

Les bases immunologiques de la vaccination

3

Le tétanos



Programme élargi
de vaccination



Organisation mondiale de la santé
Genève, 1993

Les bases immunologiques de la vaccination

Module 1 : Immunologie générale

Module 2 : Diphtérie

Module 3 : Tétanos

Module 4 : Coqueluche

Module 5 : Tuberculose

Module 6 : Poliomyélite

Module 7 : Rougeole

Module 8 : Fièvre jaune

Le Programme élargi de vaccination tient à remercier ceux dont l'aide a permis la réalisation de ces modules:

Le Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD)
La Fondation Rockefeller
Le Gouvernement suédois

Les bases immunologiques de la vaccination

3

Le tétanos

Dr Artur M. Galazka

Docteur en médecine

Programme élargi de vaccination



Programme élargi
de vaccination



Organisation mondiale de la santé
Genève, 1993

© Organisation mondiale de la santé 1993

Ce document n'est pas une publication officielle de l'organisation mondiale de la santé (OMS), qui en possède néanmoins tous les droits. Ce document peut toutefois être utilisé, résumé, reproduit et traduit librement, en totalité ou en partie, sauf à des fins commerciales.

Les vues exprimées dans ces documents sont sous la responsabilité de leurs seuls auteurs.

Table des matières

Préface

1. La toxine tétanique	1
2. Anatoxine tétanique et nature de l'immunité envers le tétanos	1
2.1 Immunité induite par l'anatoxine tétanique	1
2.2 Controverses autour de «l'immunité naturelle» envers le tétanos	1
2.3 Hypothèse de la «vaccination transplacentaire»	3
3. Techniques de mesure de la réponse anticorps	3
3.1 Test de neutralisation <i>in vivo</i>	3
3.2 Techniques <i>in vitro</i>	3
3.2.1 Hémagglutination passive	3
3.2.2 ELISA	4
3.2.3 Autres tests	5
4. Taux protecteurs d'anticorps antitétaniques	5
4.1 Taux protecteurs d'antitoxines	5
4.2 Mauvaise utilisation de l'expression taux «protecteur» d'anticorps	6
5. Efficacité de l'anatoxine tétanique	6
5.1 Quelle est l'efficacité de l'anatoxine tétanique?	6
5.2 Echecs de la vaccination avec l'anatoxine tétanique	6
5.3 Facteurs influençant la réponse à l'anatoxine tétanique	8
6. Mise en place de l'immunité après la vaccination	10
6.1 Réponse immunitaire après la vaccination	10
6.2 Durée de l'immunité induite par différents protocoles de vaccination	10
6.3 Immunité antitétanique en fonction de l'âge et du sexe	12

7. Passage transplacentaire de l'antitoxine tétanique.....	13
7.1 Un organe sélectif: le placenta	13
7.2 Passage des antitoxines vers le fœtus: influence du temps espaçant les injections d'AT et importance de l'intervalle de temps entre le dernier rappel et l'accouchement	14
7.3 Influence de l'immunité passive sur l'établissement de l'immunité active	14
8. Sécurité de l'anatoxine tétanique	15
9. Implications pour les programmes de vaccination	17
Abréviations	18
Références	18

Préface

Cette collection de modules sur les bases immunologiques de la vaccination résulte de l'expérience des personnes impliquées dans le Programme élargi de vaccination (PEV) de l'OMS. Le PEV a été mis en place en 1974, pour élargir les services de vaccination à d'autres maladies que la variole, et surtout pour les rendre accessibles aux enfants des pays en développement.

Six maladies pouvant être prévenues par la vaccination ont été incluses dès le début dans le PEV: la diphtérie, la rougeole, la coqueluche, la poliomyélite, le tétanos et la tuberculose. Pour protéger les nouveau-nés contre le tétanos néonatal, l'anatoxine tétanique est administrée aux mères durant leur grossesse, ou aux femmes en âge de procréer.

Deux autres maladies évitables par la vaccination auront été rajoutées au PEV au cours des années 1990. L'Assemblée mondiale de la santé s'est fixé l'objectif d'inclure le vaccin contre la fièvre jaune dans le PEV avant 1993, dans les pays exposés à cette maladie. Le vaccin contre l'hépatite B est rajouté progressivement, avec la date butoir de 1997 pour son incorporation aux programmes de vaccination de tous les pays.

La liste des modules de cette collection figure en deuxième de couverture. Ces ouvrages ont été conçus pour fournir les bases immunologiques des stratégies et des schémas de vaccination recommandés par l'OMS. Ils s'adressent principalement :

- aux responsables des programmes de vaccination, dont les interrogations et les inquiétudes sont à l'origine de cette collection,
- aux consultants et conseillers en vaccinologie,
- aux professeurs d'université responsables de cours de vaccination et aux animateurs de séminaires,
- aux étudiants en médecine et aux étudiants des professions paramédicales, qui en bénéficieront pour leur formation de base,
- aux scientifiques des laboratoires chargés du diagnostic ou impliqués dans la recherche sur les maladies qui peuvent être prévenues par des vaccins, et
- aux chercheurs impliqués dans la recherche fondamentale visant à améliorer les vaccins ou leur administration.

Les autres modules de cette collection, ainsi que les informations sur le PEV sont disponibles auprès du Programme élargi de vaccination, Organisation mondiale de la santé, 1211 Genève 27, Suisse.

Le tétanos

1. La toxine tétanique

Les symptômes cliniques du tétanos sont liés à la production d'une neurotoxine très active: la tétanosspasmine, lors de la croissance de *Clostridium tétani*. Cette bactérie anaérobie n'envahit pas l'organisme et l'infection bactérienne reste localisée. La maladie apparaît généralement suite à l'infection d'une plaie cutanée par des spores de *Cl. tétani*. Ces spores sont transformées en bacilles tétaniques dans le tissu nécrosé, sous une pression réduite en oxygène. Le tétanos néonatal apparaît après la section du cordon ombilical avec un instrument souillé ou lors de l'utilisation au cours des soins, de solutions contaminées avec des spores du bacille tétanique.

La toxine tétanique produite par *Cl. tétani* diffuse vers son site d'action dans le système nerveux central, grâce à un transport rétrograde le long des nerfs. La toxine tétanique est neurotrophe: elle se fixe sur les récepteurs gangliosidiques des terminaisons nerveuses. La toxine, une fois fixée au tissu nerveux, n'est pas affectée par l'antitoxine tétanique. Elle s'accumule dans le système nerveux central et bloque la libération dans les synapses, de neurotransmetteurs inhibiteurs tels que la glycine et l'acide gamma-aminobutyrique.

La toxine tétanique est très toxique; on estime la dose mortelle pour l'homme à moins de 2.5 ng par kilo. Dans la bactérie, elle est synthétisée sous la forme d'une simple chaîne polypeptidique de poids moléculaire de 150 000 d. En laboratoire, elle est obtenue artificiellement à partir d'un surnageant de culture, sous forme de chaînes polypeptidiques légères et lourdes associées par un pont disulfide. Des enzymes telles que la papaïne, dégradent la toxine en fragments polypeptidiques, dont certains ne sont pas toxiques et ont été étudiés pour le développement de vaccins.

2. Anatoxine tétanique et nature de l'immunité envers le tétanos

2.1 Immunité induite par l'anatoxine tétanique

L'anatoxine tétanique est obtenue après inactivation de la toxine par le formol. On utilise pour la vaccination des adultes un vaccin simple avec l'anatoxine tétanique et pour les enfants des vaccins mixtes diphtérie-tétanos-coqueluche (DTC)

ou diphtérie-tétanos (DT). Le vaccin tétanos-diphtérie (Td) pour adulte est constitué d'un taux normal d'anatoxine tétanique et d'une quantité réduite d'anatoxine diphtérique. L'anatoxine tétanique est adsorbée sur des sels d'aluminium (hydroxyde d'aluminium ou phosphate d'aluminium) afin d'accroître son antigénicité. Elle est stable et ne perd pas son potentiel immunogène après plusieurs mois à température ambiante ou après plusieurs semaines à 37°C (Galazka 1989).

Des recherches sont en cours afin d'obtenir une anatoxine tétanique dont une seule injection procurerait une immunité durable. Dans ce but, on étudie la possibilité d'incorporer l'anatoxine tétanique dans des microsphères biodégradables, constituées de polymères bien tolérés par l'organisme. Après l'injection de ces microsphères, l'anatoxine tétanique serait relarguée à partir du site d'injection, à des intervalles de temps prédéterminés.

L'immunité envers le tétanos est médiée par des anticorps. L'anatoxine tétanique induit la formation d'anticorps spécifiques. Ces antitoxines jouent un rôle important car la protection contre le tétanos dépend de leur capacité à neutraliser la toxine tétanique. Les antitoxines tétaniques, comme les antitoxines diphtériques, appartiennent à la classe des IgG; elles passent aisément la barrière placentaire et diffusent à travers le système sanguin et les zones extravasculaires. Elles peuvent neutraliser la toxine tétanique dans une plaie infectée. La vaccination des mères peut protéger le fœtus contre le tétanos néonatal grâce au passage des antitoxines maternelles à travers la barrière placentaire.

Seule la vaccination permet d'induire une immunité envers la toxine tétanique. Lors du tétanos clinique, la guérison ne s'accompagne pas d'une protection contre de futures infections par *Cl. tétani*. En effet, une faible quantité de toxine tétanique, suffisant à provoquer la maladie, ne permet pas de stimuler la production d'anticorps. Aussi les personnes ayant contracté la maladie doivent être vaccinées avec l'anatoxine tétanique au moment du diagnostic ou durant leur convalescence.

2.2 Controverses autour de «l'immunité naturelle» envers le tétanos

Des chercheurs ont avancé l'hypothèse d'une «immunité naturelle». Celle-ci serait induite par une dose sub létale de toxine ou par des fragments

de toxine tétanique produits par des bacilles tétaniques présents dans le tube digestif suite à l'ingestion de spores de *Cl. tetani* (Dastur et al. 1981, Matzkin & Regev 1985, Tenbroeck & Bauer 1923, Veronesi et al. 1975, 1981). Certaines études ont détecté l'antitoxine tétanique dans le sérum de personnes qui n'avaient pas été vaccinées (Tenbroeck & Bauer 1923) ou qui disaient ne pas avoir été vaccinées avec l'anatoxine tétanique (Dastur et al. 1981, Matzkin & Regev 1985, Veronesi et al. 1981, 1983). Des anticorps antitétaniques ont également été détectés dans les sérums d'animaux non vaccinés (Veronesi et al. 1983). La toxine tétanique peut être adsorbée à partir du tractus gastro-intestinal. La vitesse d'adsorption de la toxine dépend de sa concentration, de l'espèce affectée, de son âge et de l'état de la muqueuse (Fedinec 1981). Lorsqu'on nourrit un cobaye avec une suspension de spores de *Cl. tetani* ou avec la toxine tétanique pendant plus de neuf mois, on observe une élévation du taux d'anticorps jusqu'à 0,1 UI/ml (Veronesi et al. 1975).

A propos de « l'immunité naturelle » envers le tétanos, de nombreuses questions restent sans réponse et la plupart des études la mettant en évidence sont critiquables. Les bacilles tétaniques sont largement présents dans la nature et leur présence dans le tube digestif des personnes habitant les pays en développement expliquerait l'hypothèse d'une « immunité naturelle ». Cependant des porteurs digestifs du bacille tétanique ont été observés en Angleterre, aux USA et en Chine. De plus l'état de porteur sain (transitoire ou établi) ne protège pas les animaux contre le tétanos et n'entraîne pas l'apparition de taux sériques d'antitoxine décelables (Coleman 1931).

La théorie de « l'immunité naturelle » repose sur la colonisation de l'intestin par les spores du bacille tétanique. Cependant, selon certaines études, *Cl. tetani* colonise faiblement l'intestin de la souris (Ebisawa 1987) et on trouve fréquemment ce bacille dans l'intestin des chevaux qui sont pourtant extrêmement sensibles à la toxine tétanique lors de l'infection d'une plaie. On connaît peu les facteurs influençant la production de toxine tétanique dans l'intestin, la nature de l'antigène (molécule de toxine entière, toxine détoxiquée dans l'estomac ou fragments de toxine), l'état fonctionnel de la barrière intestinale vis à vis de la toxine, ou son adsorption à partir de l'intestin.

Le manque d'informations concernant la vaccination ne constitue pas une preuve de son absence. De 1962 à 1964, en Nouvelle Guinée, on demanda aux femmes si elles avaient été vaccinées afin de les faire participer à une étude concernant l'anatoxine tétanique lorsqu'elles répondaient négativement. Quelques unes avaient subi une préinjection d'antitoxine, mais les archives cliniques ont mon-

tré qu'elles avaient toutes reçu une injection d'anatoxine tétanique dans les deux ou trois précédentes années. Ainsi dans cette étude, l'immunité de ces femmes vivant dans un milieu fortement contaminé par des spores de bacilles tétaniques avec un fort taux de mortalité liée au tétanos néonatal, était essentiellement due à la vaccination (MacLennan et al. 1981).

Afin de déterminer les anticorps tétaniques, certains chercheurs en faveur de l'existence d'une « immunité naturelle » envers le tétanos, ont utilisé des techniques *in vitro*, telles que l'hémagglutination passive (Dastur et al. 1981, Ray et al. 1978) ou l'ELISA (Matzkin & Regev 1985). Les très faibles titres d'anticorps déterminés par ces méthodes (0,001 à 0,01 UI/ml) pourraient refléter l'activité d'anticorps autres que les antitoxines tétaniques. Des titres aussi bas ne permettent pas d'affirmer l'existence d'une immunité envers le tétanos (confère partie 3). Des études ont mis en évidence l'absence d'antitoxines tétaniques dans les populations de pays en développement fortement exposées aux spores de bacilles tétaniques. Ces études ont été réalisées chez des écoliers africains (Rey 1981), des appelés du contingent en Inde (Menon et al. 1976), des personnes s'occupant de chevaux (Lahiri 1939), des femmes enceintes en Nouvelle Guinée (MacLennan et al. 1965) et des populations en bonne santé de Haute Volta (Bremner et al. 1985).

Si « l'immunité naturelle » avait une signification épidémiologique dans les pays en développement, le pourcentage de personnes immunisées augmenterait avec l'âge. Ce n'est pas le cas (Misra & Rao 1988, Ray et al. 1978). La présence d'anticorps antitétaniques chez les personnes immunisées en bonne santé ne dépend pas de l'âge (Matzkin & Regev 1985).

Les conséquences de « l'immunité naturelle » ne sont pas les mêmes en fonction des différentes hypothèses. Un groupe de chercheurs pense que les personnes ayant acquis une « immunité naturelle » après sensibilisation de contact à la toxine, répondront à une injection parentérale d'anatoxine tétanique comme des personnes vaccinées (Veronesi 1981). D'autres chercheurs avancent l'idée d'un état de tolérance à l'anatoxine tétanique dû à la présence chronique de *Cl. tetani* dans le petit intestin (Dastur et al. 1981). Aucune donnée expérimentale n'est venue confirmer ces hypothèses; la réponse à la primo-vaccination dans les pays en développement ne diffère pas significativement de celle observée dans les pays industrialisés.

Il semble peu probable que « l'immunité naturelle » ait une réelle importance dans le contrôle du tétanos, même si on observe une colonisation asymptomatique ou une infection intestinale par des bacilles tétaniques dans certains pays en développement.

2.3 Hypothèse de la «vaccination transplacentaire»

Lorsqu'une mère est vaccinée, les IgG passent la barrière placentaire et procurent au nouveau-né une immunité passive transitoire contre le tétanos. Afin d'assurer une protection néonatale, certains auteurs proposent une « vaccination transplacentaire ». L'anatoxine tétanique serait transportée à travers le placenta et le foetus serait ainsi immunisé de façon active (Gill *et al.* 1983, 1985, Vanderbeeken *et al.* 1985). La présence d'IgM antitétaniques à la naissance, chez les enfants de mères vaccinées avec l'anatoxine tétanique lors de la grossesse, constitue le principal argument en faveur de cette hypothèse. Cependant lors de ces études, il n'est pas certain que les IgM, mesurées avec une méthode radioimmunologique, soient des anticorps neutralisant la toxine tétanique (confère partie 3). De plus, il semble peu probable que l'anatoxine tétanique adsorbée, insoluble injectée à la mère, puisse traverser la barrière placentaire et passer dans la circulation sanguine du foetus pour atteindre son système lymphatique. Il n'y a pas de preuve expérimentale en faveur d'une immunisation active du foetus suite au transfert transplacentaire de l'anatoxine tétanique.

3. Techniques de mesure de la réponse anticorps

La toxine tétanique n'entraîne pas de nécrose de la peau chez l'homme ou d'effets cytopathogènes sur des tissus en culture. On ne peut donc pas utiliser des tests basés sur ces propriétés - si importantes dans le cas de la diphtérie - pour mesurer les activités des anticorps antitétaniques. On utilisera des méthodes *in vivo* ou *in vitro*.

3.1 Test de neutralisation *in vivo*

Le test de neutralisation *in vivo* mesure directement l'activité biologique de l'antitoxine tétanique. Il met en évidence la capacité d'un sérum d'animal de laboratoire, généralement la souris, à neutraliser la toxine. Ce test de neutralisation est cher, long, requiert un personnel très expérimenté, un grand nombre d'animaux et une assez grande quantité de sérum. Il est cependant sensible et permet la détection de taux d'antitoxine de l'ordre du millième d'UI/ml. Ce test est avant tout une détermination des antitoxines sériques de type IgG.

Les méthodes de titrage de l'antitoxine tétanique sont réparties en trois groupes (Peel 1980). Les techniques du premier groupe reposent sur l'existence d'une relation étroite entre le moment du décès de la souris et la concentration en toxine non

neutralisée encore présente dans le mélange sérum/toxine. Le moment exact de la mort de la souris est déterminé sur une période de cinq jours après injection d'une préparation contenant différentes dilutions de sérum et une quantité connue de toxine. Un système de valeurs logarithmiques (facteur de correction) permet d'extrapoler le titre d'antitoxine en fonction de l'heure de la mort (Galuzka *et al.* 1971, Ipsen 1942, Kyselova *et al.* 1968). Cette méthode requiert peu de matériel mais nécessite de fréquentes observations pendant cinq jours.

Le second groupe de techniques est basé sur les pourcentages de souris mortes et vivantes après l'injection d'un mélange sérum/toxine, au bout d'un temps donné, en général quatre jours (Barile *et al.* 1970, Eckmann 1963, Glenny & Stevens 1938, Gottlieb *et al.* 1964, Wilkins & Tasman 1959). Cette méthode présente le principal désavantage de nécessiter une quantité relativement importante de sérum (1 à 2 ml), lorsque la concentration sérique d'antitoxine est faible.

Le troisième groupe de techniques s'appuie sur la distinction entre une paralysie des pattes de la souris et une complète neutralisation des symptômes du tétanos, après injection d'un mélange sérum/toxine. L'évaluation de ce type de résultats s'avère difficile et imprécise car la distinction entre une complète neutralisation et une faible paralysie varie en fonction de l'observateur. Cette méthode nécessite une faible quantité de sérum mais détecte seulement les titres supérieurs ou égaux à 0,02 UI/ml (Chen *et al.* 1956, Taylor & Moloney 1960).

La nature de la toxine utilisée (purifiée ou non), la quantité de toxine utilisée dans le test (L+) et le poids des souris influencent la précision et la sensibilité de ces tests de neutralisation (Gupta *et al.* 1985, Peel 1980).

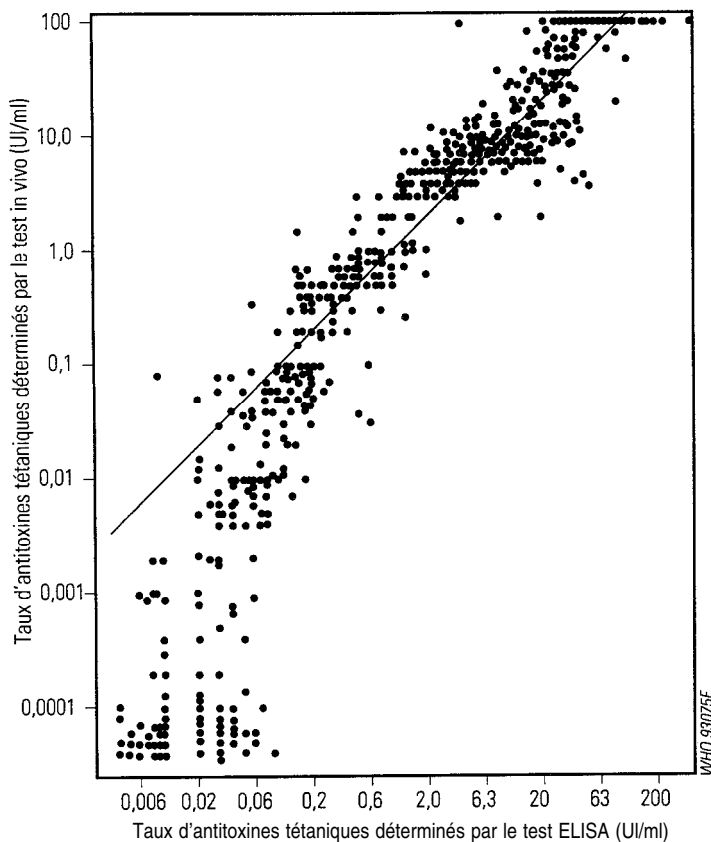
3.2 Techniques *in vitro*

L'hémagglutination passive (HA), les tests ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) ou radio-immunologiques (RIA) permettent de mesurer *in vitro*, les interactions entre les anticorps antitétaniques et la toxine tétanique (ou l'anatoxine). Ces techniques sont simples, sensibles, rapides et peu coûteuses, mais sont généralement moins spécifiques que les tests de neutralisation *in vivo*. En effet ces techniques *in vitro* détectent plus facilement les anticorps IgM que les anticorps IgG, notamment au début de la réponse primaire. Les résultats de ces méthodes *in vitro* doivent être utilisés avec précaution et vérifiés avec les méthodes de neutralisation *in vivo*.

3.2.1 Hémagglutination passive

Le principe du test d'hémagglutination passive (HA) est simple; en présence d'anticorps antitétaniques on observe une agglutination spécifique

Figure 1. Taux d'antitoxines tétaniques déterminés par ELISA et test *in vivo* dans 727 sérums (Simonsen et al. 1986).



des globules rouges sensibilisés à l'anatoxine tétanique. On a beaucoup utilisé le test HA pour évaluer le statut immunitaire en fonction de l'âge, du sexe, de la classe socio-économique et professionnelle (Aguzzi et al. 1980, Bistoni et al. 1978, Chapman & Davis 1973, Crossley et al. 1979, Fara et al. 1980, Galazka & Kardymowicz 1989, Gold et al. 1973, Kishimoto et al. 1980). Ce test a également permis d'estimer la durée de l'immunité après la vaccination (D'Arca et al. 1980, Ribero et al. 1980) et de comparer l'efficacité de différents vaccins et schémas de vaccination (Durand et al. 1978, Feeley et al. 1979, Gasparini et al. 1980, Nazari et al. 1976, Ruben et al. 1978, Thorley et al. 1975). On a aussi utilisé cette méthode pour tester les sérums ou les plasmas destinés à la production d'immunoglobulines humaines antitétaniques (Rubin et al. 1980) et pour détecter les anticorps antitétaniques chez les blessés (Bytchenko 1975, Galazka et al. 1971).

Un personnel entraîné aux techniques de base de laboratoire peut effectuer ce test avec peu d'équipement et des résultats sont obtenus dans l'heure qui suit (Galazka et al. 1971, Pitzurra et al. 1983).

Le test HA présente le principal désavantage de reconnaître de façon préférentielle les IgM, qui sont incapables de neutraliser la toxine tétanique (Ourth & MacDonald 1977) mais s'associent à

l'anatoxine tétanique et donnent un test HA faussement positif. Il existe une bonne corrélation entre le test HA et le test de neutralisation, mais des études ont mis en évidence pour un même sérum testé avec les deux techniques, des résultats différant d'un rapport dix ou plus. Ces différences sont d'autant plus marquées que les titres d'anticorps sont bas.

3.2.2 ELISA

Lors de l'ELISA indirect, l'anticorps antitétanique du sérum à tester, forme un complexe avec l'anatoxine tétanique adsorbée passivement sur une surface plastique. Puis un anticorps couplé à un enzyme, dirigé contre l'anticorps antitétanique (habituellement un anti-IgG) se lie au complexe antigène-anticorps. La disparition du substrat de l'enzyme reflète la quantité d'enzyme lié et par conséquent la concentration d'anticorps antitétaniques dans le sérum testé. En général on choisit un substrat qui change de couleur après la réaction enzymatique afin de permettre une mesure visuelle ou photométrique. On utilise régulièrement l'ELISA pour déterminer les titres d'anticorps antitétaniques (Lau 1987, Layton 1980, Sedgwick et al. 1983, Simonsen et al. 1986b). Une simple modification de ce test permet une estimation rapide de l'immunité antitétanique d'un blessé (Chandler et al. 1984).

L'ELISA donne souvent des valeurs plus élevées que celles obtenues avec les tests *in vivo*, et de ce fait n'est pas fiable pour les personnes ayant une vaccination incomplète (Brabin et al. 1984, Gentili et al. 1985, Melville et al. 1983). Ces résultats sont probablement dus à la présence d'anticorps non spécifiques ou de faible avidité. L'importance de ces déviations est inversement proportionnelle au titre d'anticorps neutralisants dans les échantillons. On a déterminé à 0,16 UI/ml la plus faible valeur obtenue par ELISA permettant d'estimer l'activité protectrice du sérum, sans tenir compte d'une vaccination antérieure (Figure 1).

L'ELISA indirect a été modifié afin de réduire la surestimation des titres sériques d'anticorps antitétaniques lorsque ceux-ci sont faibles. Ce nouveau test, appelé ELISA compétitif, repose sur la différence de liaison de l'antitoxine à l'anatoxine ou à la toxine lorsque celle-ci est d'une part absorbée à la surface d'une microplaque, d'autre part en solution (Fey & Stiffler-Rosenberg 1977, Simonsen et al. 1987b). Lors de cet ELISA compétitif, l'anticorps réagit avec l'anatoxine en solution, et ne peut donc se lier à l'anatoxine adsorbée. Cette méthode est appelée ELISA compétitif car il y a compétition entre l'antigène libre en solution et l'antigène adsorbé sur la microplaque. Il existe une bonne corrélation entre les résultats de ce test et ceux obtenus avec les techniques de neutralisation *in vivo*.

Le test d'inhibition de liaison de la toxine (ToBI) est aussi une version modifiée du test ELISA. La toxine tétanique est incubée avec des dilutions de sérum, puis ce mélange est mis en présence de l'antitoxine adsorbée dans les puits d'une microplaque (Hendriksen *et al.* 1988, 1989). Ce test ressemble au test de neutralisation car il est basé sur la détection de la toxine non liée dans un mélange toxine-antitoxine. La différence entre ces deux tests repose sur la façon dont la toxine libre est détectée: dans le test ToBI, elle est détectée par le complexe antitoxine liée à un enzyme permettant sa mesure; tandis que dans le test de neutralisation, les effets toxiques sont directement observés chez les souris.

Comparé à l'ELISA standard, le test ToBI permet d'obtenir de meilleures corrélations avec les tests *in vivo*. Cependant en raison de l'utilisation relativement récente de ces tests, des données supplémentaires sont nécessaires pour les comparer avec les tests *in vivo*, notamment lorsque le titre sérique est bas.

3.2.3 Autres tests

Les titres d'anticorps antitétaniques ont aussi été déterminés par des tests radio-immunologiques (RIA). Ces derniers ont subi plusieurs modifications. Panatoxine tétanique peut être liée à un support insoluble tel la cellulose ou l'agarose (Stiffler-Rosenberg & Fey 1975) ou adsorbée de façon passive à une surface plastique comme dans le test ELISA. Les anticorps spécifiques (antitoxines tétaniques) se lient à l'antigène adsorbé. Une antiglobuline humaine marquée par un isotope reconnaît alors les complexes antigène-anticorps ainsi formés, et permet leur quantification. Le test RIA présente une sensibilité élevée et ses résultats concordent avec ceux du test HA (Wang *et al.* 1982) et de l'ELISA (Layton 1980, Stiffler-Rosenberg 1977). Cependant, d'une part les réactifs et l'équipement nécessaire au test RIA sont chers, d'autre part le marquage isotopique pouvant décroître rapidement, la durée de détection du conjugué est courte. Cette technique nécessite un personnel hautement qualifié et la manipulation de substances radioactives constitue un danger potentiel.

L'agglutination sur latex et les différentes méthodes de diffusion en gel sont des techniques simples et économiques, mais moins sensibles. Elles peuvent être utiles pour la détection de titres élevés d'antitoxine chez les donneurs de sang pour la production d'immunoglobulines antitétaniques humaines.

4. Taux protecteurs d'anticorps antitétaniques

4.1 Taux protecteurs d'antitoxines

On ne connaît pas avec certitude la quantité d'antitoxines circulantes nécessaire à une immunité totale envers le tétanos. La détermination d'un taux fixe d'antitoxine tétanique ne prend pas en considération les différentes conditions de production et d'adsorption de la toxine tétanique dans les zones anaérobies d'une plaie ou d'une nécrose ombilicale. En présence d'une forte dose de toxine, un titre sérique donné peut ne pas être protecteur. Il n'y a donc pas de taux protecteur absolu. On observe une protection lorsqu'il y a suffisamment d'anticorps neutralisant la toxine, par rapport à la quantité de toxine (Passen *et al.* 1986).

Lors de l'évaluation des conséquences d'une infection avec des spores de bacilles tétaniques, la mémoire immunologique et la rapidité de la réponse immunitaire à des rappels avec l'anatoxine tétanique peuvent être aussi importants que les taux d'anticorps circulants.

Ainsi, bien que le rôle protecteur de l'antitoxine tétanique ait été bien étudié, il est arbitraire de préciser un taux protecteur. La concentration d'antitoxine tétanique s'exprime en unités internationales (UI) et on considère le taux protecteur minimum à 0,01 UI/ml de sérum. Cette valeur a été déterminée d'après les résultats d'études chez l'animal pour lesquelles on observe une corrélation entre les concentrations d'antitoxine et les symptômes cliniques du tétanos ou le décès. On a peu de données expérimentales chez l'humain et il est rare d'observer directement des taux protecteurs d'anticorps.

Wolters et Dehmel se sont eux-mêmes injectés une dose de toxine tétanique équivalente à 2 ou 3 doses humaines (calculée en fonction de leur poids, selon des expériences réalisées chez le cobaye). Leur concentration sérique post-vaccinale d'anticorps était de 0,004 à 0,005 UI/ml et ils n'ont pas souffert du tétanos après l'injection intramusculaire de la toxine tétanique (selon Ullberg-Olson 1976). Ne sachant pas quelle est la « dose humaine » de toxine tétanique nécessaire à l'apparition du tétanos, il est difficile d'interpréter cette expérience extraordinaire.

On a observé par au moins trois fois, un tétanos clinique chez des personnes ayant des titres d'antitoxine supérieurs à 0,01 UI/ml. Goulon *et al.* (1972) ont étudié les titres sériques d'anticorps neutralisants de 64 patients atteints du tétanos, avant sérothérapie. Pour 54 malades (84%), le titre était inférieur à 0,01 UI/ml, mais 9 patients possédaient un titre entre 0,01 et 0,1 UI/ml, et l'un des malades avait un titre entre 0,1 et 1 UI/ml. La

Tableau 1. Détermination du taux de mortalité liée au tétanos néonatal et évaluation de l'efficacité préventive de deux doses d'anatoxine tétanique, lors d'études de population dans 6 pays.

Pays	Nb de naissances	Taux de mortalité liée au tétanos néonatal pour 1000 naissances			Efficacité de l'AT2 (%)	Référence
		Taux global	Taux de tétanos néonatal nés de mères			
			vaccinées	non vaccinées		
Birmanie	6 000	6,8	1,5	11,1	86	Stroh et al. 1986
Egypte	12 000	4,8	0,8	6,0	88	EPI 1987
Ethiopie	2 010	4,5	0	5,8	100	Maru et al. 1988
Inde	4 344	3,5	1,3	6,1	79	Kumar et al. 1986
Indonésie	4 971	10,7	1,4	12,5	89	Arnold et al. 1986
Iran	2 655	6,0	0	9,2	100	Sadeghi-Hasanbadi 1987

gravité de la maladie était inversement proportionnelle au taux d'anticorps. En effet, la forme la plus grave et les 5 décès ont été observés dans le groupe de patients dont le taux d'antitoxine était égal ou inférieur à 0,002 UI/ml.

Berger et al. (1978) ont rapporté un titre d'antitoxine de 0,04 UI/ml chez un patient, au tout début de la maladie. Passen et al. (1986) ont décrit un cas de tétanos grave et généralisé chez une personne qui avait eu une vaccination complète pendant l'enfance et deux rappels huit et quatre ans avant la maladie. Le titre d'antitoxine était de 0,16 UI/ml au début de la maladie. Compte tenu de la courte durée d'incubation, de la progression rapide des symptômes vers des spasmes généralisés et de la gravité de l'état du patient à son admission, ses chances de guérison semblaient faibles. Sa survie et sa guérison rapide ont peut-être été le résultat de la préexistence d'anticorps neutralisants assurant une protection partielle, de la bonne réponse immunitaire aux injections d'anatoxine durant la phase aiguë de la maladie, du jeune âge et du bon état général du malade.

4.2 Mauvaise utilisation de l'expression taux «protecteur» d'anticorps

Le terme « taux protecteur » est souvent mal employé car il signifie que le taux de 0,01 UI/ml déterminé par HA, ELISA ou RIA est identique au taux déterminé par le test de neutralisation. Ceci n'est pas toujours vrai car les méthodes *in vitro* incluant le test HA et ELISA classique tendent à surestimer des titres qui sont alors considérés comme protecteurs (confère partie 3.2). L'utilisation du terme « taux protecteur » est particulièrement risquée lors des études concernant l'immunité naturelle ou lors de l'estimation des titres individuels chez des blessés. Lors de l'utilisation de tests

in vitro, il est alors plus judicieux d'utiliser un taux d'anticorps équivalent à 0,01 UI/ml déterminé par la méthode *in vivo*. Ce taux varie en fonction du test utilisé (ELISA compétitif ou test ToBI). En général 0,1 UI/ml constitue une estimation sûre.

5. Efficacité de l'anatoxine tétanique

5.1 Quelle est l'efficacité de l'anatoxine tétanique?

De nombreuses études cliniques sur le terrain et en milieu hospitalier ont démontré sans ambiguïté l'efficacité de l'anatoxine tétanique. En 1960, dans une région rurale de Colombie, une étude réalisée en aveugle sur le terrain a montré que l'administration de l'anatoxine adsorbée à des femmes en âge de procréer assurait une bonne immunité envers le tétanos néonatal. Le taux de mortalité liée au tétanos chez les enfants appartenant au groupe témoin était de 78 pour 1000 naissances, tandis que dans le groupe des mères ayant reçu deux à trois doses d'anatoxine, il n'y a pas eu de cas de tétanos néonatal (Newell et al. 1966, 1971). La mise en place de programmes de vaccination pour les femmes en âge d'avoir des enfants et en particulier les femmes enceintes, a permis de diminuer la mortalité liée au tétanos néonatal au Bangladesh (Black et al. 1980, Rahman et al. 1982), en Haïti (Berggren et al. 1983), au Mozambique (Cliff 1985, Programme élargi de vaccination 1988), et au Sri Lanka (Programme élargi de vaccination 1982). L'étude de la mortalité liée au tétanos néonatal chez les enfants nés de mères vaccinées ou non, fournit des informations qui permettent d'évaluer l'efficacité du vaccin antitétanique. Dans la plupart des études cette efficacité se situe entre 80 et 100% (Tableau 1)

Tableau 2. Cas de tétanos et décès observés chez des personnes vaccinées avec l'anatoxine tétanique, de 1946 à 1992.

Reference	Etat de la vaccination antitétanique	Nb de cas	Nb de décès
Boyd 1946	Primo-vaccination ou vaccination incomplète	7	3
	Rappel(s) de routine	9	2
	Rappel d'urgence	1	0
Hall 1948	Incertain	1	1
	Primo-vaccination	1	0
	Rappels d'urgence	1	0
Hedrick 1951	Primo-vaccination	1	0
	Rappel de routine	1	0
Boyer et al. 1953	Primo-vaccination ou vaccination incomplète	9	7
	Un rappel 3 ans avant	1	1
Long 1954	Primo-vaccination	2	0
	Rappel de routine, 3 mois avant	1	0
	Rappel d'urgence	4	2
Moss et al. 1955	Rappel de routine	2	1
	Rappel d'urgence	1	0
Christensen & Thurber 1957	Primo-vaccination 10 ans avant	1	0
Peterson 1965	Rappel d'urgence	1	0
Spittle 1973	Plusieurs rappels	1	0
Berger et al. 1978	Incertain		
	Primo-vaccination 15 ans avant	1	0
Baptist 1984	Primo-vaccination incomplète	1	1
Passen et al. 1986	Rappels 8 et 4 ans avant	1	0

5.2 Echecs de la vaccination avec l'anatoxine tétanique

La vaccination avec l'anatoxine tétanique constitue l'une des plus efficaces méthodes de prophylaxie, cependant on a apparemment observé plusieurs échecs (Tableau 2). Dans son excellente revue (1959), Edsall note l'absence de documentation dans certaines de ces études. En effet dans quelques cas d'échec, la vaccination n'avait pas été complète et les cas de tétanos sont apparus des années après la primo-vaccination. Seuls quelques uns des malades avaient eu des injections de rappel.

Récemment, le nombre de rapports concernant l'incapacité de la vaccination antitétanique des mères à prévenir le tétanos néonatal a augmenté en Afrique et en Asie. Ces informations proviennent d'études en milieu hospitalier (Tableau 3). La vaccination s'étendant, la proportion de cas de tétanos néonatal chez des enfants nés de mères vaccinées est plus importante, même si l'efficacité de l'anatoxine est très bonne. En Inde, le nombre de cas de tétanos néonatal est passé de 88 en 1984 à 19 en 1989, cependant la proportion de mères vaccinées avec au moins deux doses d'anatoxine

ayant pourtant un enfant atteint de tétanos néonatal était de 20% en 1987 et de 32% en 1989 (*Deivanayagam et al. 1991*). Dans ce pays, de 1984 à 1989, la vaccination antitétanique a augmenté de 33% à 69%. Les mêmes changements ont été observés au Sénégal (*Diop et al. 1991*).

Ces cas de tétanos néonatal chez des enfants nés de mères se disant vaccinées, peuvent s'expliquer de diverses façons:

1. Passé vaccinal imprécis. Il est souvent basé sur les affirmations verbales de ces femmes et non sur des documents écrits. Dans plusieurs de ces pays, les femmes ne possèdent pas de certificats de vaccination ou les ont perdus. Dans certains pays, les femmes enceintes reçoivent de nombreuses injections n'ayant rien à voir avec la vaccination antitétanique et entraînant des confusions à propos de leur état immunitaire vis à vis du tétanos.
2. Schéma de vaccination inadapté. De nombreuses femmes enceintes déclarent leur état trop tardivement. Par conséquent la vaccination ne débute pas à temps et la seconde dose d'anatoxine est administrée trop près du terme pour permettre à la mère de développer une

Tableau 3. Passé vaccinal avec l'anatoxine tétanique (AT) des mères dont les bébés ont eu un tétanos néonatal (TN).

Pays	Référence	Nb de TN étudiés	Passé vaccinal maternel: Nb de doses d'AT			
			0	1	2	3
Angola	Grudeborn 1987	199	188	0	11 ^a	0
Egypte	El-Sherbini 1991	74	55	19	0	0
Egypte	Gad et al. 1986	324	324	0	0	0
Inde	Bildhaiya 1983	74	73	0	0	1 ^b
Inde	Deivanayagam et al. 1991	19	13	0	3 ^c	3 ^c
Inde	Ghosh 1990	30	21	5	4	0
Inde	Kumar et al. 1988	385	363	0	22 ^d	0
Inde	Mathur et al. 1980	50	50	0	0	0
Inde	Verma et al. 1989	76	49	5	12 ^e	10
Mozambique	Cliff 1985	175	173	0	2	0
Nigeria	Einterz & Bates 1991	237	234	"plusieurs"	1	0
Nigeria	Grange 1991	419	411	8	0	0
Nigeria	Owa & Makinde 1990	52	35	5	11	1
Nigeria	Oyedeyji et al. 1982	104	97	3	3	1

^a Vaccinée durant la grossesse avec AT.

^b Vaccinée durant l'enfance avec le vaccin DCT.

^c 3 femmes ont reçu deux doses d'AT la seconde dose ayant été administrée lors du neuvième mois de grossesse, chez deux d'entre elles. 3 femmes ont reçu trois doses d'AT, la troisième dose ayant été administrée lors du neuvième mois de grossesse chez l'une d'entre elles.

^d 22 mères ayant une vaccination complète.

^e Une mère a reçu la seconde dose deux jours avant le terme.

réponse immunitaire qui protégerait le nouveau-né.

3. Faible potentiel immunogène du vaccin. L'anatoxine tétanique peut être inefficace s'il y a eu des problèmes de production, de stockage ou de transport. On connaît au moins un pays en développement où des données épidémiologiques et expérimentales ont montré qu'une anatoxine tétanique produite localement avait un potentiel immunogène inférieur à la normale.
4. Réponse immunitaire maternelle faible. La plupart des études réalisées dans les pays en développement indiquent que deux doses d'anatoxine suffisent à stimuler la production d'anticorps antitétaniques à un niveau considéré comme protecteur chez 80% des femmes. Cependant certaines mères présentent des titres inférieurs au taux protecteur (« faibles répondants » - voir partie 6.1).
5. Mauvais passage transplacentaire. Selon de récentes études, les mères, dans certaines régions, possèdent de très forts titres d'anticorps en raison d'une constante stimulation antigénique. Dans ce cas, le passage

transplacentaire des immunoglobulines pourrait être plus lent, laissant ainsi le nouveau-né mal protégé.

6. Exposition trop importante à la toxine. Parfois lorsque la contamination au niveau de la section du cordon ombilical est très élevée, l'immunité peu élevée du nouveau-né, induite par deux doses de vaccin administrées à la mère, ne suffit pas à neutraliser la trop importante quantité de toxine tétanique produite.

5.3 Facteurs influençant la réponse à l'anatoxine tétanique

Le paludisme et le SIDA peuvent altérer la réponse immunitaire à l'anatoxine tétanique. Le paludisme est présent à l'état endémique dans de nombreuses régions où le tétanos néonatal est répandu.

Selon certaines études, la réponse à la vaccination antitétanique est aussi bonne chez les femmes enceintes souffrant de paludisme que chez les femmes en bonne santé ne portant pas d'enfants (*Brabitz et al. 1984*). D'autres analyses n'ont pas montré de différences dans la réponse à l'anatoxine tétanique

entre des personnes ayant reçu un traitement préventif à long terme contre le paludisme et des sujets témoins (Gilles *et al.* 1983, Monjour *et al.* 1982). Cependant, on a observé une diminution de la réponse immunitaire après deux doses d'anatoxine tétanique chez des enfants atteints d'un accès de fièvre paludéenne (Edsall *et al.* 1975, Greenwood *et al.* 1972).

Pour les personnes souffrant du SIDA, l'inefficacité de la vaccination constitue le problème principal. L'infection par le VIH entraîne des désordres immunologiques dont, une hypergammaglobulinémie, une diminution des lymphocytes CD4, une faible réponse des lymphocytes T à une stimulation mitogène et une altération de l'immunité humorale. Ces malades ont une réponse anticorps primaire et secondaire anormale et ceci diminue l'efficacité de la vaccination. Ces anomalies de la réponse immunitaire s'aggravent avec la progression de la maladie (Blanche *et al.* 1986). L'infection par le VIH affecte la réponse immunitaire à l'anatoxine tétanique lorsque le premier contact avec l'anatoxine est établi après l'infection, mais elle n'altère pas de façon aussi importante la réponse des lymphocytes « éduqués » avant l'infection (Borkowsky *et al.* 1987). Les effets de l'infection par le VIH sur la réponse anticorps seront plus prononcés chez les enfants, avant même que les symptômes immunitaires soient apparents, car ils ont un répertoire d'anticorps plus limité (Pinching 1991). Chez ces enfants, la réponse anticorps aux anatoxines tétaniques et diphtériques, et au vaccin pneumocoque, est absente ou très faible par rapport à celle observée chez les enfants témoins d'un même groupe d'âge (Bernstein *et al.* 1985, Borkowsky *et al.* 1987, Blanche *et al.* 1986). Au contraire, les parents de ces enfants, également infectés par le VIH possèdent des taux protecteurs d'anticorps antitétaniques et antidiphtériques, conséquences de la vaccination dans leur enfance (Borkowsky *et al.* 1987). Selon de récentes études, la plupart des enfants infectés par le VIH durant la période périnatale ont une bonne réponse immunitaire antitétanique et antidiphtérique durant les deux premières années de leur vie. Puis ces taux d'anticorps chutent rapidement entre l'âge de deux et quatre ans (Borkowsky *et al.* 1992).

La réponse antitétanique varie chez les adultes infectés par le VIH. On a observé une diminution de la réponse au rappel antitétanique chez ces adultes, présentant (Opravil *et al.* 1991) ou non (Teeuwssen *et al.* 1987) les symptômes du SIDA. Une autre étude a montré que les réponses anticorps à la vaccination antitétanique chez 21 recrues militaires infectées par le VIH étaient identiques à celles observées chez des témoins non infectés. Cependant, seulement 11 parmi ces 21 militaires avaient une réponse sérologique antidiphtérique comparable à celle de 18 témoins

parmi 21 (Rhoads *et al.* 1987). En Afrique et en Haïti, après l'administration de deux doses d'anatoxine pendant la grossesse, les femmes séropositives ont les mêmes titres d'anticorps antitétaniques que les femmes séronégatives (Baende *et al.* 1989 - selon Onorato & Markowitz 1992, Halsey *et al.* 1988).

On conseille la vaccination avec l'anatoxine tétanique sous forme de vaccin simple ou mixte, pour les enfants et les adultes infectés par le VIH, sans prendre en compte la présence ou non des symptômes du SIDA. On fait la même recommandation pour toutes les préparations vaccinales à base de virus et de bactéries inactivées.

6. Mise en place de l'immunité après la vaccination

6.1 Réponse immunitaire après la vaccination

La Figure 2 représente les titres d'antitoxines de l'adulte après la primo-vaccination et les rappels avec l'anatoxine tétanique. Le niveau et la durée de l'immunité augmentent avec le nombre d'injections d'anatoxine. La protection obtenue avec une seule dose d'anatoxine est faible ou inexistante. Deux à quatre semaines après la seconde injection, le taux moyen d'anticorps antitétaniques dépasse le taux protecteur minimum à 0,01 UI/ml, bien que le pourcentage de personnes faiblement immunisées (« faibles répondeurs ») soit encore de 10%. L'immunité diminue avec le temps. Un an après, le pourcentage d'individus peu immunisés peut atteindre 20% et le titre moyen d'anticorps décroît vers un seuil. Chez les papous de Nouvelle-Guinée, 78% des femmes vaccinées durant leur grossesse avec deux doses de 10 Lf d'anatoxine tétanique adsorbée, avaient un taux d'anticorps supérieur à 0,01 UI/ml pendant au moins trois ans avec un titre moyen de 0,03 UI/ml (Figure 3).

Le risque de tétanos est plus élevé pour les enfants dont les mères ont une faible réponse immunitaire. Pour cette raison, il est nécessaire d'administrer une troisième dose d'anatoxine lors de la grossesse suivante ou 6 à 12 mois après les deux premières injections.

Une troisième dose d'anatoxine induit une très forte production d'antitoxines, avec des titres moyens variant de 1 à 10 UI/ml. Dans ce cas, l'immunité est élevée et de longue durée. Un mois après la troisième injection, le pourcentage de faibles répondeurs est négligeable et les taux protecteurs se maintiennent pendant au moins cinq ans.

Après cette troisième dose, chaque injection supplémentaire, espacée d'au moins un an, augmente le taux d'antitoxine et prolonge la durée de l'im-

Figure 2. Réponse anticorps à l'anatoxine tétanique (AT).

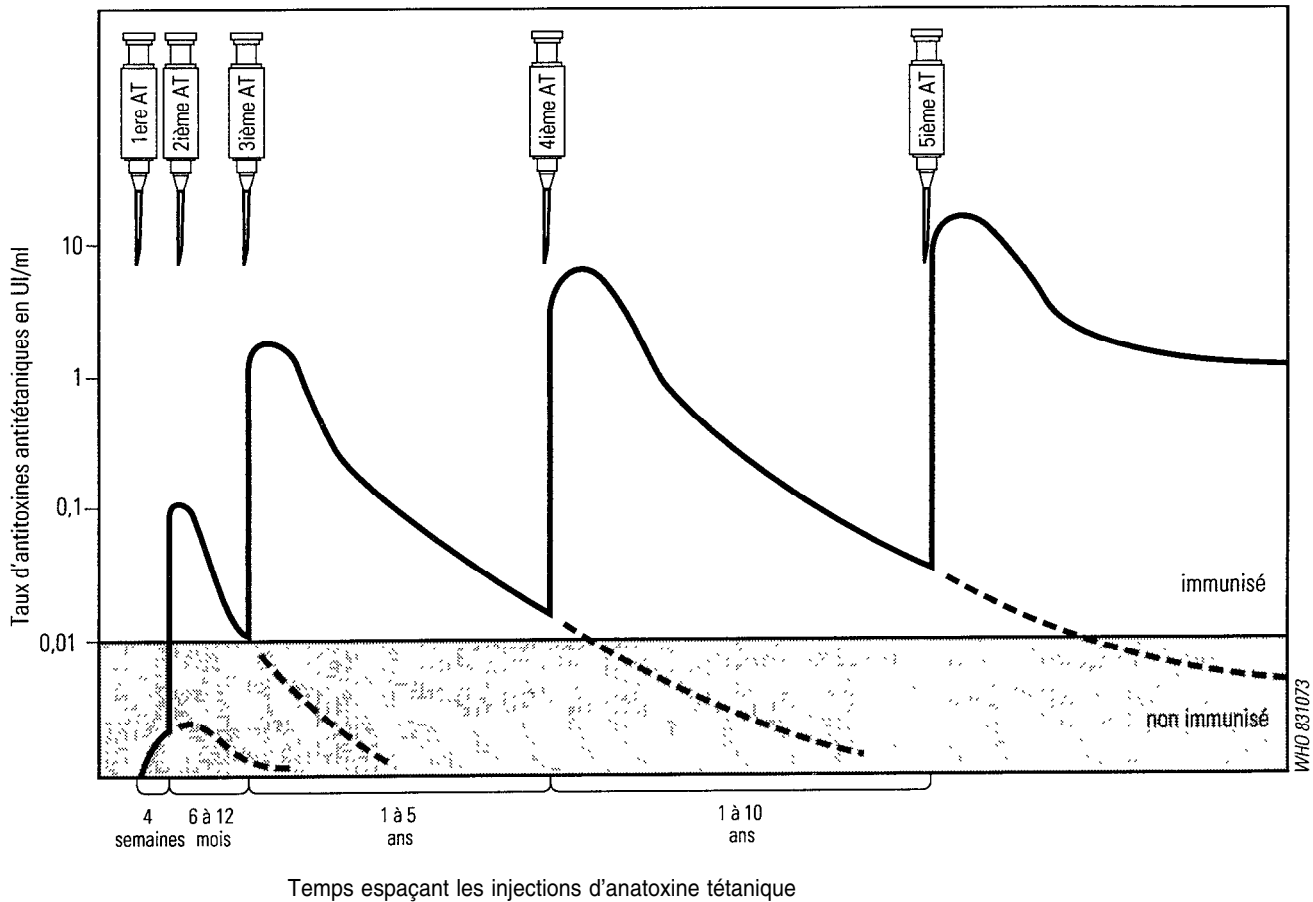
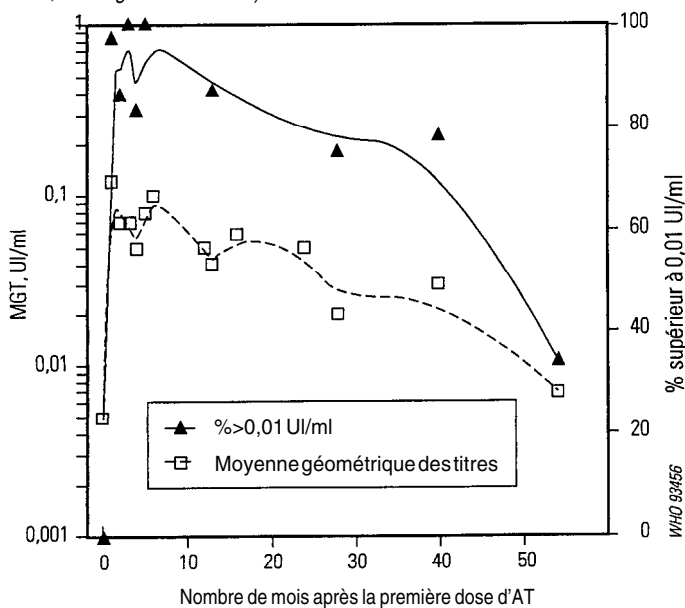


Figure 3. Titre moyen d'anticorps et pourcentage de femmes enceintes ayant un titre supérieur ou égal à 0,01 UI/ml, après deux injections d'anatoxine tétanique, en Papouasie-Nouvelle-Guinée (MacLennan et al. 1965, Hardegree et al. 1970).



munité. L'immunité durera 10 ans après la quatrième injection, et au moins vingt ans après la cinquième.

Chez les enfants, les trois premières doses de vaccin DTC, induisent un titre d'anticorps supérieur au minimum protecteur avec un titre moyen supérieur à 0,2 UI/ml (Anderson et al. 1988, Barkin et al. 1984, Edwards et al. 1989, Kimura et al. 1991, Pichichero et al. 1986). Mis à part le nombre d'injections, les facteurs influençant l'importance de la réponse immunitaire des enfants et des adultes seront présentés dans la partie 7.

6.2 Durée de l'immunité induite par différents protocoles de vaccination

La vaccination des enfants avec 3 injections de DTC leur assure une protection contre le tétanos sur un an à trois ans (Figure 4). On considère généralement que ces trois doses administrées à l'enfant correspondent à deux doses chez l'adulte. Un quatrième rappel entre l'âge de 15 et 24 mois renforce l'immunité de l'enfant contre le tétanos et la prolonge pour cinq nouvelles années, i.e. jusqu'à l'âge de 6 ou 7 ans. Lors de l'entrée à l'école, un cinquième rappel antitétanique (sous forme de

Figure 4. Influence des différents schémas de vaccination sur la durée de l'immunité antitétanique

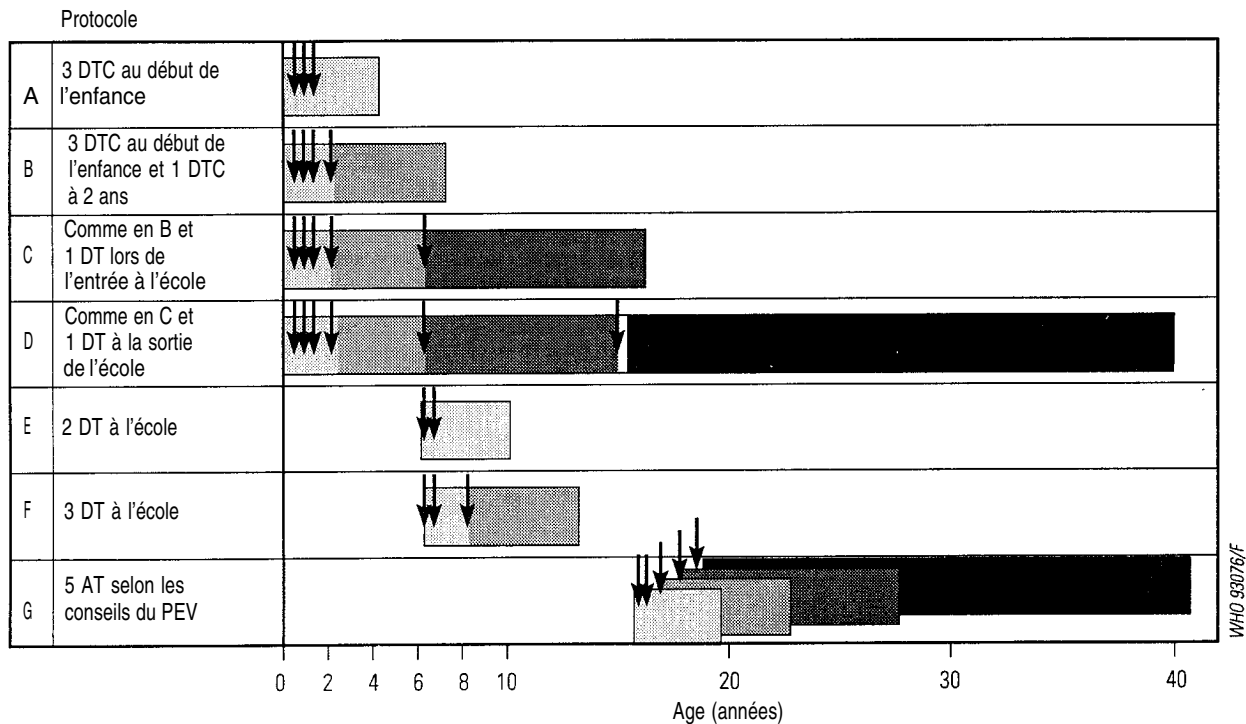
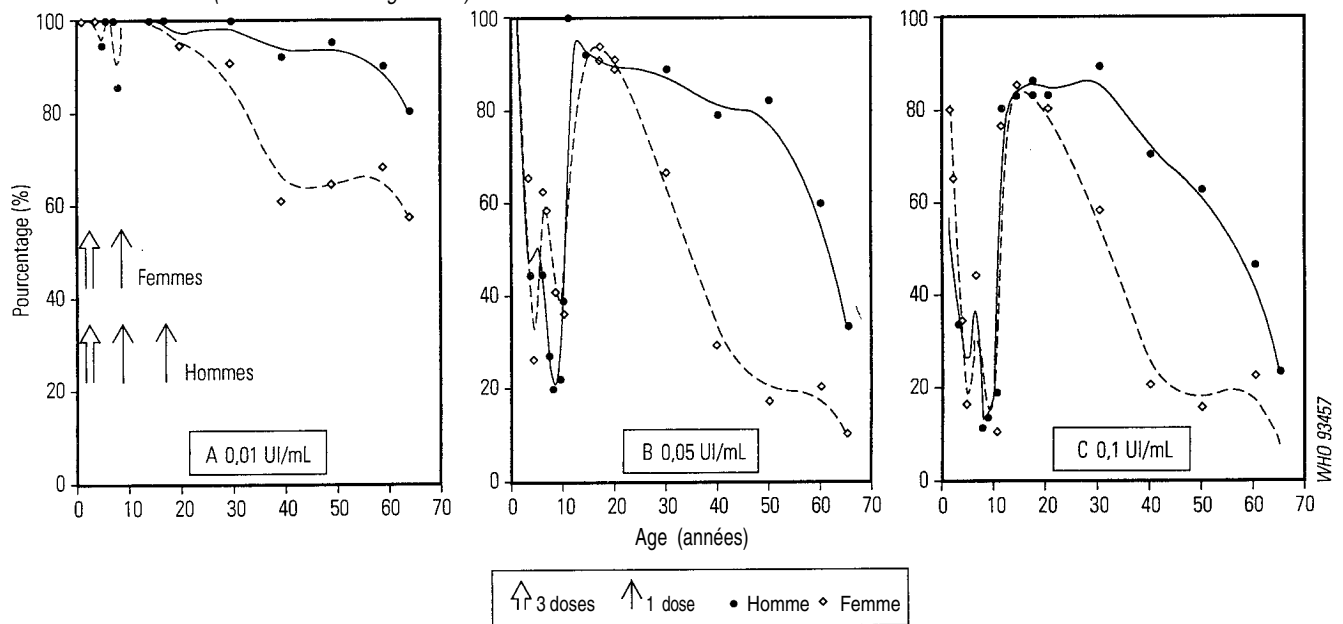


Figure 5. Immunité antitétanique en fonction de l'âge et en fonction de trois titres d'anticorps différents déterminés par ELISA, en Suède de 1983 à 1985 (Christenson & Bottiger 1987).



vaccin DT ou Td) assure dix nouvelles années de protection antitétanique, i.e. jusqu'à 17 ou 18 ans. Une injection supplémentaire à la sortie de l'école ou pendant le service militaire, prolongera cette immunité pendant les deux prochaines décennies ou plus (Bizzini et al. 1978, Christenson & Bottiger 1987, Simonsen et al. 1986a).

En Suède, les femmes de moins de vingt ans reçoivent généralement 4 injections de vaccin DT. Dans ce même pays, les hommes reçoivent à l'âge de 18 ans lors du service militaire, un rappel sup-

plémentaire dont l'effet protecteur s'observe sur plusieurs décennies (Figure 5).

Selon le PEV, toutes les femmes en âge d'avoir des enfants, devraient avoir reçu cinq injections d'anatoxine tétanique. Cette recommandation est basée sur les données obtenues lors d'une expérience de l'armée américaine avec l'anatoxine tétanique, durant la seconde guerre mondiale. Les résultats sont impressionnants, en effet seuls 12 cas de tétanos ont été déclarés parmi les 2,5 millions de blessés de l'infanterie et de la marine

américaine. Une immunité de base était induite par 3 doses d'anatoxine liquide (non adsorbée) dans l'infanterie, ou par 2 doses d'anatoxine précipitée sur alun suivies d'un rappel un an après, dans la marine. Des rappels étaient ensuite pratiqués soit avant le départ au combat (infanterie), soit tous les quatre ans (marine). Dans ces deux corps d'armée, on administrait un rappel d'urgence dès que possible pour les blessures éventuellement tétanigènes. En 1949, l'infanterie, la marine et l'armée de l'air américaine ont adopté le schéma de vaccination suivant: deux injections d'anatoxine tétanique adsorbée espacées d'un mois, un troisième rappel environ un an après suivi de rappels tous les quatre ans et en cas de blessure (Looney et al. 1956).

Plusieurs études dans les années 1960, ont évalué l'immunité antitétanique des vétérans de l'armée américaine. La plupart d'entre eux avaient conservé leur immunité et étaient également capables de répondre à un rappel antitétanique (Tableau 4).

Il y a peu de données concernant l'immunité acquise au tout début de l'enfance avec trois doses de vaccin DTC. Selon les récentes observations de Scheibel au Danemark, trois doses de vaccin DT permettent d'obtenir une immunité de longue durée (Tableau 4). D'autres études danoises ont montré que trois injections de vaccin DT-polio à l'âge de 5, 6 et 15 mois induisent des taux protecteurs d'anticorps sur une durée allant de 14 à 18 ans pour 90% des personnes, de 20 à 25 ans pour 85%

des individus et de 26 à 30 ans pour 72% des gens (Simonsen et al. 1987a, Simonsen 1989). Une nouvelle vaccination 30 ans après cette primo-vaccination entraîne une forte réponse anticorps de longue durée. Cependant, ces observations ne peuvent pas être généralisées car on utilise des vaccins et des schémas de vaccination différents.

On a parfois observé une réponse anticorps insuffisante lorsque le rappel est pratiqué 15 ans après la première série d'injections (Collier et al. 1979). Cette réponse varie d'un individu à l'autre et on peut s'attendre à une grande dispersion des titres d'anticorps en fonction du temps qui suit la primo-vaccination et qui précède le rappel.

6.3 Immunité antitétanique en fonction de l'âge et du sexe

Seuls les individus vaccinés sont protégés. Les personnes non vaccinées risquent de développer un tétanos lors de blessures et les mères d'avoir un enfant atteint de tétanos néonatal lors de la section du cordon ombilical.

Le profil immunitaire contre la maladie a beaucoup changé depuis l'introduction de l'anatoxine tétanique dans les programmes de vaccination infantile. La Figure 6 met en évidence l'immunité la plus élevée dans les jeunes tranches d'âge de la population qui ont été protégées par une vaccination devenue habituelle. Ceci se traduit par une très importante diminution des cas de tétanos dé-

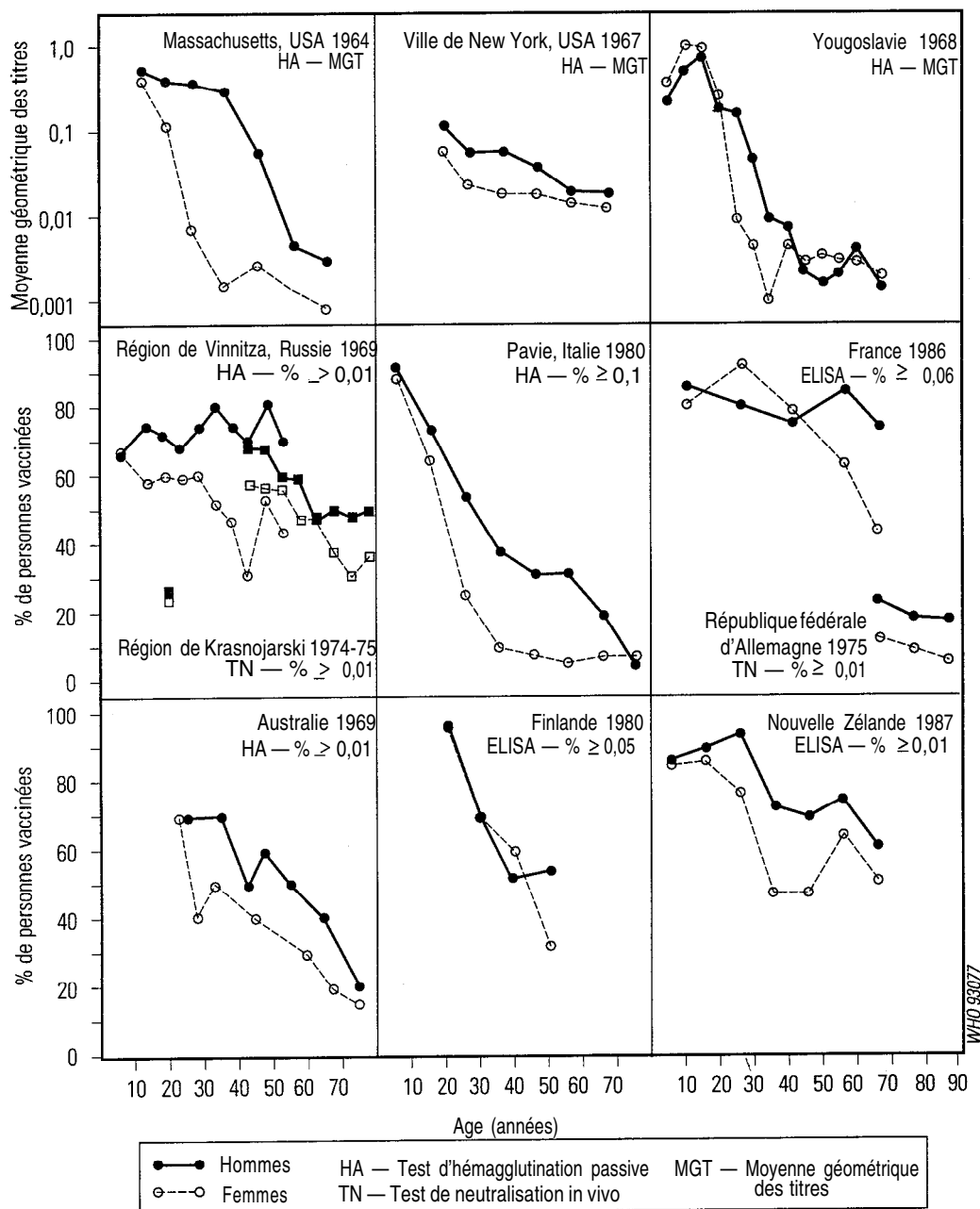
Tableau 4. Titres d'anticorps antitétaniques lors du rappel 30 ans après la dernière injection de la primo-vaccination.

Pays	Primo-vaccination	Sujets	Nb d'années depuis la dernière dose	Titre d'anticorps avant rappel		Durée après le rappel	Titre d'anticorps après rappel		Référence
				MGT* UI/ml	% >0.01 UI/ml		MGT* UI/ml	% de sérum avec des titres	
Etats Unis	pendant le service militaire	vétérans	15		87,5	4 jours 7 jours 14 jours		86 > 0,01 94 > 0,01 100 > 0,1	McCarroll et al. 1962
Etats Unis	pendant le service militaire	vétérans	14 à 18	0,08	87	7 jours 14 jours 21 jours	1,2 12,0 15,7	92 > 0,1 96 > 1,0 100 > 0,1	Goldsmith et al. 1962
Etats Unis	pendant le service militaire	vétérans	14 à 21	0,11	100	14 jours	environ 30**	99 > 1,0	Gottlieb et al. 1964
Danemark	3 DT	enfants	4 à 8	0,38	98,7				Scheibel et al. 1962
Danemark	3 DT	enfants	10 à 14	0,35	95,8				Scheibel et al. 1966
Danemark	3 DT pendant l'enfance	adultes adultes	14 à 18 26 à 30		89 72	20 ans		100 > 0,01	Simonsen et al. 1986a
Danemark	4 DTC pendant l'enfance	recrues militaires	19	0,09					Simonsen et al. 1987a
Danemark	3 DT pendant l'enfance	adultes	25	0,08		9 ans	2,5		Simonsen et al. 1987a

* moyenne géométrique du titre

** moyenne arithmétique.

Figure 6. Immunité antitétanique des hommes et des femmes de différentes tranches d'âge dans plusieurs pays (moyenne géométrique des titres et pourcentage de personnes ayant des titres de 0,01 à 0,1 UI/ml ou plus) (Galazka 1988).



WHO 93077

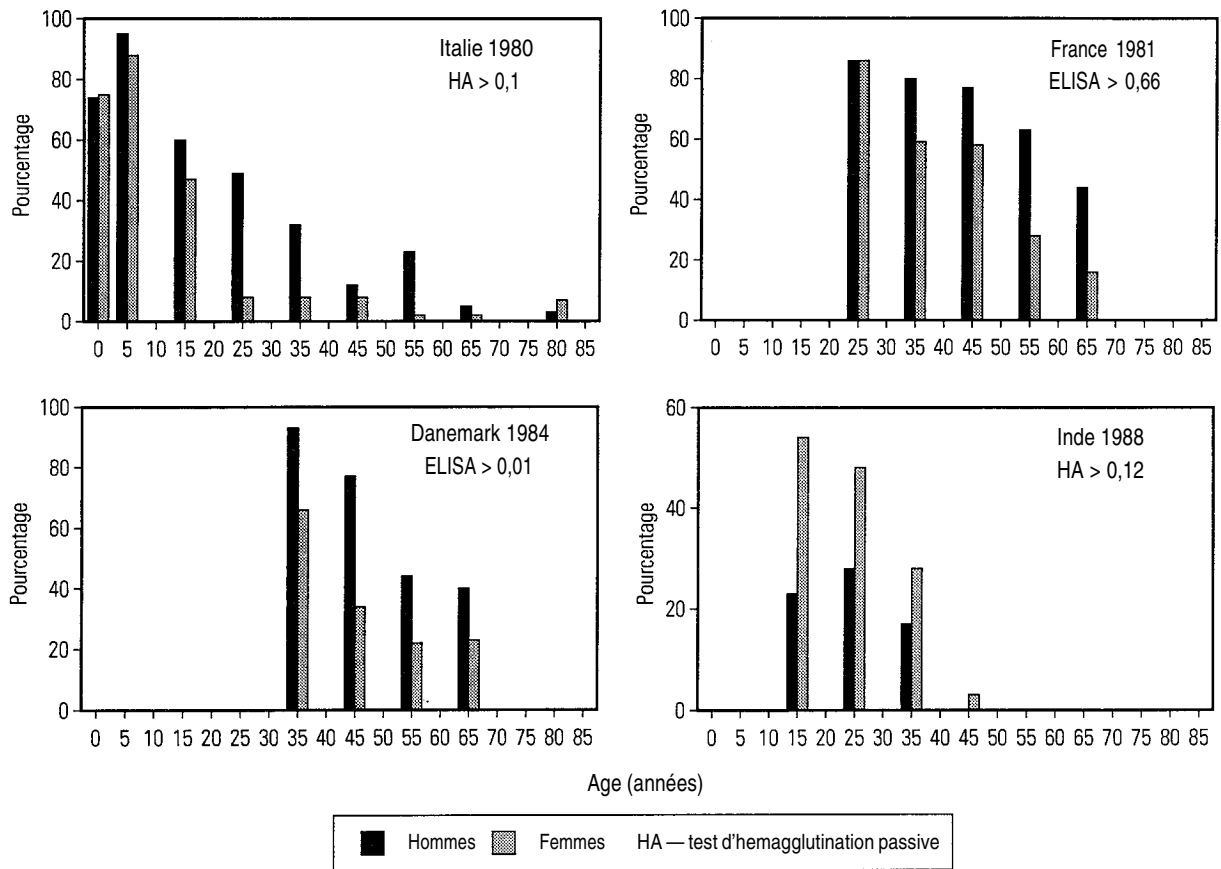
clarés chez les jeunes gens (Christenson & Bottiger 1987, Galazka & Kardymowicz 1989, Simonsen et al. 1987c). Les niveaux d'immunité sont nettement différents entre les hommes et les femmes plus âgés. Dans les pays industrialisés, les vaccinations supplémentaires reçues à l'armée ou lors de la vie professionnelle expliquent probablement le meilleur niveau de protection observé chez les hommes. En Inde, on observe au contraire une meilleure immunité chez les femmes, car lorsqu'elles sont en âge d'avoir des enfants et particulièrement lorsqu'elles sont enceintes, elles reçoivent une injection d'anatoxine tétanique (Figure 7).

7. Passage transplacentaire de l'antitoxine tétanique

7.1 Un organe sélectif: le placenta

Lorsque la mère est vaccinée, les anticorps antitétaniques sont transportés passivement vers le fœtus, et assurent ainsi de façon transitoire, une protection antitétanique au nouveau-né. Le placenta humain laisse passer sélectivement les anticorps de type IgG, de la mère vers le fœtus. Les taux d'IgG du fœtus augmentent progressivement à partir du quatrième mois de la grossesse jusqu'au terme de celle-ci. A la naissance, les titres d'anticorps de l'enfant sont identiques et parfois supé-

Figure 7. Pourcentage de personnes ayant un titre protecteur d'anticorps antitétaniques, en fonction de l'âge et du sexe, dans quatre pays (Bourland 1984, Gasparini et al. 1980, Kjeldsen et al. 1988, Misra & Rao 1988).



rieurs à ceux de sa mère. Des études avaient montré que les titres d'antitoxines dans le sérum de cordon et dans le sérum maternel étaient habituellement identiques, bien que dans 20 à 30% des cas, la concentration d'anticorps du sérum de cordon soit inférieure à celle du sérum maternel. Plus récemment on a observé un rapport, taux d'anticorps du cordon/taux d'anticorps maternels, plus élevé chez les européens que chez les africains (Gendrel et al. 1990a, 1990b). Cette différence peut s'expliquer par la présence de forts titres d'immunoglobulines chez les mères africaines exposées à de nombreux stimuli antigéniques. Or on sait que le passage transplacentaire est meilleur lorsque les taux d'IgG maternels sont faibles.

7.2 Passage des antitoxines vers le fœtus : influence du temps espaçant les injections d'AT et importance de l'intervalle de temps entre le dernier rappel et l'accouchement

Le rapport du titre sérique maternel / titre sérique de cordon dépend du temps espaçant les injections d'anatoxine tétanique et de l'intervalle entre la dernière dose et l'accouchement. L'espacement dans le temps des injections d'anatoxine constitue la meilleure façon d'obtenir une réponse immunitaire optimale et de longue durée (Tableau 5).

En réalité dans les pays en développement, les femmes enceintes se présentent tardivement aux services de santé et sont vaccinées à un stade avancé de leur grossesse (Figure 8). Dans ce cas, le transfert d'une quantité suffisante d'anticorps de la mère vers le fœtus est limité car la deuxième dose d'anatoxine tétanique est souvent administrée juste avant l'accouchement. Lorsque la deuxième injection est éloignée de la naissance, le rapport des anticorps antitétaniques du cordon/anticorps maternels augmente (Stanfield et al. 1973). Ces résultats sont en faveur d'une politique de vaccination débutant aussi tôt que possible lors de la grossesse. Ceci permettrait d'espacer suffisamment les injections d'anatoxine, avec une seconde dose éloignée de la date d'accouchement.

Tableau 5. Taux d'antitoxines tétaniques dans les sérums de cordon des nouveau-nés dont les mères ont été vaccinées avec deux doses d'anatoxine tétanique à différents intervalles de temps (Dhillon & Menon 1975).

Intervalle entre les doses d'anatoxine (semaines)	Nb d'échantillons testés	% de distribution des titres d'anticorps dans le sérum de cordon UI/ml)		
		> 0,01	> 0,1	> 1,0
4 à 8	238	70,6	37,0	8,4
9 à 12	210	81,1	62,4	15,7
13 à 16	133	92,5	71,4	22,6
au delà de 16	142	90,8	73,9	39,4

7.3 Influence de l'immunité passive sur l'établissement de l'immunité active

Durant la période néonatale, la diminution des titres d'antitoxines tétaniques (Kryl *et al.* 1964, Sangpetchsong *et al.* 1985) est identique à celle qui est observée pour les anticorps dirigés contre *Neisseria meningitidis A*, *Haemophilus influenzae b* et *Streptococcus B*, suite à la vaccination des mères durant leur grossesse avec les polysaccharides bactériens (Amstey *et al.* 1985, Baker *et al.* 1988, McCormick *et al.* 1980). Un mois après la naissance, le nouveau-né possède encore 80% des antitoxines qui lui ont été transférées.

Si la proportion de femmes vaccinées avec l'anatoxine tétanique augmente, le nombre d'enfants possédant une immunité antitétanique acquise passivement augmentera également. Cette immunité passive pourrait interférer avec l'établissement d'une immunité active lors de la vaccination précoce avec le DTC. Une telle interférence a été observée chez des enfants vaccinés avec le DTC à l'âge de 2 à 6 mois ou de 3 à 7 mois, et dont les mères avaient reçu 3 doses d'anatoxine durant leur grossesse (Kryl *et al.* 1964). Cette interférence est plus marquée pour les enfants dont le titre sérique de cordon est supérieur à 0,1 UI/ml. En Thaïlande, lors de la primo-vaccination des enfants à l'âge de 3, 4 et 6 mois avec le DTC, on observe un effet inhibiteur de l'immunité passive lors de la première injection mais pas pour les deux suivantes (Figure 9).

Dans les pays industrialisés, la majorité des femmes en âge d'avoir des enfants sont vaccinées contre le tétanos. Des concentrations très élevées d'anticorps antitétaniques, avec des titres souvent supérieurs à 10 UI/ml, ont été détectées dans le sérum de cordon par hémagglutination passive lors d'une étude aux Etats-Unis (Anderson *et al.* 1988). La demi-vie de ces anticorps est d'environ un mois et dans certaines études, le test de neutralisation met en évidence une diminution de leur taux qui se situe entre 0,3 et 0,5 UI/ml à l'âge de deux mois lorsque la première dose de DTC est injectée (Barkin *et al.* 1984, Edwards *et al.* 1989). Si le niveau d'immunité passive interfère avec le(s) première(s) doses de DTC, la troisième injection constitue un fort stimulus antigénique (Figure 10).

8. Sécurité de l'anatoxine tétanique

L'anatoxine tétanique est un antigène qui ne présente aucun danger. Dans les années 1940, la présence d'agents sensibilisants (peptones) dans le milieu de culture était probablement à l'origine des réactions anaphylactiques aiguës qui avaient été observées. Ces risques ont été considérablement réduits par l'amélioration des techniques de pro-

Figure 8. Vaccination avec l'anatoxine tétanique (AT) à différents moments de la grossesse, état du Lagos, Nigeria (Revue du PEV 1989).

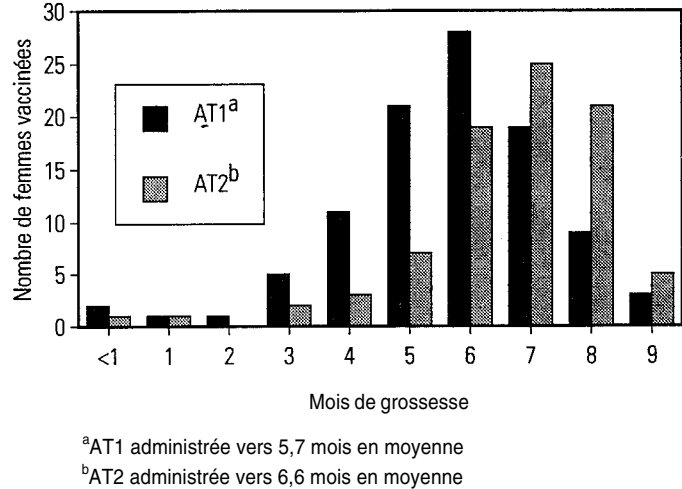
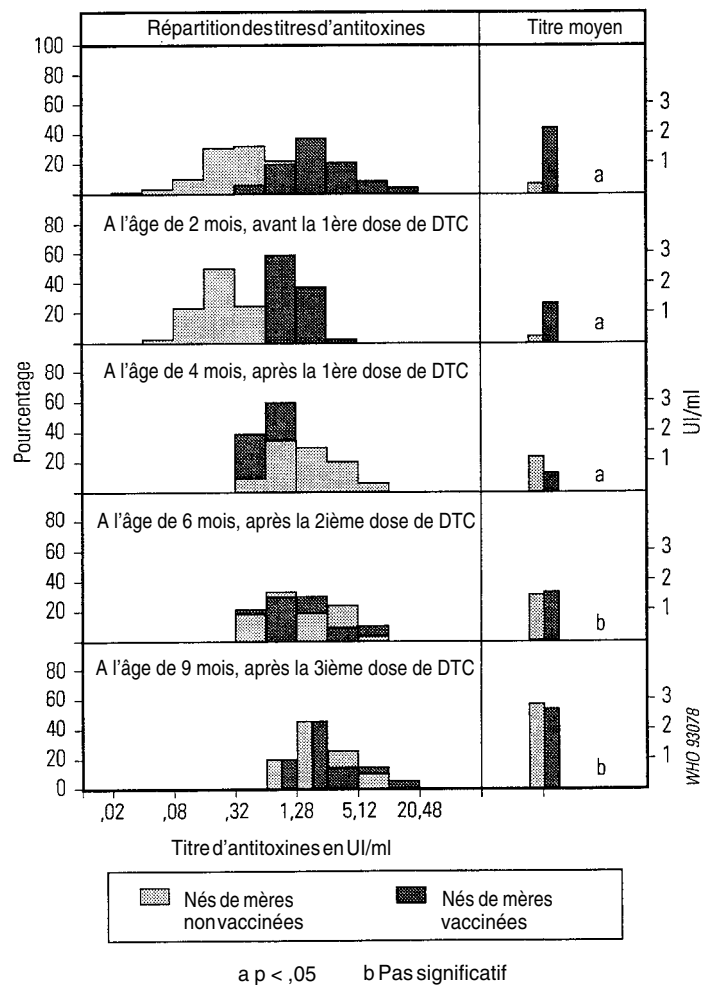


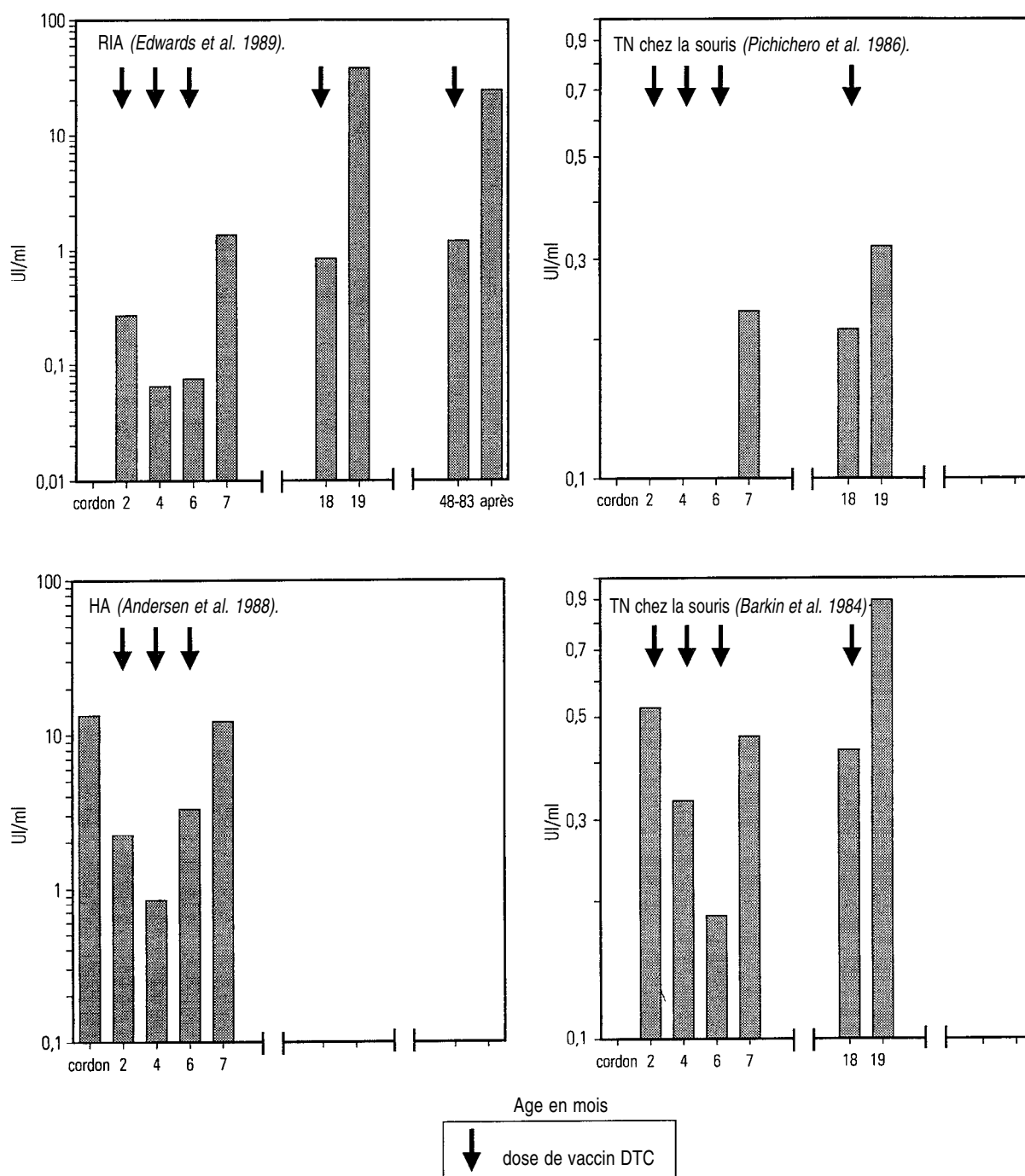
Figure 9. Titres d'antitoxines tétaniques des enfants vaccinés avec le vaccin DTC et dont les mères ont été vaccinées ou non contre le tétanos (Sangpetchsong *et al.* 1985).



duction de l'anatoxine, le développement de milieux de culture ne contenant pas d'agents sensibilisants et l'utilisation de produits hautement purifiés.

Les réactions généralisées graves sont très rares. Une faible proportion des personnes vaccinées peut souffrir de petites réactions locales. Des individus

Figure 10. Taux d'anticorps antitétaniques des enfants vaccinés avec le DTC à 2, 4, 6, 18 mois et entre 4 et 6 ans aux Etats Unis.



hyperimmunisés ayant un titre d'anticorps très élevé, suite à de nombreuses injections d'anatoxine par le passé, développent parfois des réactions allergiques lors d'un rappel antitétanique (Collier et al. 1979, Edsall et al. 1967, Relihan 1969, White et al. 1973, White 1980). Dans ce cas la formation de complexes anticorps-anatoxine active les voies du complément et stimule les leucocytes, entraînant ainsi des altérations vasculaires localisées accompagnées d'œdèmes locaux, de douleurs et de malaise (Edsall et al. 1967). Une utilisation excessive de l'anatoxine tétanique peut également être responsable d'une polyneuropathie (Holliday & Bauer 1983, Rutledge & Snead 1986). On estime l'incidence de la

polyneuropathie à 0,4 cas par million de doses d'anatoxine (Quast et al. 1979).

Dans certains pays les femmes reçoivent deux doses d'anatoxine lors de chaque grossesse. Considérant le danger créé par une utilisation exagérée de l'anatoxine, il serait souhaitable de remplacer cette pratique par le schéma de vaccination classique comportant cinq injections. La mise en place d'un protocole de vaccination optimisé et efficace, nécessite le bon enregistrement des vaccinations et sa conservation.

On considère que l'anatoxine tétanique ne présente aucun danger pour la femme enceinte. Lors de la grossesse, la vaccination avec l'anatoxine tétanique ou diphtérique ne fait pas courir de

Tableau 6. Recommandations pour la vaccination antitétanique des femmes ayant déjà été vaccinées.

Age lors de la dernière vaccination	Vaccination précédente	Vaccination recommandée	
		Lors de la première consultation/ grossesse	Plus tard (à intervalle d'au moins un an)
jeune enfance	3 DTC	2 doses de TT*	1 dose de TT
enfance	4 DTC	1 dose de TT	1 dose de TT
scolarisé	3 DTC + 1 DT/Td	1 dose de TT	1 dose de TT
scolarisé	4 DTC + 1 DT/Td	1 dose de TT	rien
adolescence	4 DTC + 1 DT à 4-6 ans + 1 TT/Td à 14-16 ans	rien	rien

* au moins 4 semaines entre les doses.

risque au fœtus (Acip 1989). Aux Etats-Unis, seuls les vaccins antitétaniques et antidiphthériques sont administrés en cours de grossesse (Académie américaine de pédiatrie 1986, Collège américain des médecins 1990). Trois groupes de chercheurs ont étudié l'utilisation de l'anatoxine tétanique tout au début de la grossesse. Freda (1956) n'a pas observé plus de complications en comparant la grossesse de 107 femmes vaccinées contre le tétanos, le choléra et la typhoïde et celle des femmes non vaccinées. La moitié des futures mères avait été vaccinée dans le premier trimestre de la grossesse. Heinonen et al. (1977) ont étudié le déroulement de la grossesse chez 9222 femmes vaccinées dans les quatre premiers mois de la grossesse avec différents vaccins, dont l'anatoxine tétanique. Ils n'ont pas observé de risque d'anomalies congénitales ou d'avortement lié à la vaccination. En Papouasie-Nouvelle-Guinée, Schofield et al. (1961) ont administré une anatoxine tétanique non adsorbée le plus tôt possible au début de la grossesse et n'ont pas observé un nombre plus élevé d'enfants mort-nés.

Le PEV conseille d'administrer la première dose d'anatoxine tétanique le plus tôt possible au cours de la grossesse. Dans la plupart des pays la vaccination ne débute pas avant le quatrième ou le cinquième mois car les femmes viennent tardivement à la consultation néonatale.

9. Implications pour les programmes de vaccination

La protection du nouveau-né contre le tétanos néonatal dépend d'un schéma de vaccination optimum qui dépend lui-même du passé vaccinal antitétanique de la mère. La mise en place du schéma de vaccination comportant cinq doses est essentielle, lorsqu'il existe une population de femmes en âge de porter des enfants, n'ayant jamais été vaccinées contre le tétanos durant leur enfance ou leur adolescence. La vaccination des femmes enceintes représente la stratégie la plus efficace.

Cependant il est difficile de la mettre en oeuvre et en 1992, seulement 43% d'entre elles dans les pays en développement ont reçu au moins deux doses d'anatoxine tétanique (Système d'information du PEV 1993).

Depuis 1987, le Comité Consultatif Général du PEV recommande la vaccination antitétanique pour toutes les femmes en âge d'avoir des enfants (PEV 1988). Pour cela, il est nécessaire de vérifier l'immunité envers le tétanos de toute femme consultant un service de santé, i.e. lors de la vaccination de ces enfants ou pour des soins. Des campagnes d'informations sur les lieux de marché, de réunions ou dans les locaux professionnels représentent une autre alternative. Toutes les femmes doivent avoir un carnet de vaccination et être vaccinées contre le tétanos si nécessaire. L'effort principal doit être tourné vers la vaccination de ces femmes avec trois doses d'anatoxine leur assurant une protection minimum de 5 ans. Un quatrième rappel prolongera cette immunité sur 10 ans et un cinquième rappel la prolongera sur 20 ans.

La vaccination des enfants scolarisés constitue une autre approche importante. Les enfants du cycle primaire doivent être vaccinés avec le vaccin DT (type enfant) ou Td (type adulte); les enfants plus âgés recevront l'anatoxine tétanique ou le vaccin Td. Le schéma de vaccination le plus pratique comporte deux premières injections lors de l'entrée à l'école (espacées d'au moins 4 semaines) et un troisième rappel dans la classe suivante (i.e. un an après la deuxième dose). Un quatrième rappel peut être administré à la sortie de l'école. Dans les pays où cette procédure est en place depuis de nombreuses années et où une forte proportion de la population féminine est scolarisée, on peut réviser la politique de vaccination des femmes. En effet, si une femme a reçu quatre injections d'anatoxine durant sa scolarité, un seul rappel au début de la grossesse lui assurera une protection durant les deux prochaines décennies. Cependant la mise en place d'une telle pratique nécessite le bon enregistrement des vaccinations ou des études sérologiques.

Dans les pays où une large proportion de femmes en âge d'avoir des enfants, a pu être vaccinée contre le tétanos durant l'enfance, le choix d'une politique de vaccination dépendra du schéma utilisé et des taux de protection atteints. Les femmes ayant été vaccinées durant leur enfance, avec trois ou quatre doses de DTC sans rappel ultérieur, auront certainement perdu les antitoxines circulantes en arrivant à l'âge de la puberté (Figure 4); mais elles auront conservé leur capacité à répondre au rappel. Cette chute de l'immunité et le potentiel de réponse au rappel, dépendent du nombre de doses déjà administrées, de l'âge lors de la vaccination et du temps espaçant la première série d'injections et les rappels. Ainsi lors du rappel, on pourra observer une diminution de la réponse immunitaire des femmes ayant eu seulement trois injections de DTC au début de l'enfance ou plus de dix ans auparavant. Il serait donc prudent de leur administrer deux doses d'anatoxine et de compléter cette vaccination avec une autre injection lors de la prochaine grossesse ou un an plus tard. Les femmes possédant un carnet de vaccination témoignant des quatre injections de vaccin DTC durant l'enfance, auront besoin d'un seul rappel d'anatoxine pendant leur grossesse et d'un rappel supplémentaire lors de la prochaine grossesse (Tableau 6).

Abréviations

AT	anatoxine tétanique
AT2	seconde dose d'anatoxine tétanique
DT	vaccin diphtérie-tétanos pour enfant
DTC	vaccin diphtérie-tétanos-coqueluche
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
HA	test d'héماغglutination passive
RIA	test radioimmunologique
Td	vaccin pour adolescent et adulte composé d'anatoxines diphtérique et tétanique, l'anatoxine diphtérique étant en faible quantité
TN	test de neutralisation
ToBI	test d'inhibition de la liaison de la toxine
UI	unités internationales
VIH	virus d'immunodéficience humain

Références

- ACIP (Immunization Practices Advisory Committee, USA). General recommendations on immunization. *MMWR* 1989;38:205-227.
- ACIP (Immunization Practices Advisory Committee, USA). Immunization of children with HTLV III/LAV. *MMWR* 1986;38:595-606.
- Aguzzi F, Gallina M, Piro P. Determinazione degli anticorpi antitetanici rilievi metodologici et epidemiologici. *Boll Ist Sierotrap Milan* 1980;59:530-535.
- American Academy of Pediatrics. Report of the Committee on Infectious Diseases. 21st edition, 1991:46-47.
- American College of Physicians. Guide for adult immunization. 2nd edition, 1990:19-23.
- Amstey MS, et al. Fetal-neonatal passive immunization against Hemophilus influenzae, type b. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:607-611.
- Anderson EL, Belshe RB, Bartram J. Differences in reactogenicity and antigenicity of acellular and standard pertussis vaccines combined with diphtheria and tetanus in infants. *J Infect Dis* 1988;157:731-737.
- Arnold RA, Soewarso TI, Karyadi A. Mortality from neonatal tetanus in Indonesia: results of two surveys. *Bull WHO* 1986;64:259-262.
- Baker CJ, et al. Immunization of pregnant women with a polysaccharide vaccine of group B Streptococcus. *N Engl J Med* 1988;319:1180-1185.
- Baptist EC. Tetanus in a partially immunized infant with burns. *Ped Infect Dis J* 1984;3:487-488.
- Barile MF, Hardegree MC, Pittman M. Immunization against neonatal tetanus in New Guinea. 3. The toxin-neutralization test and the response of guinea pigs to the toxoids as used in the immunization schedule in new Guinea. *Bull WHO* 1970;43:453-459.
- Barkin RM, Samuelson JS, Gotlin LP. DTP reactions and serologic response with reduced dose schedule. *J Pediatr* 1984;105:189-194.
- Berger SA, et al. Tetanus despite preexisting antitetanus antibody. *JAMA* 1978;240:769-770.
- Berggren GG, et al. Traditional midwives, tetanus immunization and infant mortality in rural Haiti. *Trop Doctor* 1983;13:79-87.
- Bernstein LJ, et al. Defective humoral immunity in pediatric acquired immune deficiency syndrome. *J Pediatr* 1985;107:352-357.
- Bildhaiya GS. A study of tetanus in a hospital at Ahmedabad. *J Indian Med Assoc* 1983;80:21-23.
- Bistoni F, et al. The state of antitetanus protection in the commune of Perugia. *Boll Ist Sieroterap Milan* 1978;57:583-589.
- Bizzini B, et al. Etude de l'immunité antitetanique d'une population d'ouvriers des usines Renault. *Ann Microbiol* 1978;129B:437-440.
- Bizzini B, et al. Etude de l'immunité antitetanique d'une population l'ouvriers des usines. Renault. *Ann Microbiol* 1978;129b:437-440.
- Black RE, Huber DH, Curlin GT. Reduction of neonatal tetanus by mass immunization of non-pregnant women: duration of protection provided by one or two doses of aluminium-adsorbed tetanus toxoid. *Bull WHO* 1980;58:927-930.
- Blanche S, et al. Longitudinal study of 18 children with perinatal LAV/HTLV infection: attempt at prognostic evaluation. *J Pediatr* 1986;109:965-970.
- Borkowsky W, et al. Antibody responses to bacterial toxoids in children infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr* 1987;110:563-566.
- Borkowsky W, et al. Cell-mediated and humoral immune responses in children infected with human immunodeficiency virus during the first four years of life. *J Pediatr* 1992;120:371-375.

- Bourleaud J. Etude sero-épidémiologique de tétanos en France. *Bull Epidemiol Hebdom* 1984;13.
- Boyd JSK. Tetanus in African and European theaters of War, 1939 - 1945. *Lancet* 1946;1:113-119.
- Boyer J, et al. Le tétanos en milieu urbain: conditions d'apparition-déduction prophylactiques. *Presse Med* 1953;61:701-703.
- Brabin BJ, et al. The influence of malaria and gestation on the immune response to one and two doses of adsorbed tetanus toxoid in pregnancy. *Bull WHO* 1984;62:919-930.
- Breman JG, et al. The primary serological response to a single dose of adsorbed tetanus toxoid, high concentration type. *Bull WHO* 1981;59:745-752.
- Bytchenko BD, et al. An approach to specific prophylaxis of tetanus in surgical wards. *Proc IV Intern Conf Tetanus, Dakar, Senegal, 6-12 April 1975*. Lyon: Fondation Merieux;1975:931-938.
- Chandler HM, et al. A new rapid semi-quantitative enzyme immunoassay suitable for determining immunity to tetanus. *J Infect* 1984;8:137-144.
- Chapman WG, Davis MG. Tetanus immunity in Busselton, Western Australia, 1969. *Med J Aust* 1973;2:316-318.
- Chen BL, et al. Studies on diphtheria-pertussis-tetanus combined immunization in children. I. Heterologous interference of pertussis agglutinin and tetanus antitoxin response by pre-existing latent diphtheria immunity. *J Immunol* 1956;77:144-155.
- Christensen NA, Thurber DL. Clinical experience with tetanus: 91 cases. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1957;32:146-158.
- Christenson B, Bottiger M. Epidemiology and immunity to tetanus in Sweden. *Scand J Infect Dis* 1987;19:429-435.
- Cliff J. Neonatal tetanus in Maputo, Mozambique. I. Hospital incidence and childbirth practices. *Centr Afr J Med* 1985a;31:9-12.
- Cliff J. Neonatal tetanus in Maputo, Mozambique. II. Preventive measures. *Centr Afr J Med* 1985b;31:27-32.
- Coleman GE. Intestinal carriers of *Cl. tetani* and immunity. *Tetanus IX. Amer J Hyg* 1931;14:515-525.
- Collier LH, Polakoff S, Mortimer J. Reactions and antibody responses to reinforcing doses of adsorbed and plain tetanus toxoid. *Lancet* 1979;1:1364-1367.
- Crossley K, et al. Tetanus and diphtheria immunity in urban Minnesota adults. *JAMA* 1979;242:2298-2300.
- D'Arca SU, et al. Persistenza dei livelli anticorporeali a distanza di 5, 10 e più anni dalla vaccinazione antitetanica e movimento immunitario indotto dalla "booster". *Boll Ist Sieroterap Milan* 1980;59:476-486.
- Dastur F, Awatramani V, Dixit JA. Response to single dose of tetanus vaccine in subjects with naturally acquired tetanus antitoxin. *Lancet* 1981;2:219-221.
- Deivanayagam N, Nedunchelian K, Kamala KG. Neonatal tetanus: observations on antenatal immunization, natal and immediate post-natal factors. *Indian J Pediatr* 1991;58:119-122.
- Dhillon H, Menon PS. Active immunization of women in pregnancy with two injections of adsorbed tetanus toxoid for prevention of tetanus neonatorum in Punjab, India. *Indian J Med Res* 1975;63:583-589.
- Diop BM, et al. Pronostic du tétanos neonatal et état vaccinal des mères. *Afr Med* 1991;30:313-316.
- Durand B, et al. Vaccination antitetanique simplifiée. Résultats préliminaires d'une étude africaine. *Develop Biol Stand* 1978;41:3-14.
- Ebisawa I, et al. Colonization of the intestinal tract of mice with *Clostridium tetani*. *Japan J Exper Med* 1987;57:315-320.
- Eckmann L. Tetanus: prophylaxis and therapy. New York: Grune & Stratton Inc.;1963:50-53.
- Edwards KM, et al. Evaluation of a new highly purified pertussis vaccine in infants and children. *J Infect Dis* 1989;160:832-837.
- Edsall G. Specific prophylaxis of tetanus. *JAMA* 1959;171:417-427.
- Edsall G, et al. Excessive use of tetanus toxoid boosters. *JAMA* 1967;202:17-19.
- Edsall G, et al. Malnutrition and the immune response to tetanus toxoid. *Proc IV Intern Confer Tetanus, Dakar, 6-12 April 1975*. Lyon: Fondation Merieux;1975:683-685.
- Einterz EM, Bates ME. Caring for neonatal tetanus patients in a rural primary care setting in Nigeria: a review of 237 cases. *J Trop Pediatr* 1991;37:179-181.
- El-Sherbini A. Study of tetanus neonatorum in Tanta Fever Hospital, 1988-1989. *J Trop Pediatr* 1991;37:262-263.
- Expanded Programme on Immunization. Prevention of neonatal tetanus. *Wkly Epidemiol Rec* 1982;57:137-142.
- Expanded Programme on Immunization. Neonatal tetanus mortality and poliomyelitis lameness surveys, Jordan. *Wkly Epidemiol Rec* 1985;60:318-320.
- Expanded Programme on Immunization. Neonatal tetanus mortality surveys, Egypt. *Wkly Epidemiol. Rec* 1987;62:332-335.
- Expanded Programme on Immunization. Global Advisory Group. *Wkly Epidemiol Rec* 1988;63:9-13.
- Expanded Programme on Immunization. Neonatal tetanus: immunize all women of childbearing age. *EPI UPDATE*, September 1988.
- Expanded Programme on Immunization. Information System. Document WHO/EPI/CEIS/93.1, April 1993.
- Fara GM, et al. Prevalenza dell'immunità antitetanica in lavoratori metalmeccanici. *Bull Ist Sieroterap Milan* 1980;59:411-417.
- Fedinec A. Discussion. *Proc VI Intern Conf Tetanus, Lyon, France, 3-5 December 1981*. Lyon: Fondation Merieux;1981:249.
- Feeley JC, et al. Response of children in Bangladesh to adult-type tetanus-diphtheria toxoid (Td) administered during a field trial of cholera toxoid. *J Biol Stand* 1979;7:249-252.
- Fey H, Stiffler-Rosenberg G. Messung von Tetanus-Antitoxin beim Pferd mit dem Enzyme linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). *Schweiz Arch Tierheilk* 1977;119:437-446.

- Freda VJ. A preliminary report on typhoid, typhus, tetanus and cholera immunization during pregnancy. *Am J Obst Gynec* 1956;71:1134-1136.
- Gad ZM, et al. An epidemiological study on tetanus neonatorum in Alexandria. *Bull High Inst Publ Hlth* 1986;16:33-45.
- Galazka A. Serological changes in immunity status following immunization programmes (in Polish). *Przegl Epidemiol* 1988;42:211-224.
- Galazka A. Stability of vaccines. Document WHO/EPI/GEN/89.8. Geneva: World Health Organization, 1989.
- Galazka A, Bobrowska B, Sporzynska Z. Rapid assessment of tetanus immunity in wounded persons. *Epidem Rev (Warsaw)* 1971;25:404-416.
- Galazka A, Kardymowicz B. Tetanus incidence and immunity in Poland. *Europ J Epidemiol* 1989;5:474-480.
- Galazka A, Sporzynska Z. Immunity to tetanus in men aged 22-46 years as an index of efficacy of mass prophylactic vaccination (in Polish). *Przegl Epidemiol* 1973;27:469-476.
- Gasparini R, et al. Stato dell'immunità antitetanica all'età di 10 anni, in rapporto all'introduzione della vaccinazione obbligatoria: studio di un campione di scolari genovesi. *Boll Ist Sieroterap Milan* 1980a;59:488-492.
- Gasparini R, et al. Prevalenza dell'antitossina tetanica nella popolazione Genovese in rapporto all'età ed al sesso. *Boll Ist Sieroterap Milan*. 1980b;59:418-423.
- Gendrel D, et al. Transfert placentaire des anticorps antitetaniques et protection du nouveau-ne. *Arch Franc Pediatr* 1990a;47:725-729.
- Gendrel D, et al. Placental transfer of tetanus antibodies and protection of the newborn. *J Trop Pediatr* 1990b;36:279-282.
- Gentili G, Pini C, Collotti C. The use of immunoenzymatic assay for the estimation of tetanus antitoxin in human sera: a comparison with seroneutralization and indirect haemagglutination. *J Biol Stand* 1985;13:53-59.
- Ghosh JB. Prevention of tetanus neonatorum. *Indian Pediatr* 1990;27:210.
- Gill TJ, et al. Transplacental immunization of the human fetus to tetanus by immunization of the mother. *J Clin Invest* 1983;72:987-996.
- Gill TJ, et al. Vaccination of the fetus by immunization of the mother: transplacental immunization of the human fetus to tetanus. Proc VII Intern Confer Tetanus, Copanello Italy, 10-15 September 1984, Roma: Gangemi Publ;1985:509-515.
- Gilles HM, et al. The Malumphasi Project - an epidemiological, clinical and laboratory study. *Trans Roy Soc Trop Med* 1983;77:24-31.
- Glenny AT, Stevens ME. The laboratory control of tetanus prophylaxis. *J Roy Army Med Corps* 1938;70:308-310.
- Gold E, et al. Immune status of children one to four years of age as determined by history and antibody measurement. *New Engl J Med* 1973;289:231-235.
- Goldsmith S, Rosenberg E, Pollaczek EH. A study of the antibody response to a booster dose of tetanus toxoid. *New Engl J Med* 1962;267:485-487.
- Gottlieb S, et al. Long term immunity to tetanus - a statistical evaluation and its clinical implications. *Am J Publ Hlth* 1964;54:961-971.
- Goulon M, et al. Les anticorps antitetaniques. Titrage avant seroanatoxiono-therapie chez 64 tetaniques. *Nouv Presse Med* 1972;1:3049-3050.
- Grange AO. Neonatal tetanus in Lagos Metropolis. *Nig J Paediatr* 1991;18:12-21.
- Greenwood BM, et al. Immunosuppression in children with malaria. *Lancet* 1972;1:169-172.
- Grudeborn B. 199 casos de tetano neonatal em Luanda. *Acta Medica Angola* 1987;6:17-33.
- Gupta RK, Maheshwari SC, Singh H. The titration of tetanus antitoxin. IV. Studies on the sensitivity and reproducibility of the toxin neutralization test. *J Biol Stand* 1985;13:143-149.
- Hall WW. U.S. Navy's war record with tetanus toxoid. *Ann Int Med* 1948;28:275-277.
- Hardegree MC, et al. Immunization against neonatal tetanus in New Guinea. 2. Duration of primary antitoxin responses to adjuvant tetanus toxoids and comparison of booster responses to adjuvant and plain toxoids. *Bull WHO* 1970;43:439-451.
- Hedrick EC. Tetanus: 2 cases in immunized persons. *California Med* 1953;79:49-50.
- Heinonen OP, Slone D, Shapiro S. Immunizing agents. In: *Birth Defects and Drugs in Pregnancy*. Littleton: Publishing Sciences Group;1977:314-321.
- Hendriksen CFM, et al. The toxin binding inhibition test as a reliable in vitro alternative to the toxin neutralization test in mice for the estimation of tetanus antitoxin in human sera. *J Biol Stand* 1988;16:287-297.
- Hendriksen CFM, van der Gun JW, Kreeftenberg JG. Combined estimation of tetanus and diphtheria antitoxin in human sera by the in vitro toxin-binding inhibition (ToBi) test. *J Biol Stand* 1989;17:191-200.
- Holliday PL, Bauer RB. Polyradiculoneuritis secondary to immunization with tetanus and diphtheria toxoids. *Arch Neurol* 1983;40:56-57.
- Ipsen J. Systematische und zufällige Fehlerquellen bei Messung kleiner Antitoxin-mengen. I. Mitteilung: tetanusantitoxin. *Zeit Immunitätsforsch Exper Ther* 1942;102:347-368.
- Kimura M, et al. A comparative trial of the reactogenicity and immunogenicity of Takeda acellular pertussis vaccine combined with tetanus and diphtheria toxoids. Outcome in 3- to 8-month-old infants, 9- to 23-month-old infants and children, and 24- to 30-month-old children. *Am J Dis Child* 1991;145:734-740.
- Kishimoto S, et al. Age-related decline in the in vitro and in vivo synthesis of anti-tetanus antibody in humans. *J Immunol* 1980;125:2347-2352.
- Kjeldsen K, Simonsen O, Heron I. Immunity against diphtheria and tetanus in the age group 30-70 years. *Scand J Infect Dis* 1988;20:177-185.
- Kryl R, Prasilova F, Neubertova E. Prevention du tetanus ombilical et puerperal par la vaccination pratiquee chez les femmes enceintes et influence de l'immunité passive sur l'immunité active de leurs enfants. *Clin Pediatr* 1964;46:509-517.
- Kumar H, et al. Tetanus neonatorum: clinico-epidemiological profile. *Indian Pediatr* 1988;25:1054-1057.

- Kumar V, et al. Neonatal tetanus mortality in a rural community of Haryana. *Indian Pediatr* 1988;25:167-169.
- Kyselova M, Maly V, Velechovska J. A method for determining the level of tetanus antibodies in human sera. *J Hyg Epidem Microbiol Immunol* 1968;12:456-472.
- Lahiri DC. Absence of specific antitoxin in persons exposed to risk of tetanus infection. *Indian J Med Res* 1939;27:581-583.
- Lau RCH. Detection of tetanus toxoid antibodies in human sera in New Zealand by ELISA. *Epidemiol Infect* 1987;98:199-202.
- Layton GT. A micro-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and radioimmunosorbent technique (RIST) for the detection of immunity to clinical tetanus. *Med Lab Sci* 1980;37:323-329.
- Long AP. Immunization to tetanus. *Industr Med* 1954;23:275-277.
- Looney JM, et al. Persistence of antitoxin levels after tetanus toxoid inoculation in adults, and effect of a booster dose after various intervals. *New Engl J Med* 1956;254:6-12.
- MacLennan R. Prevention of neonatal tetanus in developing countries. Proc VI Intern Conf Tetanus, Lyon, France 3-5 December 1981. Lyon: Fondation Merieux, 1981: 113-121.
- MacLennan R, et al. Immunization against neonatal tetanus in New Guinea: antitoxin response of pregnant women to adjuvant and plain toxoids. *Bull WHO* 1965;32:683-697.
- Maru M, Getahun A, Hosana S. A house-to-house survey of neonatal tetanus in urban and rural areas in the Gondar region, Ethiopia. *Trop Geogr Med* 1988;40:233-236.
- Mathur GP, et al. Tetanus neonatorum - its epidemiology and management. *Indian Pediatr* 1980;17:797-801.
- Matzkin H, Regev S. Naturally acquired immunity to tetanus toxin in an isolated community. *Infect Immunity* 1985;48:267-268.
- McCarroll J, Abrahams I, Skudder PA. Antibody response to tetanus toxoid 15 years after initial immunization. *Am J Publ Hlth* 1962;52:1669-1675.
- McCormick JB, et al. Antibody response to serogroup A and C meningococcal polysaccharide vaccines in infants born of mothers vaccinated during pregnancy. *J Clin Investig* 1980;65:1141-1144.
- Melville-Smith ME, Seagroatt VA, Watkins JT. A comparison of enzyme-linked immunosorbent (ELISA) with the toxin neutralization test in mice as a method for estimation of tetanus antitoxin in human sera. *J Biol Stand* 1983;11:137-144.
- Menon PS, et al. Field trial on frozen and thawed tetanus toxoid. *Indian J Med Res* 1976;64:25-32.
- Misra SR, Rao RS. Serological survey of tetanus antibodies in the Pondicherry region. *Indian J Med Res* 1988;87:161-165.
- Monjour L, et al. Etude de l'immunité humorale et cellulaire après vaccination antitétanique chez l'enfant africain malnutri et paludéen. I. Etude de la réponse en anticorps tétaniques. *Bull WHO* 1982;60:589-596.
- Moss GWO, Waters GG, Brown MH. Efficacy of tetanus toxoid. *Can J Publ Hlth* 1955;46:142-147.
- Nazari F. A model for developing countries of mass serological survey of children vaccinated against diphtheria and tetanus. *J Biol Stand* 1976;4:329-333.
- Newell KW, et al. The use of tetanus toxoid for the prevention of neonatal tetanus in developing countries for the prevention of tetanus neonatorum. *Bull WHO* 1966;35:863-871.
- Newell KW, et al. The serological assessment of a tetanus toxoid: field trial. *Bull WHO* 1971;45:773-785.
- Onorato IM, Markowitz LE. Immunizations, vaccine-preventable diseases, and HIV infection. In: *AIDS and other manifestations of HIV Infection*. 1st edition, Wormser GP, editor. New York: Raven Press, 1992;671-681.
- Opravil M, et al. Poor antibody response after tetanus and pneumococcal vaccination in immunocompromised, HIV-infected patients. *Clin Exper Immunol* 1991;84:185-189.
- Ourth DD, MacDonald AB. Neutralization of tetanus toxin by human and rabbit immunoglobulin classes and subunits. *Immunology* 1977;33:807-815.
- Owa JA, Makinde OO. Neonatal tetanus in babies of immunized mothers. *J Trop Pediatr* 1990;36:143-144.
- Oyedeyji GA, Olamijulo SK, Joiner KT. Neonatal tetanus in Ilesa, Nigeria: a review of the present status. *Nigeria Med J* 1982;12:131-135.
- Passen EL, Andersen BR. Clinical tetanus despite a "protective" level of toxin-neutralizing antibody. *JAMA* 1986;255:1171-1173.
- Peel MM. Measurement of tetanus antitoxin. II. Toxin neutralization. *J Biol Stand* 1980;8:191-207.
- Peterson H-I. A case of tetanus in spite of active toxoid prophylaxis. *Acta Chir Scand* 1965;129:235-237.
- Pichichero ME, Barkin RM, Samuelson JS. Pediatric diphtheria and tetanus toxoids-adsorbed vaccine: immune response to the first booster following the diphtheria and tetanus toxoid vaccine primary series. *Pediatr Infect Dis J* 1986;5:428-430.
- Pinching AJ. Antibody responses in HIV infection. *Clin Exp Immunol* 1991;84:181-184.
- Pitzurra L, et al. Comparison of passive hemagglutination with turkey erythrocyte assay, enzyme-linked immunosorbent assay, and counterimmunoelectrophoresis assay for serological evaluation of tetanus immunity. *J Clin Microbiol* 1983;17:432-435.
- Quast U, Hennessen W, Widmark RM. Mono- and polyneuritis after tetanus vaccination (1970-1977). *Develop Biol Standard* 1979;43:25-32.
- Rahman M, et al. Use of tetanus toxoid for the prevention of neonatal tetanus. 1. Reduction of neonatal mortality by immunization of non-pregnant and pregnant women in rural Bangladesh. *Bull WHO* 1982;60:261-267.
- Ray SN, et al. Sero-survey of diphtheria and tetanus antitoxin. *Indian J Med Res* 1978;68:901-904.
- Reinstein L, Pargament JM, Goodman JS. Peripheral neuropathy after multiple tetanus toxoid injections. *Arch Phys Med Rehabil* 1982;63:332-334.
- Relihan M. Reactions to tetanus toxoid. *J Irish Med Assoc* 1969;62:430-434.

- Rey M. Discussion. Proc VI Intern Confer Tetanus, Lyon, France, 3-5 December 1981. Fondation Merieux; 1981:178.
- Rhoads JL, et al. Response to vaccination in HIV positive subjects. Third Internat Confer on AIDS, Washington, June 1987, abstract WP.110.
- Ribero ML, Fara GM, Del Corno G. Durata dell'immunità antitetanica in relazione al numero di dosi di vaccino. Boll Ist Sieroterap Milan. 1980;59:465-475.
- Ruben FL, Nagel J, Fireman P. Antitoxin response in the elderly to tetanus toxoid (Td) immunization. Am J Epidemiol 1978;108:145-149.
- Rubin ME, Sayed HI, Bowman JM. Determination of tetanus antitoxin levels in hyperimmunized volunteers. Vox Sang 1980;38:6-11.
- Rutledge SL, Snead OC. Neurological complications of immunizations. J Pediatr 1986;109:917-924.
- Sadeghi-Hasanabadi A. Neonatal tetanus in Fars Province, Islamic Republic of Iran. Eastern Mediterranean Region Health Serv J 1987;3:14-21.
- Sangpetchsong V, et al. Effect of passive immunity to tetanus in DTP vaccinated infants. Southeast Asian J Trop Med Publ Hlth 1985;16:117-123.
- Scheibel I, et al. Duration of immunity to diphtheria and tetanus after active immunization with mention of non-conforming between haemagglutinating and neutralizing diphtheria antitoxin titers in some human sera. Acta Path Microbiol Scand 1962;55:483-495.
- Scheibel I, et al. Duration of immunity to diphtheria and tetanus after active immunization. Acta Path Microbiol Scand 1966;67:380-392.
- Schofield FD, Tucker VM, Westbrook GR. Neonatal tetanus in New Guinea: effect of active immunization in pregnancy. Br Med J 1961;2:785-789.
- Sedgwick AK, et al. Rapid quantitative microenzyme-linked immunosorbent assay for tetanus antibodies. J Clin Microbiol 1983;18:104-109.
- Simonsen O, et al. The fall-off in serum concentration of tetanus antitoxin after primary and booster vaccination. Acta Path Microbiol Immunol Scand 1986a;94:77-82.
- Simonsen O, Bentzon MW, Heron I. ELISA for the routine determination of antitoxic immunity to tetanus. J Biol Stand 1986b;14:231-239.
- Simonsen O, et al. Evaluation of vaccination requirements to secure continuous antitoxin immunity to tetanus. Vaccine 1987a;5:115-121.
- Simonsen O, Schou C, Heron I. Modification of the ELISA for the estimation of tetanus antitoxin in human sera. J Biol Stand 1987b;15: 143-157.
- Simonsen O, Bloch AV, Heron I. Epidemiology of tetanus in Denmark 1920 -1982. Scand J Infect Dis 1987c;19:437-444.
- Simonsen O. Vaccination against tetanus and diphtheria: evaluation of immunity in the Danish population, guidelines for revaccination, and methods for control of vaccination programs. Dan Med Bull 1989;36:24-47.
- Singh M, et al. Natural tetanus immunity in lepromatous leprosy patients. Indian J Lepr 1986;58:91-95.
- Spittle BJ, Pollock M, O'Donnell TV. Tetanus occurring in spite of active immunization. New Zeal Med J 1973;77:250.
- Stanfield JP, Gall D, Bracken PN. Single dose antenatal tetanus immunisation. Lancet 1973;1:215-219.
- Stiffler-Rosenberg G, Fey H. Radioimmunologische Messung von Tetanusantitoxin. Schweiz Med Wschr 1975;105:804-810.
- Stiffler-Rosenberg G, Fey H. Messung von Tetanus-Antitoxin mit dem Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Schweiz Med Wschr 1977;107: 1101-1104.
- Stroh G, et al. Measurement of mortality from neonatal tetanus in Burma. Bull WHO 1987;65:309-316.
- Taylor EM, Moloney PJ. Assay of diphtheria and tetanus antitoxins in small volumes of blood. Can J Publ Hlth 1960;51:135-138.
- Teeuwssen VJ, et al. Analysis of the antigen and mitogen-induced differentiation of B lymphocytes from asymptomatic human immunodeficiency virus-seropositive male homosexuals. J Immunol 1987;139:2929-2935.
- Tenbroeck C, Bauer JH. The tetanus bacillus as an intestinal saprophyte in man. J Exp Med 1922;36:261-271.
- Tenbroeck C, Bauer JH. Studies on the relation of tetanus bacilli in the digestive tract to tetanus antitoxin in the blood. J Exp Med 1923; 37:479-489.
- Thorley JD, Holmes RK, Sanford JP. Tetanus and diphtheria antitoxin levels following a hospital-based adult immunization programme. Am J Epidemiol 1975;101:438-443.
- Ullberg-Olsson K, et al. Active immunization against tetanus in man. II. Combined active and passive prophylaxis with human tetanus immune globulin. Zeit Immun-Forsch 1976;151:191-201.
- Vanderbreeken Y, et al. In utero immunization of the fetus to tetanus by maternal vaccination during pregnancy. Am J Reprod Immunol Microbiol 1985;8:39-42.
- Verma M, Dhanwade SM, Singh T. Clinical study of tetanus neonatorum. Indian J Med Sci 1989;43:235-238.
- Veronesi R, et al. Naturally acquired tetanus immunity: further evidence in human and animals. Proc IV Intern Confer Tetanus, Dakar, Senegal, 6-12 April 1975. Lyon: Fondation Merieux;1975;613-626.
- Veronesi R, et al. Naturally acquired tetanus immunity: further evidence in humans and animals from the Galapagos Islands. Proc VI Intern Confer Tetanus, Lyon, France 3-5 December 1981. Lyon: Fondation Merieux,1981:243-249.
- Veronesi R, et al. Naturally acquired antibodies to tetanus toxin in humans and animals from Galapagos Islands. J Infect Dis 1983;147:308-311.
- Wang AS, et al. Detection of antibodies to tetanus toxoid: comparison of a direct haemagglutination method with a radioimmunoassay. J Clin Pathol 1982;35:1138-1141.
- White WG. Reactions after plain and adsorbed tetanus vaccines. Lancet 1980;1:42.
- White WG, et al. Reactions to tetanus toxoid. J Hyg 1973;71:283-297.
- Wilkins GL, Tasman A. On the immunological reactivity of tuberculous patients: preliminary report. Br Med J 1959;2:1305-1307.

