Rötung, Schwellung, Schmerz und Fieber führen (21). Vereinzelt Fälle sind jedoch auch beschrieben, in denen eine demyelinisierende Form von Polyneuritis (7), schwere tonische Muskelkrämpfe (17) sowie Todesfälle (18) aufgetreten sind. Die unterschiedliche Ansprechbarkeit des individuellen Immunsystems auf den Impfstoff sowie die nicht voraussehbare Reaktionsweise des Impflings lassen einerseits eine genaue Dokumentation der Impfzeitpunkte und andererseits eine strengere Indikation zur Auf-

frischimpfung als bisher üblich ratsam erscheinen. Dabei kann die Höhe des Tetanus-Antitoxin-Titers, meßbar in IE/ml Serum, als Entscheidungshilfe dienen.

In dieser Arbeit legen wir unsere Untersuchungen über die Tetanusimmunität bei Männern und Frauen im Alter zwischen 19 und 90 Jahren vor. Die Verwendung eines Enzymimmunoassays (15) erlaubte die quantitative Bestimmung von protektivem Tetanus-Antitoxin. Dieses Nachweisverfahren ist gleichzeitig geeignet, die Indikation zur Revakzination zu objektivieren sowie Impfungen ohne Kenntnis der Serum-Antitoxin-Konzentration und damit verbundene mögliche Komplikationen zu vermeiden.

Probanden und Methoden

Die Bestimmung von spezifischen Tetanus-Antitoxin-Titern erfolgte bei 4187 Männern und 408 Frauen im Alter zwischen 19 und 90 Jahren. Die Serumproben stammten von Personen aus dem gesamten Bundesgebiet, die sich im Rahmen einer ambulanten oder stationären Behandlung in den verschiedenen Bundeswehrkrankenhäusern aufhielten. Männer bis zu 40 Jahren waren in der Mehrzahl Angehörige der Deutschen Bundeswehr. Proben von älteren männlichen Probanden stammten vor allem von zivilen Personen. Bei den Frauen handelte es sich ausschließlich um Nichtangehörige der Bundeswehr. Alle Probanden wurden in Altersstufen von Fünf- und Zehn-Jahresschritten unterteilt. Für die quantitative Messung der Tetanus-Antitoxin-Titer kam ein heterogener Festphasen-Enzymimmunoassay (ELISA) in Polystyrol-Mikrotiterplatten zur Anwendung (15) und umfaßte folgende Schritte:

1. Beschichtung der Platten mit in Karbonatpuffer verdünntem Tetanus-Toxoid (Stammlösung 1000 Lf/ml, 1510 Lf/mg N, 4,20 g Eiweiß/l; Behringwerke, Marburg).
2. Blockierung freier Bindungsstellen mit Rinderserumalbumin in Phosphatpuffer.
3. Inkubation mit Standards (Kalibrierlösung Tetagam, 290 IE/ml, ermittelt im Toxinneutralisationstest in der Maus anhand einer Standardzubereitung und unter Verwendung der L+/10-Dosis gemäß DAB 1986; Behringwerke, Marburg), Kontroll- und Probandensera (Routineverdünnung 1:100 und 1:1000), alle Vorverdünnungen in Rinderserumalbumin/Phosphatpuffer.
4. Markierung der Antigen-Antikörper-Komplexe mit alkalische-Phosphatase-konjugierten Anti-Human-IgG-Antikörpern (Dianova, Hamburg) und p-Nitrophenylphosphat als Enzymsubstrat.

Zwischen den Inkubationsschritten wurden die Platten in 0,05% Tween 20 in Phosphatpuffer gewaschen.

Alle Tests wurden in Doppelbestimmungen durchgeführt. Die photometrische Auswertung der Platten und die Berechnung der Antikörperkonzentrationen erfolgte bei 405 nm in einem rechnergestützten Titertek-Multiscan-MCC-ELISA-Reader der Fa. Flow (Meckenheim) auf der Basis der linearen Regression. In der Routine verwendeten wir Verdünnungen, die einen Meßbereich von 0,01 bis 6,3 IE/ml abdeckten. Die gemessenen Antikörperkonzentrationen wurden Titerbereichen (Tab. I) zugeordnet, die wir auch für die Wertung des Impfstatus von Soldaten der Bundeswehr verwenden (15). Die Einteilung in bestimmte Titerbereiche basiert auf praktischen und theoretischen Erwägungen. In der Literatur wird zwar eine tragfähige Immunität mit 0,01 IE/ml angegeben (4, 22), es konnte aber in klinischen Fallstudien gezeigt werden, daß dieser als protektiv geltende Antitoxin-Titer nicht immer ausreichend (10) ist und somit ein höherer Schutztiter angestrebt werden sollte. Aus Sicherheitsgründen wurde ein zehnfach höherer Wert

als der international festgelegte Mindesttiter für eine Tetanusprophylaxe empfohlen (9). Der »wahre« Schutzspiegel beim Menschen ist aber nicht genau bekannt, da alle diesbezüglichen Untersuchungen auf Ergebnissen von Tierversuchen beruhen. Darüber hinaus sind im Falle einer Tetanusinfektion Unterschiede des individuellen immunologischen Abwehrverhaltens zu erwarten.

Tab. I Empfehlungen zur Bewertung von Tetanus-Antitoxin-Konzentrationen im Serum

Tetanus-Antitoxin Titerbereich IE/ml	Bewertung des Impfschutzes
<0,03	kein Impfschutz vorhanden, Durchführung der Grundimmunisierung indiziert
0,03–0,1	Impfschutz nicht sicher gewährleistet, Auffrischimpfung empfohlen, Titerkontrolle in 4 Wochen
0,1–0,5	Impfschutz vorhanden, Auffrischimpfung empfohlen, Titerkontrolle in 4 Wochen
0,6–1,0	ausreichender Impfschutz, Kontrolle in 2 Jahren
1,1–5,0	langfristiger Impfschutz, Kontrolle in 5–10 Jahren
>5,0	langfristiger Impfschutz, Kontrolle in 10 Jahren

Tab. II Anzahl und prozentuale Verteilung der Probanden auf die Tetanus-Antitoxin-Titerstufen

Probanden	Titerbereiche					
	<0,01	0,01–0,1	0,1–0,5	0,6–1,0	1,1–6,3	>6,3
Männer (n = 4187)	96	63	310	304	2158	1256
Anteil (%)	2,3	1,5	7,4	7,3	51,5	29,9
Frauen (n = 408)	90	30	92	43	124	29
Anteil (%)	22,1	7,3	22,5	10,5	30,4	7,1

Ergebnisse

ELISA-Testsystem

Der verwendete Festphasen-Assay erwies sich bei guter Präzision auch für die Analyse hoher Probenzahlen (z.B. 150-200 Sera pro Tag) als leicht und sicher durchführbar. Die ermittelten Variationskoeffizienten (VK) der Intra- und Interassay-Varianz betragen $VK = 5,4\%$ bzw. $VK = 12,7\%$. Auf der Grundlage der Auswertung von Referenzstandards wurde die Beziehung zwischen Extinktion und jeweiliger Tetanus-Antitoxinmenge durch lineare Regression bestimmt und mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten überprüft. Dabei konnte ein Korrelationskoeffizient von 0,998 ermittelt werden.

Tetanusimmunität bei Männern und Frauen

Alle Ergebnisse sind in Tab. II-IV sowie in Abb. 1 und 2 dargestellt. Bei Berücksichtigung einer Schutzwelle von 0,1 IE/ml bezifferte sich der Anteil aller untersuchten Frauen ohne ausreichenden Tetanus-Impfschutz auf 29%. Im Vergleich hierzu stellten wir bei lediglich 4% aller untersuchten Männer einen mangelhaften Impfschutz fest.

Sowohl innerhalb einzelner Titerklassen als auch bei den verschiedenen Altersstufen lagen die Einzelwerte breit gestreut. Aus den Abbildungen läßt sich dennoch deutlich ableiten, daß bei jüngeren Probanden beiderlei Geschlechts eine höhere Immunität (ausgedrückt in spezifischen Antikörperkonzentrationen, IE/ml) bestand als bei den älteren Probanden. Zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr wird ein rapider Abfall des Impfschutzes bei Männern und Frauen gleichermaßen nachgewiesen.

Abb. 2 zeigt, daß Frauen aller Altersstufen prozentual häufiger einen fehlenden Tetanus-Impfschutz aufwiesen als Männer. Diese wiederum verfügten regelmäßig in einem höheren Prozentsatz als die Frauen über einen sehr guten Impfschutz (Titerbereiche zwischen 1,1 und >6,3 IE/ml). Erst zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr wird auch hier ein deutlicher Abfall des Impfschutzes meßbar.

Titerbereich	Altersgruppen, männliche Probanden										Gesamt
	19-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-60	61-70	71-80	81-90	
<0,03	46	5	4	2	1	1	8	12	14	3	96
0,03-0,1	38	6	1	1	1	1	2	4	7	2	63
0,1-0,5	200	23	10	5	7	22	23	9	7	4	310
0,6-1,0	205	22	9	9	12	21	19	5	1	1	304
1,1-6,3	1533	303	74	49	39	60	86	5	5	4	2158
>6,3	1058	126	25	7	15	16	8	-	1	-	1256
Summe	3080	485	123	73	75	121	146	35	35	14	4187

Titerbereich	Altersgruppen, weibliche Probanden										Gesamt
	19-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-60	61-70	71-80	81-90	
<0,03	5	3	3	7	15	7	10	14	16	10	90
0,03-0,1	2	1	3	1	3	5	2	6	5	2	30
0,1-0,5	8	9	6	9	6	11	21	13	8	1	92
0,6-1,0	19	7	4	1	2	1	3	2	3	1	43
1,1-6,3	28	29	15	10	10	13	7	6	4	2	124
>6,3	7	4	4	4	2	2	5	-	1	-	29
Summe	69	53	35	32	38	39	48	41	37	16	408

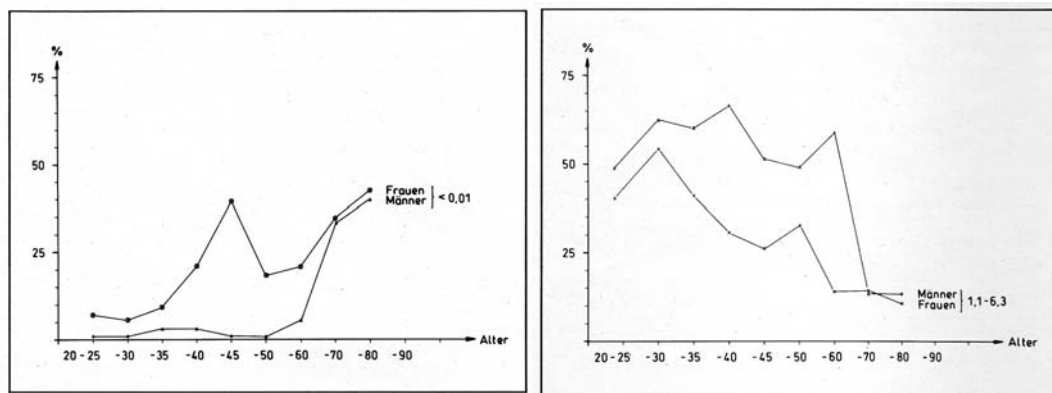


Abb. 1 (links) Fehlende Tetanusimmunität bei Männern und Frauen in Abhängigkeit vom Alter (Titerbereich <0,01 IE/ml)

Abb. 2. (rechts) Tetanus-Impfschutz (Titerbereiche 1,1 bis >6,3 IE/ml) bei Männern und Frauen in Abhängigkeit vom Alter

Diskussion

Die vorliegende Arbeit ist ein Beitrag zur Untersuchung über die Tetanusimmunität der erwachsenen Bevölkerung in der Bundesrepublik Deutschland. Hierfür ist, wie auch für andere infektionsserologische Bestimmungen, der quantitative Enzymimmunoassay in der Version eines heterogenen Festphasen-ELISA aufgrund seiner einfachen Durchführbarkeit und hohen Nachweisempfindlichkeit die Methode der Wahl (1, 2, 5, 8, 16,19). Die ELISA-

Technik erlaubt insbesondere bei Verwendung einer standardisierten Kalibrierung die Vergleichbarkeit von Ergebnissen unterschiedlichen Ursprungs, die bei anderen In-vitro-Verfahren wie Hämagglutination oder Gegenstromelektrophorese nicht zu erzielen ist.

Die bisher publizierten Untersuchungen über die Tetanusimmunität der deutschen Bevölkerung beziehen sich in der Regel auf kleine, begrenzte Kollektive oder auf umschriebene geographische Einzugsgebiete (9, 11, 22). Die Ergebnisse aus anderen Ländern, z.B. aus Finnland (20), können aufgrund unterschiedlicher Landesstrukturen und Impfverpflichtungen nicht übernommen werden. Die Erstellung eines Überblicks über den landesweiten Impfstatus erschien uns aus diesen Gründen daher notwendig.

Im Fall einer Tetanusinfektion resultiert der Schutz vor Erkrankung durch Vorhandensein von ausreichenden Mengen an Toxin neutralisierenden Antikörpern im Verhältnis zur gebildeten Toxinmenge. Aus Gründen fehlender experimenteller Daten kann nur vermutet werden, daß mit steigenden Antitoxintitern graduelle Abschwächungen der Verläufe von Tetanuserkrankungen auftreten. Der Spiegel neutralisierender Antikörper, der gewöhnlich als protektiv gilt, wird mit 0,01 IE/ml angegeben (4, 8, 22) und leitet sich aus Tierversuchen ab. Für eine verlässliche Aussage beim Menschen existieren keine experimentellen Daten. Klinische Fallstudien belegen jedoch, daß der minimal protektive Antitoxinspiegel von 0,01 IE/ml nicht ausreichend ist und vernünftigerweise eine mindestens 10 fach höhere Antikörperkonzentration anzustreben ist (6, 9, 10).

Auf der Grundlage eines angenommenen protektiven Antikörperspiegels von 0,1 IE/ml konnte bei 96% aller von uns untersuchten Männer und bei 71% aller Frauen eine ausreichende Tetanusimmunität festgestellt werden. Es ließ sich bestätigen, daß bei Frauen regelmäßig ein im Vergleich zu den Männern niedrigerer Tetanus-Antitoxinspiegel vorlag (4, 6, 24). Eine gegenteilige Beobachtung an einem allerdings sehr kleinen Kollektiv läßt sich nicht einordnen (11). Untersuchungen außerhalb der Bundesrepublik können aufgrund landestypischer Unterschiede nicht in eine nähere Bewertung einbezogen werden. So wurden beispielsweise aus Finnland keine signifikanten Unterschiede in der Tetanusimmunität bei Männern und Frauen berichtet (20).

Ein wichtiger Grund für die höhere Tetanusimmunität bei Männern in der Bundesrepublik liegt in der allgemeinen Wehrpflicht und der damit verbundenen Impfpflicht gegen Tetanus. Dabei wird weitestgehend lückenlos und wiederholt geimpft mit der Folge sehr hoher Impftiter. Bei der Austitrierung der Sera ergeben sich häufig Werte zwischen 60 und 100 IE/ml, nicht selten werden aber auch Konzentrationen von über 100 IE/ml gemessen. Nach unseren Erfahrungen kann somit bei entlassenen Wehrpflichtigen und Zeitsoldaten mit einem Schutz vor Tetanus für einen Zeitraum von mehr als 10 Jahren gerechnet werden.

Der Anteil der nicht bzw. nicht mehr gegen Tetanus geschützten Personen steigt mit Erreichen des Alters von 60 Jahren, und zwischen 60 und 70 Jahren wird dann ein rapider Verlust des Impfschutzes sowohl bei Männern als auch bei Frauen auffällig.

Die vorliegende Untersuchung unterstreicht, daß die zuvor genannte Altersgruppe besonders gefährdet ist und eine Kontrolle des Tetanus-Impfschutzes empfohlen werden muß. Die einfache Durchführung der Titerbestimmung mit dem quantitativen ELISA ist geeignet, Risikogruppen schnell und sicher zu erfassen (13, 14). Die Kenntnis des individuellen Impftiters ist als allgemeine Grundlage für eine Bewertung geeignet, ob Impfung oder Auffrischimpfung angezeigt sind. Impfungen ohne Kenntnis des quantitativen Impfstatus und ohne vorliegende Impfdokumentation bergen in hohem Maß das Risiko von Impfkomplicationen (9).

Zusammenhänge zwischen spezifischer Antikörperkonzentration und dem Ausmaß einer möglichen Impfreaktion im Bereich der Applikationsstelle sind bekannt (1). Bei wiederholten Impfungen lassen sich Nebenwirkungen als Hyperimmunreaktion deuten. Dabei sind sowohl Reaktionen vom allergisch-hyperergischen Typ als auch Reaktionen vom verzögerten Typ nicht auszuschließen (23). Es wurde berichtet, daß es in ca. 30% der Fälle zu einem Arthus-Phänomen kommt und sich auf dem Boden einer hämorrhagischen Vaskulitis Nekrosen entwickeln können (3).

Zusammenfassend ist der quantitative ELISA ein spezifisches und sensitives Verfahren für die Erfassung und Beurteilung des Tetanus-Impfschutzes. Frauen weisen einen durchschnittlich geringeren Impftiter auf als Männer. Lücken in der Tetanusimmunität werden insbesondere bei Frauen und auch bei Personen beiderlei Geschlechts im Alter ab 60 Jahren festgestellt. Die Messung der individuellen Antikörperkonzentration bietet sich in allen Fällen von ungenauer Impfanamnese bzw. unbekanntem Impfstatus an. Auf diese Weise lassen sich Impfkomplicationen minimieren.

Literatur

1. Ambrosch, F., Wiedermann, G., Müller, H.: Eine neue Mikro-ELISA-Methode zur Bestimmung der Tetanus-Antikörper. Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. (A) 258,173 (1984)
2. Chandler, H.M., Healey, K., Premier, R.R., Hurrell, J.G.R.: A new rapid semi-quantitative enzyme immunoassay suitable for determining immunity to tetanus. J. Infect. 8,137 (1984)
3. Facktor, M.A., Bernstein, R.A., Fireman, P.: Hypersensitivity to tetanus toxoid. J. Allergy Clin. Immunol. 52,1 (1973)
4. Finger, H., Habermann, E., Bracharz, K., Hof, H.: Tetanus-Immunität im Senium. Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. (B) 161,188 (1975)
5. Frühwein, N., Hochstein-Mintzel, V.: Bestimmung von Tetanus-Antikörpern im menschlichen Serum mit dem ELISA-Test (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay). Ärztl. Lab. 26,271 (1980)
6. German-Fattal, M., Bizzini, B., German, A.: Immunity to tetanus: tetanus antitoxin and anti-BIIb in human sera. J. Biol. Stand. 15,223 (1987)
7. Grond, M., Gibbels, E., Schaedlich, H.J., Haupt, W.F.: Polyneuropathien nach Gabe von Tetanustoxoid. Nervenarzt 5, 309 (1988)
8. Melville-Smith, M.E., Seagroatt, V.A., Watkins, J.T.: A comparison of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the toxin neutralization test in mice as a method for the estimation of tetanus antitoxin in human sera. J. Biol. Stand. 11, 137 (1983)
9. Müller, H.E., Müller, M., Schiek, W.: Tetanus-Schutzimpfung. Indikation und Kontraindikation. DMW 113,1326 (1988)
10. Passen, E.L., Andersen, B.R.: Clinical tetanus despite a »protective« level of toxin-neutralizing antibody. JAMA 255,1171 (1986)
11. Pietsch, M.: Tetanus-Antikörperbestimmung bei ausgesuchten Patienten des Impfzentrums Mainz. Ärztebl. Rheinland-Pfalz 43,12 (1990)
12. Pietsch, M., Geißler, E., Pietsch, R., Borneff, J.: Tetanuserkrankung. Klinik und Impfprophylaxe. Ärztebl. Rheinland Pfalz 41,579 (1988)
13. Ruben, F.L., Nagel, J., Fireman, P.: Antitoxin responses in the elderly to tetanus-diphtheria (TD) immunization. Am. J. Epidemiol. 108,145 (1978)

14. Scher, K.S., Baldera, A., Wheeler, W.E., Walker, R., Jones, C.W.: Inadequate tetanus protection among the rural elderly. *South. Med. J.* 78, 153(1985)
15. Schröder, J.P., Kuhlmann, W.D.: Serologische Bestimmung von Tetanus-Antitoxin mit einem Enzymimmunoassay zur Beurteilung der Tetanusimmunität bei Soldaten der Bundeswehr. *Wehrmed. Wschr.* 34,222 (1990)
16. Sedgwick, A.K., Ballou, M., Sparks, K., Tilton, R.C.: Rapid quantitative microenzyme-linked immunosorbent assay for tetanus antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 18,104 (1983)
17. Sitzman, F.C.: Tetanus. Klinisches Bild und Schutzimpfung. *Dtsch. Arzt* 5,18 (1986)
18. Staak, M., Wirth, E.: Zur Problematik anaphylaktischer Reaktionen nach aktiver Tetanus-Immunisierung. *DMW* 98,110 (1973)
19. Stiffler-Rosenberg, G., Fey, H.: Messung von Tetanus-Antitoxin mit dem Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Schweiz. Med. Wschr.* 107,1101 (1977)
20. Viljanen, M.K., Nieminen, S.: Immunity to tetanus in Finland. *Scand. J. Infect. Dis.* 12, 211 (1980)
21. Wegmann, A., Heiz, R.: Lokale Reaktionen nach wiederholten Tetanusimpfungen. *Schweiz. Med. Wschr.* 38,1409 (1979)
22. Werner, G.T., Berdel, W.E., Frühwein, N., Ulm, K.: Untersuchungen zur Tetanusimmunität der Münchener Bevölkerung. *MMW* 129,157 (1987)
23. White, W.G., Barnes, G.M., Barker, E., et al.: Reactions to tetanus toxoid. *J. Hyg. (Lond.)* 71, 283 (1973)
24. WHO: Expanded programme on immunization - tetanus control. *Weekly Epidemiol. Rec.* 50, 380 (1987)