

# Impfpraxis und Seroprotektion gegenüber Tetanus bei Pferden in Mitteldeutschland

Stephan Recknagel<sup>1</sup>, Alice Snyder<sup>1</sup>, Benjamin Brüser<sup>2</sup> und Gerald Fritz Schusser<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig

<sup>2</sup> Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie, Bad Langensalza

**Zusammenfassung:** Trotz der Verfügbarkeit potenter Tetanusimpfstoffe sind dramatisch verlaufende Tetanusinfektionen noch immer im Alltag des Pferdepraktikers präsent. Dies gab Anlass verschiedene Impfstrategien und die daraus resultierende humorale Immunitätslage zu überprüfen. Es standen 91 Serumproben von Pferden mit glaubhafter Impfanamnese zur Verfügung, welche mittels Doppelantigen-ELISA (DAE) untersucht wurden. Die Seroprävalenz protektiver Tetanustoxoidantikörperkonzentrationen (TTAK) von  $\geq 0,1$  IE/ml betrug 92,3%. 89% der Pferde waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme ihrem jeweiligen Alter entsprechend gemäß der „Leitlinie zur Impfung von Pferden“, herausgegeben von der Ständigen Impfkommission des Bundesverbandes Praktizierender Tierärzte (bpt), immunisiert. In fünf Fällen hatten diese Tiere jedoch keinen ausreichenden Impfschutz. Hierzu zählten ein fünf Monate altes Fohlen, bei welchem die maternalen Antikörper bereits unter die Schutzgrenze abgefallen waren und zwei juvenile Pferde, welche die dritte Vakzination der Grundimmunisierung (GI) noch nicht erhalten hatten. Abweichungen von der Impfpflicht bestanden ausschließlich in Form verlängerter Abstände der Wiederholungsimpfungen von drei bis zu acht Jahren, wobei diese Tiere jedoch protektive TTAK aufwiesen. Unter alleiniger Betrachtung des Patientenalters wiesen alle Pferde über 20 Jahre ( $n = 12$ ) TTAK weit oberhalb der Schutzgrenze auf. Hinsichtlich der Anwendung unterschiedlicher Boosterintervalle unterschieden sich die TTAK nicht signifikant ( $p = 0,117$ ). Der zeitliche Abstand zwischen letzter Tetanusimpfung und Probenentnahme ließ keine Prognose über die zu erwartenden TTAK zu. Selbst Pferde mit einheitlichem Impfbestand reagierten sehr heterogen. Entgegen der Meinung eine bessere Immunantwort sei effektiver, je weniger Komponenten zeitgleich geimpft werden, unterschieden sich die TTAK nach Impfung mit monovalenten Vakzinen nicht signifikant von denen nach Durchführung einer Kombinationsimpfung ( $p = 0,63$ ). Basierend auf diesen Ergebnissen und experimentellen Daten aus Vakzinationsversuchen empfehlen wir zur Vermeidung fehlerhafter Immunisierungen vor der Erstvakzination eine Bestimmung der TTAK mit Vollendung des fünften Lebensmonats, welche zuverlässig und schnell mittels eines Streifenfestes vor Ort vorgenommen werden kann. Im zweijährlichen Intervall vorgenommene Wiederholungsimpfungen sind nicht besser protektiv. Die Impfpflicht könnte auch ein acht- bis 10-jähriges Intervall für Auffrischungsimpfungen ausweisen. Die Tetanusimmunität betreffend ergeben sich keine Nachteile bei gleichzeitiger Impfung weiterer Antigenkomponenten. Gewissheit über den tatsächlichen Immunstatus kann nur über die Bestimmung der TTAK erlangt werden, da auch die Dokumentation der Impfungen selbst fehlerhaft sein kann.

**Schlüsselwörter:** Impfung / Prophylaxe / maternale Antikörper / Immunitätsdauer / Schnelltest / Immunologie

## Immunization strategies and seroprotection against tetanus in horses in central germany

Despite the availability of potent tetanus vaccines, highly fatal tetanus cases are still part of equine practitioners' everyday business. This gave rise to take different immunization strategies and their resulting humoral immune response into question. In total 91 serum samples from horses with reliable vaccination history were analyzed using a double-antigen-ELISA. Protective tetanus toxoid antibody concentrations of  $\geq 0.1$  IE/ml were obtained in 92.3% of the cases. In the vast majority of horses (89%), veterinarians followed an official German guideline for tetanus vaccination in horses ('Leitlinie zur Impfung von Pferden'). In spite of fulfilling those criteria, five horses did not develop a protective level of immunity. One of those cases was a foal in which maternal antibodies waned to a non protective level before it reached the age of six months, were the first vaccination should be performed. Two other unprotected juvenile horses had not completed their course of three initial immunizations by the time of sampling. In this study horses were vaccinated regarding the guideline in a two years interval and another group of horses were vaccinated in prolonged booster intervals lasting from three to eight years. Interestingly in the latter case all horses had protective antibody levels. Focusing exclusively on the age of our patients, all individuals older than 20 years ( $n = 12$ ) had antibody levels above the protective level. The application of different booster intervals did not result in statistically significant differences between groups ( $p = 0.117$ ). Time intervals from the last vaccination event to the date of blood sampling did not correlate with the tetanus toxoid antibody concentration. Even eight identically vaccinated horses responded very heterogeneously in their postvaccinal antibody production. Against beliefs that the injection of single antigens results in a more effective immune response, tetanus antibody concentrations did not differ statistically significant between horses which were vaccinated with monovalent vaccines and those in which multiple antigens were injected simultaneously ( $p = 0.63$ ). Based on the results and data obtained from experimental vaccination studies several recommendations can be made. For the prevention of vaccine failures (non- or low-responders), foals should be tested for their tetanus antibody levels around the age of six months, which is the recommended age for the first initial immunization. This can reliably be done on site using a rapid immunochromatographic dipstick test. When the test yields a negative result, interference of persistent maternal antibodies with the onset of immunoglobulin synthesis is minimal. Booster vaccinations with tetanus toxoid in two years intervals do not induce a better immune protection. Instead eight to ten year intervals should be implemented in vaccination guidelines. No disadvantages regarding tetanus immunity are to be expected, when vaccinations with multiple components are used. Reliable information regarding the actual seroprotection against tetanus in an individual horse can only be achieved by determination of the antibody level, because the vaccination documents can be erroneous.

**Keywords:** Vaccination / tetanus prevention / maternal antibodies / duration of immunity / dipstick test / immunology

**Zitation:** Recknagel S., Snyder A., Brüser B., Schusser G. F. (2015) Impfpraxis und Seroprotektion gegenüber Tetanus bei Pferden in Mitteldeutschland. *Pferdeheilkunde* 31, 469-476

**Korrespondenz:** Prof. Gerald F. Schusser, Universität Leipzig, Medizinische Tierklinik, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig, Email: schusser@vetmed.uni-leipzig.de

## Einleitung

Tetanus ist in den Pferdepopulationen industrialisierter Länder eine selten auftretende Infektionskrankheit. Bei nicht immunisierten Individuen jedoch weist der Verlauf der Erkrankung Mortalitätsraten von 59 bis 76% auf (Green et al. 1994, Reichmann et al. 2008, van Galen et al. 2009). Wirksamste Maßnahme in der Bekämpfung ist die Immunisierung mit Tetanustoxoid (TT). In dem Bestreben patientenorientierte Entscheidungen nach Möglichkeit auf Grundlage empirisch nachgewiesener Wirksamkeit zu treffen („evidenzbasierte Medizin“), befindet sich der praktisch tätige Tierarzt hinsichtlich der optimalen Tetanusprophylaxe in einem doppelten Dilemma. Zum einen beschränken sich die ihm zugänglichen Daten auf Informationen aus dem Beipackzettel der jeweils verwendeten Vakzine (mit eventuell veröffentlichten Sicherheits- und Wirksamkeitsstudien) und auf wenige wissenschaftliche Arbeiten zur Antigenität verschiedenster Impfstoffe bei einer überschaubaren Anzahl von Tieren mit sehr heterogenen Ergebnissen (Löhner und Radvila 1970, Jansen und Knoetze 1979, Liefman 1981, Heldens et al. 2001, Holmes et al. 2006, Mülverstedt 2006, Roßkopf 2007, Stelzmann 2011). Zum anderen sind es das sporadische Auftreten und der nicht kontagiöse Charakter der Erkrankung, die eine Bewertung der Wirksamkeit der Vakzine unter Feldbedingungen unmöglich machen, da so wichtige epidemiologische Messgrößen, wie die Erkrankungsrate und das relative Risiko, nicht wie im Falle eines Feldausbruchs einer ansteckenden Infektionskrankheit, berechnet werden können (Barquero et al. 2007). Die Ständige Impfkommission Vet. des Bundesverbandes Praktizierender Tierärzte e.V. empfiehlt in ihrer Leitlinie zur Impfung von Pferden, die Grundimmunisierung bestehend aus drei Impfungen im Alter von sechs, sieben bis sieben und 18 bis 20 Monaten, gefolgt von Wiederholungsimpfungen im zweijährigen Intervall durchzuführen (Stl-Ko Vet. 2013). Trotz der längst etablierten und flächendeckenden Anwendung dieses Impfgregimes in Deutschland beträgt die jährliche Inzidenz an unserer Klinik zwei bis drei Fälle von generalisiertem Tetanus. Oft bedient man sich der Vakzinationsrate als indirektem Parameter für die Bewertung des Impfschutzes einer Population. Im besonderen Falle einer Tetanusinfektion ist es jedoch die Serumkonzentration protektiver Antikörper, welche eine objektive Bewertung der Immunität des Individuums erst ermöglicht. Ziel dieser retrospektiven Querschnittsstudie war es daher, die Prävalenz protektiver Tetanustoxoid-Antikörperkonzentrationen (TTAK) von  $\geq 0,1$  IE/ml in einer repräsentativen Pferdepopulation zu untersuchen und mögliche Schwachstellen der Tetanusprophylaxe zu identifizieren.

## Material und Methoden

### Pferde und Serumproben

Über den Zeitraum eines Jahres (September 2011 bis September 2012) wurden aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik 83 Pferde verschiedener Groß- und Kleinpferdrassen mit den unterschiedlichsten Impfanamnesen für die Studie gezielt ausgewählt, um möglichst viele Aspekte der Tetanusimpfprophylaxe beleuchten zu können. Wie bei allen anderen Patienten auch, wurde bei Aufnahme neben dem Alter der Tiere (zwei Tage bis 32 Jahre) das Datum der letzten

Tetanusimpfung (und damit der zeitliche Abstand zwischen letzter Vakzination und Vorstellung) sowie das vorausgegangene Impfintervall dokumentiert. Zusätzlich wurde erfasst, ob eine monovalente Vakzine verwendet wurde, oder ob zeitgleich mehrere Komponenten verimpft wurden. Patienten mit klinischem Tetanus und Pferde, welche vorberichtlich Tetanus-Antiserum erhielten, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Ergänzt wurde das Probenmaterial durch acht Pferde eines geschlossenen Bestandes mit einheitlichem Impfgregime. Für die Untersuchungen standen somit 91 Serumproben zur Verfügung. Bis zur Durchführung der Untersuchungen lagerten diese bei  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Basierend auf der Impfhistorie anhand der Dokumentation im Equidenpass wurden die Pferde einer geschützten oder einer ungeschützten Gruppe zugeordnet. Mindestanforderung für die Annahme einer ausreichenden Immunität war dabei in Abhängigkeit vom Alter der Patienten eine korrekt durchgeführte Grundimmunisierung und eine Zeitspanne von maximal zwei Jahren zwischen den letzten beiden Impfungen (Stl-Ko Vet. 2013). Fohlen wurden der geschützten Gruppe zugeordnet, wenn sie vor Erstvakzination jünger als sechs Monate waren, da in diesem Alter eine ausreichende Protektion durch maternale Antikörper anzunehmen ist.

Um feststellen zu können, ob allein anhand des Patientenalters eine Prognose über den Tetanusimmunstatus formuliert werden kann wurden alle vakzinierten Pferde unabhängig von der verwendeten Vakzine und des jeweiligen Impfgregimes folgenden Altersgruppen zugeordnet: Fohlen vor Erstimmunisierung (jünger als sechs Monate), junge heranwachsende Pferde (0,5 bis 5 Jahre), adulte Pferde im Alter von sechs bis 20 Jahren und geriatrische Pferde über 20 Jahre. Für die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Impfintervalle auf die TTAK wurden von den ursprünglich 91 Proben die von ungeimpften Pferden stammenden Seren (acht Fohlen und zwei adulte Pferde) ausgeschlossen. Ebenso wurde mit denjenigen Patienten verfahren, welche bis zur Blutentnahme noch keine Wiederholungsimpfung erhielten (10 Pferde), sodass 71 Proben für die Analyse verblieben. Pferde, geimpft mit monovalentem Adsorbatimpfstoff, wurden mit Pferden verglichen, die geimpft wurden mit einem Kombinationsimpfstoff.

### Equiner anti-Tetanustoxoid-IgG-ELISA

Die TTAK wurden mittels eines zweistufigen Doppel-Antigen-Sandwich-ELISA (DAE) in Doppelbestimmung gemessen. Die Kavitäten der Mikrotiterplatten wurden zunächst mit TT beschichtet, anschließend wurden die ausgewählten Serumproben in Verdünnungsstufen von 1:10 bis 1:60 000 dazu gegeben. Je Mikrotiterplatte wurden Standards (32 mIE/ml, Verdünnungsfaktor 2), ein internes Kontrollserum und eine Negativkontrolle mitgeführt. Nach Entfernung der nichtgebundenen Antikörper wurde das ebenso als Detektorantigen fungierende TT hinzupipetiert. Die Umwandlung des farblosen Chromogens Tetramethylbenzidin in einen blauen Farbstoff wurde durch Meerrettichperoxidase-Konjugat erzeugt. Es folgte die photometrische Zweifachmessung. Die Nachweisgrenze des DAE betrug 0,01 mIE Anti-Tetanustoxoid-IgG/ml. Details des verwendeten DAE sind bei Recknagel et al. 2015 zu entnehmen.

### Protektive Antitoxin Konzentration

Alle Analysen in dieser Arbeit geschahen in Annahme, dass Antitoxinkonzentrationen von 0,1 IE/ml und darüber einen ausreichenden Schutz gegenüber einer Tetanusinfektion bieten. Die Definition einer Schutzgrenze ist dabei ein sehr grundsätzliches Problem und an die jeweilige Bestimmungsmethode gebunden. So ist der für den Menschen generell akzeptierte Schwellenwert von 0,01 IE/ml aus Toxinneutralisationstests mit Mäusen und Meerschweinchen abgeleitet (Roper et al. 2013). Aufgrund der geringeren Spezifität von Standard-ELISA-Verfahren gegenüber dem Toxinneutralisationstest liegt die Schutzgrenze hier um den Faktor 10 höher (WHO 2006). Für eine verlässliche Aussage beim Pferd existieren nach Kenntnisstand der Autoren keine experimentellen Daten. Wie in anderen Studien zur Tetanusimmunität bei Pferden (Löhner und Radvila 1970, Liefman et al. 1981, Baljer et al 1982) adaptierten wir daher eine Antitoxinkonzentrationen von  $\geq 0,1$  IE/ml als protektiv für den verwendeten DAE.

### Statistik

Die Datenanalyse erfolgte zunächst deskriptiv (Häufigkeiten, Median mit 25. und 75. Perzentil). Zur Bestimmung von Unterschieden in der TTAK zwischen den Gruppen wurde der Kruskal-Wallis- bzw. der Mann-Whitney-U-Test angewendet. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt und mit der Bonferroni-Methode korrigiert, um einer bei Mehrfachvergleichen auftretenden Alphafehler-Kumulierung entgegenzuwirken. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm IBM® SPSS® Statistics, Version 22.0 (IBM Corp., US).

## Ergebnisse

### Tetanustoxoid-Antikörper-Seroprävalenz

Zusammengenommen wiesen 84 der 91 (92,3%) untersuchten Pferde eine protektive humorale Immunität auf. Die TTAK in den Serumproben betrugen 0,29-209,00 IE/ml (Mittelwert 23,52 IE/ml, 95 % Konfidenzintervall 15,80-31,24 IE/ml). Zu den ungeschützten Individuen zählten drei nachweislich ungeimpfte Pferde (ein Fohlen im Alter von fünf Monaten und zwei Adulte im Alter von 3,5 bzw. 18 Jahren). Bei den vier verbliebenen Patienten ohne eine protektive TTAK wurde eine dem jeweiligen Alter entsprechende regelrechte Impfung durchgeführt und im Pferdepass dokumentiert.

### Beurteilung der Tetanusimmunität anhand der Impfhistorie und des DAE

Die große Mehrheit unserer Patienten (81 von 91, 89%) war gemäß Impfleitlinie geimpft. Von diesen als geschützt angesehenen Pferden wiesen jedoch nur 76 (93,8%) protektive TTAK auf. Die fünf ungeschützten Individuen dieser Gruppe (6,2%) waren das bereits erwähnte fünf Monate alte Fohlen, welches damit das empfohlene Mindestalter für die erste Vakzination noch nicht erreicht hatte, und die im vorausgegangen Abschnitt genannten vier Pferde. Von diesen Patienten waren in zwei Fällen bis dato nur eine zweimalige Injektion mit der Vakzine vorgenommen worden (G1 und G2); die dritte Imp-

fung (G3) war zum Zeitpunkt der Probenahme (termingerecht) noch nicht erfolgt. Im Unterschied zu diesen Pferden mit noch nicht abgeschlossener Grundimmunisierung wiesen alle Pferde welche nach der Auffrischungsimpfung (G3) und vor den Wiederholungsimpfungen beprobt wurden ( $n = 5$ ) einheitlich schutzverleihende TTAK auf. Laut Impfanamnese wiesen zehn Pferde (11%) keine ausreichende Tetanusimmunität auf. In acht Fällen erfolgte die Zuordnung zu dieser Gruppe aufgrund unregelmäßig durchgeführter Wiederholungsimpfungen mit Intervallen von bis zu acht Jahren. Ein ausreichender Schutz bestand laut DAE jedoch bei allen acht Pferden. Die übrigen zwei Pferde (3,5 und 18 Jahre) waren im Laufe ihres Lebens nachweislich nicht geimpft wurden, welches durch TTAK von 0,04 IE/ml und bzw. 0,01 IE/ml bestätigt wurde.

### Tetanusimmunität und Alter

Die TTAK in den verschiedenen Altersgruppen unterschieden sich nicht signifikant (Abb. 1,  $p = 0,377$ ). Bis auf die Gruppe der alten Pferde waren in den übrigen Altersgruppen vereinzelt ungeschützte Individuen zu finden. Die aus acht Fohlen bestehende Gruppe wies eine sehr heterogene Verteilung der TTAK auf (Tab. 1). Mit einem Alter von fünf Monaten und zwei Wochen war es das älteste Tier in dieser Gruppe noch nicht vakzinierter Fohlen, welches eine nicht messbare TTAK aufwies.

### Auswirkung unterschiedlicher Impfindervalle auf die TTAK

Das Auffrischen der Immunität im zweijährigen Intervall erfolgte in der großen Mehrheit unserer Klinikpatienten (52 von 71 Pferden, 73,2%). Fünf Tiere (7,0%) wurden im Sechsmontatsintervall geimpft, auf die übrigen Kategorien entfielen je sieben Pferde (9,9%). Die Anwendung unterschiedlicher Impfindervalle führte dabei zu keinen signifikanten Unterschieden in den TTAK (Abb. 2,  $p = 0,117$ ). Auffällig war jedoch, dass die in dieser Population verbliebenen zwei Pferde mit TTAK unterhalb der Nachweisgrenze des DAE im empfohlenen zweijährlichen Abstand geimpft wurden. Ausreichende Seroprotektion bestand dagegen bei der Gruppe von Pferden mit deutlich längeren Impfindervallen. So wies das Pferd mit dem längsten Abstand zweier Impfungen von sechs Jahren mit 35,10 IE/ml noch einen weit über der minimal protektiven TTAK liegenden Wert auf.

**Tabelle 1** Nach Alter der in der Studie enthaltenen acht Fohlen sortierte Auflistung der TTAK

List of the tetanus antibody concentrations of the eight foals included in our study corresponding to their age

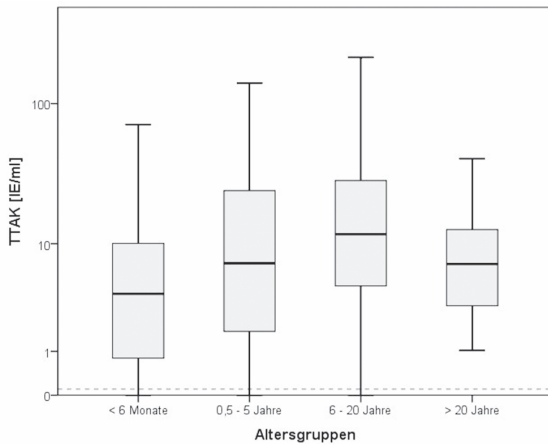
Probe - Nr.	TTAK [IE/ml]	Alter
43	0,35	2 Tage
50	71,56	3 Wochen
31	7,00	4 Wochen
45	1,39	7 Wochen
27	9,72	7 Wochen
18	10,40	7 Wochen
05	2,10	14 Wochen
10	< 0,01	22 Wochen

*Zeitlicher Verlauf der TTAk nach Vakzination*

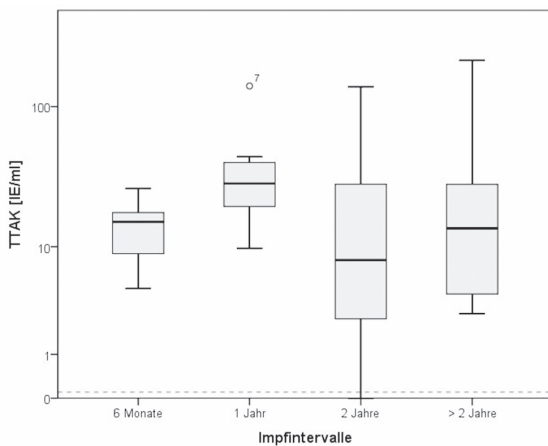
Abbildung 3 zeigt die TTAk in Relation zu den zeitlichen Abständen zur letzten Vakzination aller mindestens einmal geimpften Pferde. Ein Zusammenhang beider Parameter ließ sich nicht erkennen. Die dem geschlossenen Bestand zugehörigen Pferde wurden am selben Tag 15 Monate nach der letzten Tetanusimpfung (strikt alle zwei Jahre vorgenommene Kombinationsimpfung gegen Tetanus und Equine Influenza) beprobt und wiesen ebenso eine deutliche Streuung der Messwerte auf (Median 6,98 IE/ml; 25. und 75. Perzentil 5,44 IE/ml bzw. 17,08 IE/ml). Der kürzeste Zeitabstand eines nicht geschützten Tieres betrug 5 Monate und 3 Wochen; der längste eines Geschützten 8,5 Jahre.

*Monovalenter Adsorbatimpfstoff vs. Kombinationsimpfung*

Bei 28 (34,6%) der bis zum Zeitpunkt der Blutentnahme mindestens einmalig geimpften 81 Pferde wurde ein monovalen-



**Abb. 1** Vergleichende Darstellung der TTAk in den jeweiligen Altersgruppen. Die gestrichelte Linie repräsentiert die angenommene protektive Antikörperkonzentration von 0,1 IE/ml.  
*Comparative depiction of tetanus antibody concentrations within the different age groups. The dotted line represents the protective threshold of 0.1 IE/ml.*

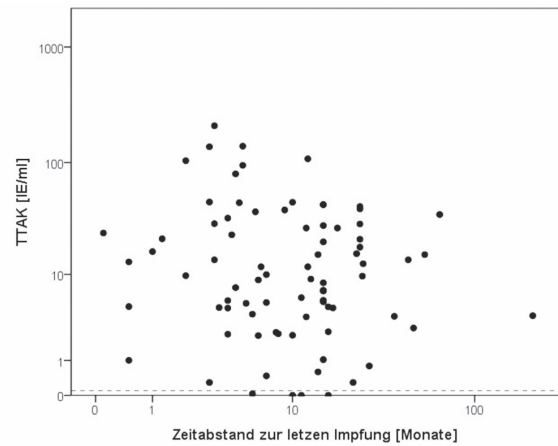


**Abb. 2** Vergleichende Darstellung der TTAk in Relation zum letztmalig angewendeten Impfintervall. Die gestrichelte Linie repräsentiert die angenommene protektive Antikörperkonzentration von 0,1 IE/ml.  
*Comparative depiction of tetanus antibody concentrations in relation to the latest revaccination interval. The dotted line represents the protective threshold of 0.1 IE/ml.*

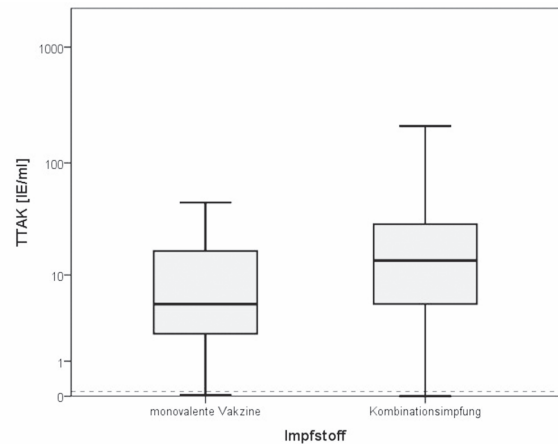
ter Adsorbatimpfstoff angewendet. Die übrigen Patienten (53 Pferde bzw. 65,4%) erhielten eine Kombinationsimpfung in Form der Impfung einer zusätzlichen Komponente in derselben Vakzine oder einer zusätzlichen Injektion eines weiteren Präparates. Der Vergleich der TTAk ergab auch hier keinen signifikanten Unterschied ( $p=0,63$ ) zwischen beiden Gruppen (Abb. 4), wobei es in der ersteren ein Pferd (3,6%) und in der letzteren drei Pferde (5,7%) mit nichtprotektiven TTAk gab.

**Diskussion**

Die vorliegende Arbeit ist ein Beitrag zur kritischen Hinterfragung der Effektivität derzeit propagierter und weitverbreitet angewandter Tetanus-Impfschemata. Aufgrund der gezielten



**Abb. 3** Streupunktogramm zur Veranschaulichung der dem jeweiligen Zeitabstand von der letzten Impfung bis zur Blutentnahme entsprechenden TTAk. Die gestrichelte Linie repräsentiert die angenommene protektive Antikörperkonzentration von 0,1 IE/ml.  
*Scatterplot showing the tetanus toxoid antibody concentration obtained at the individual time intervals between the latest vaccination and the time of blood sampling. The dotted line represents the protective threshold of 0.1 IE/ml.*



**Abb. 4** Vergleichende Darstellung der TTAk bei Verwendung monovalenter Vakzinen bzw. der gleichzeitigen Impfung mehrerer Komponenten. Die gestrichelte Linie repräsentiert die angenommene protektive Antikörperkonzentration von 0,1 IE/ml.  
*Comparative depiction of tetanus antibody concentration in relation to the vaccine types used (monovalent vaccines versus simultaneously administered multiple antigens). The dotted line represents the protective threshold of 0.1 IE/ml.*

Selektion der Proben ist die festgestellte Seroprävalenz protektiver TTAk von 92,3% einseitig beeinflusst und kann daher nicht als repräsentativ für die Pferdepopulation im mitteldeutschen Raum angesehen werden. Für die Beantwortung der übrigen Fragestellungen war es jedoch aufgrund des limitierten Probenvolumens für den DAE erforderlich, eine vollständige und glaubhafte Impfhistorie vorliegen zu haben und ein möglichst breites Spektrum der unterschiedlichen Einflussgrößen (Alter, Impfintervalle, Art der verwendeten Vakzine, zeitlicher Abstand zur letzten Impfung) abzudecken. So konnten nur zwei nachweislich nicht geimpfte Pferde in die Studie aufgenommen werden. In einer 535 Pferde umfassenden Studie aus Niedersachsen machten jedoch Pferde ohne Pass oder anderweitige Impfdokumente mit 35,3% die größte Gruppe der untersuchten Population aus. Zugleich war es auch diese Gruppe, welche mit 12,7% die meisten ungeschützten aufwies (Bonetto et al. 2014). Die echte Seroprävalenz protektiver TTAk ist demzufolge deutlich niedriger anzusetzen.

Bei 89% der ausgewählten Patienten folgten die Praktiker mehrheitlich der rechtlich nicht verbindlichen Leitlinie zur Impfung von Pferden (StlKo Vet. 2013), dargestellt durch den Bundesverband Praktizierender Tierärzte e.V. (bpt), welche im Wesentlichen mit derjenigen der British Equine Veterinary Association (BEVA) und der American Association of Equine Practitioners (AAEP) konform geht. Trotz Befolgung der Empfehlung wiesen fünf Tiere keine protektiven TTAk auf. Eine mögliche Erklärung für das Impfversagen in den vier adulten Pferden dieser Gruppe wäre das Phänomen der Non- bzw. Low-responder. Diesem liegt eine Hemmung der Produktion eigener Immunglobuline in Gegenwart passiv erworbener, maternalen Antikörper zugrunde, wie Jansen und Knoetze 1979 in Vakzinationsversuchen an neugeborenen und 10 bis 18 Wochen alten Fohlen aus gegen Tetanus geimpften Mutterstuten demonstrieren konnten. Dies konnte auch bei vier bis sechs Wochen alten Erstimpflingen nachgewiesen werden, bei welchen auch durch Wiederholungsimpfungen im juvenilen Alter keine adäquate Immunantwort festgestellt werden konnte (Baljer et al. 1982). Neuere Untersuchungen zur Interferenz maternalen Antikörper mit TT bestätigten ein signifikant besseres Ansprechen auf die Impfung von Jährlingen gegenüber 3-monatigen Fohlen (Wilson et al. 2001). So konnte bei den 3-monatigen Fohlen auch nach zwei Impfdosen keine Serokonversion festgestellt werden. Erst nach fünf Impfdosen entsprachen die IgGa-, IgGb- und IgG(T)-Konzentrationen denen der Jährlinge nach nur einer Impfdosis. Die Immunantwort 6-monatiger Fohlen viel quantitativ etwas geringer aus, was auf die Persistenz maternalen Antikörper selbst in diesem Alter zurückgeführt wurde. Erst kürzlich wurden diese Ergebnisse durch Untersuchungen an 24 Fohlen ergänzt (Thein et al. 2013). Unabhängig vom Alter reagierten die zum Zeitpunkt der Erstimpfung mittels Schnelltest (Fassisi TetaCheck®) identifizierten seropositiven Fohlen deutlich schlechter als die seronegativen Impflinge. Da das Alter unserer Patienten zum Zeitpunkt der Primärvakzination nicht mit erfasst wurde, kann eine zu früh vorgenommene Erstimpfung in dieser Studie nicht bestätigt werden, bleibt aber als wahrscheinlichste Ursache zu vermuten. Ein alternativer Erklärungsversuch könnte das partiell inkompetente Immunsystem sehr junger Fohlen sein. Denkbar wären auch abnorm ablaufende immunologische Vorgänge, welche vom spezifischen Antigen und der individuellen genetischen Prädisposition des Impflings abhängig sind. Gegenstand aktueller humanmedizinischer Studien in der Ursachenforschung des Impfversagens ist daher der genetische Einfluss auf

die Zytokinexpression (IL-10) und die Funktion regulatorischer T- und B-Zellen nach Vakzination (Garner-Spitzer et al. 2013).

Von insgesamt acht Fohlen vor Erstvakzination wiesen sieben protektive maternale TTAk auf. Das älteste Fohlen besaß zum Zeitpunkt der Probennahme keine nachweisbaren AK gegen TT. Ältere noch nicht vakzinierter Fohlen waren in unserem Patientengut nicht vorhanden. Die Literatur zum Verlauf der maternalen, tetanusspezifischen Antikörperkonzentrationen ist sehr heterogen. So stellte Mülverstedt (2006) lediglich eine 66tägige Protektion bei 11 Fohlen fest. Liu et al. (1982) fanden vier Monate post partum bei 81,1% ihrer Fohlen keine schützenden, tetanusspezifischen Antikörper. In einer anderen Arbeit wies nur eines von 101 4–6-monatigen Fohlen eine protektive TTAk auf (Roskopf 2007). Eine deutlich längere Persistenz maternalen Antikörper über den sechsten Lebensmonat hinaus wiesen dagegen Wilson et al. (2001) nach. Neueste Daten belegen eine vom 6. bis zum abgeschlossenen 8. Lebensmonat anhaltende Persistenz bei 12 von 24 Fohlen (Thein et al. 2013). Folglich existieren unterschiedliche Empfehlungen zum Erstimpfalter von sechs (StlKo-Vet. 2013, Wilson et al. 2001, Thein 2011) bis 9 Monaten (Thein et al. 2013). Verschiedene Faktoren, wie die peripartale TTAk in Blut und Kolostrum der Mutterstute, Menge und Zeitpunkt der Kolostrumaufnahme sowie die Resorption der Immunglobuline im Verdauungstrakt wirken sich dabei auf die Antikörperkonzentration im Neonaten aus (Tizard 2000). Das Absinken der maternalen TTAk im heranwachsenden Fohlen wird maßgeblich durch die 35–39 Tage betragende Halbwertszeit der Immunglobuline (IgGb) beeinflusst (Wilson et al. 2001). Die endogene IgGb-Synthese setzt erst mit vier Monaten ein und hat mit 51 Wochen noch kein Maximum erreicht (Holznagel et al. 2003). Folglich befinden sich Fohlen vom 3. bis in den 8. Lebensmonat in einer kritischen, immunologischen Phase. Dem praktischen Tierarzt obliegt es nun zu entscheiden, ob die Gefahr einer zu zeitigen Vakzination mit der Konsequenz eines unzureichend oder völlig ausbleibenden Impferfolges oder das Infektionsrisiko durch Absinken der maternalen Immunglobuline unter die Schutzgrenze größer einzuschätzen ist, zumal schutzverleihende Antikörperkonzentrationen erst nach der zweiten Vakzination im Abstand von 4–6 Wochen vorhanden sind. Abhilfe kann hier ein zuverlässig und robust arbeitender Schnelltest (Fassisi TetaCheck®) schaffen (Recknagel et al. 2015). Basierend auf unseren Ergebnissen ist dessen Einsatz mit Vollendung des 5. Lebensmonats sinnvoll. Bei Positivität können im vierwöchigen Intervall Wiederholungsuntersuchungen vorgenommen werden, bis der Test ein negatives Resultat liefert.

Bei zwei der fünf gemäß Leitlinie immunisierten Pferde, war die GI noch nicht abgeschlossen (G1 und G2), während alle Pferde mit abgeschlossener GI (G1, G2 und G3) vor Beginn der Wiederholungsimpfungen ausreichend geschützt waren. Ob bei den erstgenannten durch weitere Impfdosen zu einem späteren Zeitpunkt ein ausreichender Schutz erreicht werden kann, bleibt spekulativ, da hier keine Verlaufsuntersuchung vorgenommen wurde. Der zeitliche Abstand zwischen G1 und G2 bei beiden ungeschützten Individuen lag innerhalb des von der StlKo-Vet. empfohlen 4- bis 6-wöchigen Abstand. Zahlreiche Studien lieferten jedoch Resultate, welche eine Verlängerung dieses Intervalls auf 6–8 Wochen (Wilson et al. 2001), 6–12 Wochen (Radvila 1975), oder gar  $\geq 8$  Wochen (Thein 2003, Thein et al. 2013) nahelegen. Bei derartigem Vorgehen kann

selbst ohne die Auffrischungsimpfung (G3) eine lebenslange Immunität aufgebaut werden (Löhner und Radvila 1970, Radvila 1975). Ursachen einer besseren, postvakzinalen Immunität bei Anwendung dieses verlängerten Intervalls werden in dem weiteren Abbau maternalen Antikörper welche zur G1 noch vorhanden sein können, der Eliminierung neutralisierenden Antigens aus der G1 und in der erforderlichen Zeitspanne für die B-Zell-Proliferation und Maturation gesehen (Thein 2011, Thein et al. 2013). Leider fanden sich in unserem Patientengut keine Pferde mit verlängertem Zeitabstand zwischen G1 und G2, um dies bestätigen zu können.

Die anhand ihrer Impfhistorie unkorrekt als „ungeschützt“ eingeordneten Pferde wiesen allein verlängerte Impfintervalle von drei bis 6 Jahren auf. Zu ähnlichen Resultaten gelangten Thein et al. (2013) mit 8 Pferden im Alter von 8 bis 20 Jahren, welche trotz letzter Impfung vor 4 bis 11 Jahren allesamt protektive TTK aufwiesen. Legt man die für Pferd und Mensch gleichermaßen geltende Halbwertszeit des Antitoxins von sechs bis 12 Jahren zugrunde (Radvila 1975), ist das empfohlene Impfintervall von 2 Jahren als viel zu kurz anzusehen. Bereits im Jahre 1938 wurde publiziert, dass nach dreimaliger Vakzination mit TT nicht eines von 35 000 französischen Militärpferden über einen Beobachtungszeitraum von 10 Jahren an Tetanus erkrankte (Monnier und Lebasque 1938). Die Autoren könnten der Forderung von Thein (2007, 2009, 2011), eine Ausdehnung der Wiederholungsimpfung auf 8- bis 10-jährige Intervalle vorzunehmen, verstehen. Neuere Studien zur Immunitätsdauer gegenüber Tetanus beim Menschen stellen gar das Zehnjahresintervall für die Boosterungen infrage, da seroepidemiologische Studien eine mindestens 20 Jahre andauernde Immunität annehmen lassen (Roper et al. 2013). Im Unterschied zum Menschen, welcher aufgrund ausgelassener Wiederholungsimpfungen im Alter von 60 bis 70 Jahren durch einen rapiden Abfall der TTK gegenüber einer Tetanusinfektion erneut empfänglich werden kann (Schröder und Kuhlmann 1991), waren die geriatrischen Pferde in unserer Studie ausnahmslos geschützt. Dies ist vermutlich auf die vielen kurzfristigen Impfintervalle (alle Pferde über 20 Jahre wurden im 2-jährlichen Intervall geimpft) und der damit verbundenen hohen Anzahl an Boosterungen zurückzuführen. Zum gleichen Schluss gelangten Bonetto et al. (2014), in deren Studie ein Zusammenhang zwischen protektiver TTK und einem Alter von >20 Jahren festzustellen war. Wenn auch ohne jedes immunologische Rationale, hat die Empfehlung der 2-jährlichen Wiederholungsimpfung den positiven Nebeneffekt, dass selbst bei versehentlicher Auslassung eines oder mehrerer Impftermine kein Verlust der Seroprotektion zu befürchten ist. Gleichzeitig entbehrt die erneute Durchführung einer Grundimmunisierung bei Auslassung einer Boosterung jeder immunologischen Grundlage. Entgegen anderer Auffassungen (Thein 2007, Thein 2009, Thein 2011) bleibt festzuhalten, dass sich kürzere Impfintervalle nicht negativ auf die TTK auswirkten. Bei den beiden negativ getesteten, im 2-jährlichen Abstand vakzinierten Pferden führten möglicherweise zu früh vorgenommene Erstvakzinationen zum Impfersagen, da der Einfluss des Impfintervalls auf die gemessene TTK in unseren Untersuchungen vernachlässigbar erscheint.

Beide nicht vakzinierten adulten Tiere wiesen mit 0,04 bzw. 0,01 IE/ml messbare, aber nicht als protektiv anzusehende TTK auf. Da beide Pferde in der Vergangenheit weder kli-

nisch an Tetanus erkrankten, noch Tetanus-Antiserum erhielten, muss ein alternativer Antigenkontakt mit *C. tetani* stattgefunden haben. Denkbar wären subklinische Tetanusinfektionen, welche zur Sensibilisierung des Immunsystems mit Antikörpersynthese geführt haben (Habermann und Dimpfel 1973, Habermann et al. 1973, Thein 2009). Die Aufnahme von *C. tetani* mit dem Futter und nachfolgender Kolonisierung des Darmes kann ebenso in einer transienten Toxinresorption resultiert haben. Auch beim Menschen ging man zunächst von einer „natürlich erworbenen Immunität“ aus.

Die in zahlreichen hierzu veröffentlichten Studien aufgeführten TTK wurden jedoch nicht mit in vivo Toxinneutralisationstests, der verlässlichsten Methode zur Bestimmung biologisch aktiver Antikörper, ermittelt, sondern wurden mittels Hämagglutination oder konventionellen ELISA-Verfahren bestimmt und lagen in Bereichen, die keine sichere Unterscheidung zu unspezifischen Bindungsreaktionen ermöglichten (Roper et al. 2013). Weiterhin gelang es nicht, bei diesen „natürlich immunen“ Personen durch Injektion von TT einen einer anamnestic Immunantwort entsprechenden Anstieg der TTK auszulösen. Thein et al. (2013) konnten bei 2 von 10 sicher nicht immunisierten Eseln mit einem Schnelltest wiederholt sogar protektive TTK feststellen. Interessant wäre, ob bei diesen ungeimpften Equiden durch Injektion von TT ein Anstieg der TTK im Sinne einer Wiederholungsimpfung festzustellen ist.

Hinsichtlich des zeitlichen Abstandes zwischen Probenahme und letzter Impfung, konnte die Höhe der TTK nicht prognostiziert werden. Selbst über Jahre hinweg gleichartig geimpfte Pferde reagierten mit sehr unterschiedlichen TTK. Die wenigen nicht aus Zulassungsverfahren stammenden unabhängigen Daten zum postvakzinalen Verlauf der TTK wurden ausschließlich an kleinen Gruppen zu immunologisch interessanten Zeitpunkten (Saugfohlen, Jährlinge nach Abschluss der G1, tragende Stuten) erhoben und sind aufgrund der Diversität verwendeter Vakzinen und unterschiedlicher Zeitpunkte der Blutentnahme nicht direkt vergleichbar (Löhner und Radvila 1970, Jansen und Knoetze 1979, Liefman 1981, Helldens et al. 2001, Holmes et al. 2006, Mülverstedt 2006, Roskopf 2007, Stelzmann 2011). In der Konsequenz ist das Datum der letzten Impfung für die Entscheidung eine passive und/oder aktive Immunisierung im Bedarfsfall vornehmen zu müssen irrelevant. Auch hier kann der bereits angeführte Schnelltest zuverlässig Klarheit verschaffen.

Die vorliegenden Ergebnisse sprechen nicht dafür, der allgemeinen Empfehlung zu folgen, Impfantigene zur Induktion einer optimalen Immunität möglichst einzeln zu injizieren. Eine vergleichende Betrachtung mono- und polyvalenter Impfstoffe ist selbst in Vakzinationsversuchen aufgrund des von den jeweiligen Vakzinen abhängigen und damit uneinheitlichen Impfschemas schwierig. Einen Einfluss der Impfstoffkomponenten auf die Immunantwort konnte Roskopf (2007) an neun untersuchten TT enthaltenden Vakzinen mit und ohne Influenza-Virus-Antigenen nicht feststellen. Die in Deutschland erhältliche Impfstoffkombination aus TT und Influenzaantigenen kann daher gerade bei schwierig zu handhabenden Pferden dazu beitragen eine zusätzliche Injektion einzusparen, sollte aber aus bereits genannten Gründen nicht zur Boosterung des Influenzaschutzes eingesetzt werden. Auch die zeitgleiche Impfung gegen alle drei wichtigen Infektionen des Pferdes (Tetanus, Influenza und Equines Herpesvi-

rus (EHV) 1 und 4), wie sie häufig in der Praxis durchgeführt wird, führte zu einer belastbaren Tetanusimmunität, ohne dass sich im EHV-4 Infektionsversuch diese Pferde von denen durch eine monovalente Herpesimpfung immunisierten Pferden unterscheiden (Heldens et al. 2001). In der Induktion einer Seroprotektion scheint das enthaltene Adjuvans eine größere Rolle als die TT-Konzentration zu spielen (Roskopf 2007). Dies konnte auch an den in Nordamerika verbreiteten Alphavirusencephalitis-Tetanus-Kombinationsimpfstoffen nachgewiesen werden (Holmes et al. 2006).

Um der vorliegenden Arbeit möglichst viel Praxisnähe zu verleihen, wurde bewusst auf die Erfassung des für die jeweilige Impfung verwendeten Produktes verzichtet, da im Unterschied zu Vakzinationsversuchen in der Realität oft im Laufe eines Pferdelebens verschiedene Tierärzte für die Impfungen konsultiert werden und diese je nach Vorliebe Impfstoffe von diversen Herstellern anwenden, Impfstoffe über die Jahre ihre Zulassungen verlieren oder seitens der Hersteller aktualisiert werden. Außerdem kann von allenfalls geringfügigen Unterschieden in der Antigenität monovalenter Adsorbatimpfstoffe ausgegangen werden (Roskopf 2007, Thein et al. 2013).

Sämtliche Ergebnisse und deren Interpretation beruhen auf der Dokumentation der Impfungen im Equidenpass. Da fehlerhafte Eintragungen nicht überprüfbar sind, stellt dies eine wichtige Limitation unserer Arbeit dar. Abschließend kann im Allgemeinen von einer guten Seroprotektion unserer Pferdepatienten ausgegangen werden. Kritischer Punkt der Impfprophylaxe ist der Übergang von der passiven maternalen Immunität zur Bildung eigener Antikörper im Fohlenalter. Zur optimalen Erfassung dieses Zeitraumes kann ein seit 2012 verfügbarer immunchromatographischer Schnelltest nützlich sein. Dieser kann ebenso bei unklarem Impfstatus eingesetzt werden. Eine Aktualisierung der Leitlinie zur Impfung von Pferden der StlKo Vet. des bpt hinsichtlich eines Zeitabstandes von 6 bis 8 Wochen zwischen G1 und G2 und der alle 8 bis 10 Jahre vorzunehmenden Boosterung scheint gegeben.

## Literatur

- Baljer G., Thein P., Hechler H., Cronau P., Hasslacher D., Beck G., Sailer J., Mayr A. (1982) Untersuchungen zur intranasalen Schutzimpfung gegen Tetanus beim Pferd. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 95, 208-213
- Barquero N., Gilkerson J. R., Newton J. R. (2007) Evidence-based immunization in horses. *Vet. Clin. Equine.* 23, 481-508
- Bonetto A., Cavalleri J. M., Ohnesorge B. (2014) Tetanus immunity in horses in northern germany. 7th ECEIM Congress Prague 2014, Proceedings, 66
- Garner-Spitzer E., Wagner A., Paulke-Korinek M., Kollaritsch H., Heinz F. X., Redlberger-Fritz M., Stiasny K., Fischer G. F., Kundi M., Wiedermann U. (2013) Tick-borne encephalitis (TBE) and hepatitis B nonresponders feature different immunologic mechanisms in response to TBE and influenza vaccination with involvement of regulatory T and B cells and IL-10. *J Immunol* 191, 2426-2436
- Green S. L., Little C. B., Baird J. D., Tremblay R. R., Smith-Maxie L. L. (1994) Tetanus in the horse: a review of 20 cases. *J. Vet. Intern. Med.* 8, 128-132
- Habermann E., Dimpfel W. (1973) Distribution of 125I-tetanustoxin and 125I-toxoid in rats with generalized tetanus, as influenced by antitoxin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 276, 327-340
- Habermann E., Dimpfel W., Räder K. O. (1973) Interaction of labeled tetanus toxin with substructures of a rat spinal cord in vivo. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 276, 361-373
- Heldens J. G. M., Kersten A. J., Weststrate M. W., van den Hoven R. (2001) Duration of immunity induced by an adjuvanted and inactivated equine influenza, tetanus and equine herpesvirus 1 and 4 combination vaccine. *Vet. Quart.* 23, 210-217
- Holmes M. A., Townsend H. G. G., Kohler A. K., Hussey S., Breathnach C., Barnett C., Holland R., Lunn D. P. (2006) Immune responses to commercial equine vaccines against equine herpesvirus-1, equine influenza virus, eastern equine encephalomyelitis, and tetanus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 111, 67-80
- Holznagel D. L., Hussey H., Mihalyi J. E., Wilson W. D., Lunn P. D. (2003) Onset of immunoglobulin production in foals. *Equine Vet. J.* 35, 620-622
- Jansen B. C., Knoetze P. C. (1979) The immune response of horses to tetanus toxoid. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 46, 211-216
- Liefman C. E. (1981) Active immunisation of horses against tetanus including the booster dose and its application. *Aust. Vet. J.* 57, 57-60
- Liu I. K., Brown S. L., Kuo J., Neeley D. P., Feeley J. C. (1982) Duration of maternally derived immunity to tetanus and response in newborn foals given tetanus antitoxin. *Am. J. Vet. Res.* 43, 2019-2022
- Löhner J., Radvila P. (1970) Aktive Tetanusprophylaxe beim Pferd und Immunitätsdauer. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 112, 307-314
- Monnier -, Lebasque - (1938) Les résultats de la vaccinations du cheval contre tetanos, dans l'armée, par l'anatoxine de Ramon. *Bul. Acad. Vét. France* 11, 461-466
- Mülverstedt A. J. (2006) Entwicklung und Validierung eines ELISA zur Beurteilung der Tetanusvakzinierung am Beispiel eines Pferdebestandes in Thüringen. Göttingen, Georg-August-Universität, Fakultät für Agrarwissenschaften, Diss.
- Radvila P. (1975) Tetanusprophylaxe bei Mensch und Tier nach einer Verletzung. *Arch Exp Vet Med* 29, 469-481
- Recknagel S., Snyder A., Blanke A., Uhlig A., Brüser B., Schusser G. F. (2015) Evaluierung eines Schnelltestes zur Feststellung des Tetanus-Immunitätsstatus bei Pferden. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* (in Druck)
- Reichmann P., Lisboa J. A. N., Araujo R. G. (2008) Tetanus in equids: a review of 76 cases. *J. Equine Vet. Sci.* 28, 518-523
- Roper M. H., Wassilak S. G. F., Tiwari T. S. P., Orenstein W. A. (2013) Tetanus toxoid. In: Plotkin S. A., Orenstein W. A., Offit P. A. (Hrsg.), *Vaccines*. Saunders Elsevier, 6. Aufl., St. Louis, 746-772
- Roßkopf U. (2007) Validierung der Wirksamkeitsprüfung für Clostridium tetani Impfstoffe ad usum veterinarium durch den direkten Nachweis von Tetanus-Antitoxin im Zieltier mittels ELISA. Gießen, Justus-Liebig-Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.
- Schröder J. P., Kuhlmann W. D. (1991) Tetanusimmunität bei Männern und Frauen in der Bundesrepublik Deutschland. *Immun. Infekt.* 19, 14-17
- Stelzmann M. (2011) Entwicklung eines Schnelltestsystems zum Nachweis von Equinen Antikörpern (IgG) gegen Tetanus. *StlKo Vet.* (2013) Leitlinie zur Impfung von Pferden. 2. Auflage, Beilage zum Deutschen Tierärzteblatt 09/2013, 6-7
- Thein P. (2003) Wie impft man Fohlen richtig? *Tierärztl. Praxis* 31, 231-236
- Thein P. (2007) Schutzimpfungen beim Pferd. *Prakt. Tierarzt* 88 (Suppl. 3), 18-19
- Thein P. (2009) Tetanus bei Pferd und Mensch. *Prakt. Tierarzt, Vet. Kolleg* 90, 36-41
- Thein P. (2011) Zur Tetanuschutzimpfung des Pferdes. *Pferdespiegel* 4, 153-156
- Thein P., Röhm A., Voss J. (2013) Experimentelle Untersuchungen zur Tetanusimmunantwort von Fohlen und erwachsenen Pferden unter Einsatz des Fassisi Tetacheck®. *Pferdeheilkunde* 29, 686-699
- Tizard I. (2000) Immunity in the fetus and newborn. *Veterinary Immunology: an introduction*. W. B. Saunders Company Philadelphia, 6. Aufl., 210-221
- van Galen G., Delguste C., Sandersen C., Verwilghen D., Grulke S., Amory H. (2008) Tetanus in the equine species: a retrospective study of 31 cases. *Tijdschr. Diergeneesk.* 133, 512-517
- Wilson W. D., Mihalyi J. E., Hussey S., Lunn D. P. (2001) Passive transfer of maternal isotype antibodies against tetanus and influenza and their effect on the response of foals to vaccination. *Equine Vet J.* 33, 644-650
- World Health Organization (2006) Tetanus vaccine - WHO position paper. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 81, 197-208