

# Studienprotokoll

## **Keuchhusten-Laborserosentinel bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen in Berlin (KLASSE-Berlin)**

**Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin**

Fachgebiet Infektionsschutz / Infektionsepidemiologie

in Zusammenarbeit mit dem  
Landeslabor Berlin Brandenburg  
und der  
Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales  
des Landes Berlin

**Koordination und epidemiologische  
Leitung der Studie**

Dr. med. Jörg Bätzing-Feigenbaum MPH DTM&P  
Fachgebiet Infektionsschutz / Infektionsepidemiologie  
Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin  
Turmstr. 21 / Haus A  
10559 Berlin  
Tel.: +49-(0)30-90229-2434  
Fax: +49-(0)30-90229-2096  
Email: [Joerg.Baetzing-Feigenbaum@lageso.berlin.de](mailto:Joerg.Baetzing-Feigenbaum@lageso.berlin.de)

**Kooperationspartner, Leitung der  
Laboruntersuchungen**

Dr. Ulrich Wittstatt  
Fachbereich III-4  
Landeslabor Berlin Brandenburg  
Invalidenstr. 60  
10557 Berlin  
Tel.: +49-(0)30-39784-346  
Fax: +49-(0)30-39784-631  
Email: [ulrich.wittstatt@landeslabor-bbb.de](mailto:ulrich.wittstatt@landeslabor-bbb.de)

**Kooperationspartner**

Dr. med. Marlen Suckau  
Seuchenreferentin des Landes Berlin  
Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales Berlin  
Oranienstr. 106  
10969 Berlin  
Tel.: +49-(0)30-9028-1610  
Fax: +49-(0)30-9028-  
Email: [Marlen.Suckau@senguv.berlin.de](mailto:Marlen.Suckau@senguv.berlin.de)

## Zusammenfassung

Ziel des *Keuchhusten-Laborserosentinel bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen in Berlin* (KLASSE-Berlin) ist die Bestimmung des Anteils der Personen mit Antikörpern gegen Keuchhusten in einer ausgewählten Bevölkerungsgruppe im Alter zwischen 10 und 30 Jahren. Die Immunität gegenüber Pertussis (Keuchhusten) kann nach durchgemachter Erkrankung oder nach Impfung entstehen, wobei der verfügbare Impfstoff gegen das Toxin des Keuchhustenerregers, das Bakterium *Bordetella pertussis*, gerichtet ist.

Epidemiologisch finden sich Hinweise dafür, dass mit zunehmendem Lebensalter die Immunität nachlässt. Besonders gefährdet sind hierdurch Kleinkinder, die noch nicht oder nicht vollständig gegen Pertussis immunisiert sind, von betreuenden Erwachsenen oder älteren Geschwistern angesteckt werden können und stark gefährdet für einen komplizierten Erkrankungsverlauf sind. Mit Hilfe der serologischen Bestimmung der Antikörper gegen Pertussistoxin soll in einer ausgewählten Berliner Bevölkerung untersucht werden, ob sich Hinweise für eine unzureichende Immunisierung finden.

In 2010 wurde in Berlin ein Laborserosurvey in diesem Altersbereich durchgeführt, um Antikörper gegen die „neue“ pandemische Influenza A/H1N1/2009 zu bestimmen. Aus diesem Sentinel nach §§ 13,14 Infektionsschutzgesetz (IfSG) mit insgesamt 964 anonymen Serumproben ist noch Restserummateriale vorhanden. Dieses soll jetzt zu einem weiteren Sentinel zur Untersuchung der Immunität gegenüber Keuchhusten (Pertussis) in Berlin genutzt werden. Im Studienprotokoll werden Kenntnisstand und Studienziele, Design der Studie, die Stichprobe, Aspekte zu Datenschutz, Datenpflege und Ethik, Zeit- und Kostenplan sowie Literatur dargestellt. Von den Ergebnissen des Sentinels werden wichtige Aussagen insbesondere bzgl. möglicher Interventionen des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (ÖGD) zur Verbesserung der Keuchhustenimmunität in der Berliner Bevölkerung erwartet. Dies schließt die Frage ein, ob eine landesweite Einführung der Meldepflicht für Keuchhusten, wie sie bereits in anderen Bundesländern existiert, dabei zielführend sein kann.

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung: Kenntnisstand und Studienziele	5
2. Studiendesign, Stichprobengröße und -gewinnung	7
3. Methoden	8
3.1 Blutprobengewinnung	8
3.2 Antikörpernachweis	8
3.4 Statistische Analysen	9
4. Datenpflege und Datenschutz	9
5. Ethische Aspekte	9
6. Zeitplan	10
7. Literaturverzeichnis	10

## 1. Einleitung: Kenntnisstand und Studienziele

Durch die allgemeine Impfpflicht für Säuglinge und Kleinkinder der Ständigen Impfkommission (STIKO) am RKI im Jahr 1991 und den vermehrten Einsatz von Kombinationsimpfstoffen mit der azellulären Pertussis-Komponente stieg seit 1995 der Durchimpfungsgrad deutlich an und erreichte bei eingeschulten Kindern im Jahr 2008 bundesweit 94% (Berlin liegt mit 94,1% fast genau im Bundesdurchschnitt) [1-3]. Pertussis ist insbesondere für Säuglinge und Kleinkinder gefährlich, so dass hier auch der Schutz dieser gefährdeten Bevölkerungsgruppe Die Zahl der seit 1993 erfassten Hospitalisierungen wegen Pertussis bei Kleinkindern ging in den alten Bundesländern deutlich zurück, so dass man auch von einem Rückgang der Inzidenz ausgehen kann. Auf Grund der unzureichenden Surveillance ist dies jedoch nicht direkt belegbar. Aus den Daten über gemeldete Pertussiserkrankungen in den neuen Bundesländern geht hervor, dass dort die in den 80iger Jahren durch den hohen Durchimpfungsgrad erreichte niedrige Morbidität von weniger als 1 Erkrankung pro 100.000 Einwohner nach 1991 wieder angestiegen ist. Eine Verschiebung der Erkrankungen in das Jugend- und Erwachsenenalter wird dabei deutlich. So lag das Durchschnittsalter 1995 noch bei 15,1 Jahren und stieg bis zum Jahr 2008 auf 41,7 Jahre an. Dies ist unter anderem auch eine Folge des Rückgangs der Immunität mit zunehmendem Abstand zur Impfung bzw. Erkrankung [1,2,4]. Besonders gefährdet sind hierdurch Kleinkinder, die noch nicht oder nicht vollständig gegen Pertussis immunisiert sind, von betreuenden Erwachsenen oder älteren Geschwistern ohne ausreichende Immunität mit Pertussis angesteckt werden können, und selbst stark gefährdet für einen komplizierten Erkrankungsverlauf sind.

Die Impfung gegen Keuchhusten wird von der STIKO im Rahmen der Standardimpfungen des Impfkalenders ab dem 2. Lebensmonat empfohlen (insgesamt 4 Impfungen zwischen dem 2. und 14. Lebensmonat) gefolgt von weiteren Auffrischungsimpfungen im Alter von 5 - 6 Jahren und 9 - 17 Jahren. Außerdem soll im Erwachsenenalter zumindest einmalig aufgefrischt werden. Bei der Impfung handelt es sich um einen Totimpfstoff, der ausschließlich in Kombination mit anderen Impfstoffen (z.B. Tetanus, Diphtherie, Polio u.a. eingesetzt wird [1,5].

Anfang des Jahres 2011 kam es in Berlin-Lichtenberg zu einem Pertussisausbruchsgeschehen in einer Kinderbetreuungseinrichtung. Dabei fiel auf, dass auch vollständig geimpfte Kinder erkrankten bzw. eine Betreuerin mit bereits lange zurückliegender Impfung. Da Pertussis jedoch nach dem IfSG nicht meldepflichtig ist und auch in Berlin keine entsprechende Landesverordnung besteht, liegen keine Surveillance- und bevölkerungsbezogene Daten vor, die zur allgemeinen epidemiologischen Situation sichere bevölkerungsbezogene Daten liefern.

In 2010 wurden in Berlin im Rahmen des „Pandemische Influenza Labor-Serosurveys in Berlin“ (PILS-Berlin) 964 Serumproben von 10-30-Jährigen aus zwei Berliner Bezirken (Lichtenberg und Steglitz-Zehlendorf) gewonnen, um diese vergleichend zu untersuchen [6]. Die „neue“ pandemische Influenza A/H1N1/2009 war Anfang 2009 neu aufgetreten und hatte sich schnell weltweit verbreitet [7]. Entsprechende Serosurveys waren von der WHO weltweit unterstützt und in einem Review zusammenfassend dargestellt worden [8].

Die Alterszusammensetzung dieses Influenza-Sentinels überschneidet sich partiell mit der Studienpopulation, in der eine Immunisierungslücke gegenüber Pertussistoxin vermutet wird (insbesondere ab dem Alter 20 Jahre zunehmend). Nach Abschluss der ursprünglichen Laboruntersuchungen, die am Nationalen Referenzzentrum (NRZ) für Influenza am RKI in Berlin im Oktober und November 2010 durchgeführt wurden, stehen von den Serumproben noch Reste zur Verfügung, die zunächst am RKI und später am Landeslabor Berlin Brandenburg (LLBB) tiefgefroren aufbewahrt wurden. An diesen Proben soll nun die geplante Untersuchung der bevölkerungsbezogenen Immunität gegenüber Pertussistoxin bei Berliner Jugendlichen und jungen Erwachsenen durchgeführt werden.

Im Rahmen dieser Studie sollen folgende Fragestellungen untersucht werden:

- Wie hoch ist der Immunisierungsgrad mit schützenden Antikörpern gegen Pertussistoxin in zwei ausgewählten Berliner Populationen im Alter von 10 - 30 Jahre? Finden sich Hinweise auf fehlenden Antikörperschutz?
- Falls Immunisierungslücken bestehen, sind darüber hinaus Unterschiede zwischen den Altersklassen (10 - 20 bzw. 21 - 30 Jahre) nachzuweisen?
- Wie hoch ist der Anteil von Personen mit sehr hohen Antikörperspiegeln gegen Pertussistoxin, die auf eine kürzlich zurückliegende Pertussisinfektion hinweisen könnten?

Aus einer Reihe von Ländern liegen bereits Serosentinelns zur Immunität gegenüber Pertussistoxin in der allgemeinen Bevölkerung bzw. in bestimmten Bevölkerungsgruppen vor (z.B. Dänemark, Niederlande, Iran), bei denen sich serologisch sowohl Hinweise auf frische bzw. kürzlich abgelaufene Keuchhustenerkrankungen als auch fehlende Immunität gegenüber Pertussistoxin in größeren Anteilen der Studienpopulationen ergeben haben [9-12].

Von den Ergebnissen dieses Sentinels werden wichtige Aussagen insbesondere bzgl. möglicher Interventionen des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (ÖGD) zur Verbesserung der Pertussisimmunität in der Berliner Bevölkerung und dem Schutz der noch nicht ausreichend bzw. vollständig geimpften Bevölkerungsteile erwartet.

## 2. Studiendesign, Stichprobengröße und -gewinnung

Bei der vorhandenen Berliner Serumstichprobe handelt es sich um eine Querschnittsstudie mit zwei unabhängigen Stichproben von Personen, die in 2010 in den Bezirken Steglitz-Zehlendorf (Population 1) oder Lichtenberg (Population 2) lebten. Die Proben waren im Rahmen eines Sentinels zur Bestimmung der Seroprävalenzraten von Antikörpern gegen die „neue“ Influenza A/H1N1 gewonnen worden und wurden vergleichend untersucht. Kriterien für den Einschluss der Blutprobe in die Stichproben waren:

- (1) Einsendung der Blutprobe durch einen niedergelassenen Arzt aus Berlin an das rekrutierende Labor im Rahmen einer diagnostischen Blutentnahme im ambulanten Segment;
- (2) Alter der Patienten zwischen 10 und 30 Jahren (stratifiziert in vier 5-Jahres-Altersklassen);
- (3) Die Postleitzahlen (PLZ) der Patientenwohnsitze lagen im Bereich der Berliner Bezirke Steglitz-Zehlendorf (PLZ: 12157, 12161, 12163, 12165, 12167, 12169, 12203, 12205, 12207, 12209, 12247, 12249, 12277, 12279, 14109, 14129, 14163, 14165, 14167, 14169, 14193, 14195, 14197 und 14199) oder Lichtenberg (PLZ: 10315, 10317, 10318, 10319, 10365, 10367, 10369, 13051, 13053, 13055, 13057 und 13059).

Der Bevölkerungszahlen der Untersuchungspopulationen werden in der Tabelle dargestellt.

Altersklassen	Steglitz-Zehlendorf	Lichtenberg
10 - 15 Jahre	15.337	8.924
16 - 20 Jahre	13.960	11.647
21 - 25 Jahre	15.267	23.391
26 - 30 Jahre	15.394	23.263
10 - 30 Jahre	59.958	67.225

**Tabelle: Zusammensetzung der Untersuchungspopulationen (Altersspanne 10 - 30 Jahre) in den Bezirken Steglitz-Zehlendorf (Population 1) sowie Lichtenberg (Population 2) nach vier Altersklassen (Stand: 31.12.2009; Amt für Statistik Berlin Brandenburg [13])**

Nachteilig war hierbei, dass durch die gewählte Stichprobenziehung die Repräsentativität derselben nicht gewährleistet ist. Nach Abschluss der Stichprobensammlung steht nur die Alterszusammensetzung für eine partielle Überprüfung zur Verfügung. Eine Reihe anderer Verzerrungen sind ebenfalls zu erwarten (u.a. Selektion „nicht gesunder“ Personen). Durch den Ausschluss stationärer Patienten sollte hier zumindest versucht werden, diese mögliche Bias abzuschwächen. Venöse Blutentnahmen zielgerichtet und ausschließlich für diese

Studie durchzuführen, erschien allerdings aus ethischer Sicht bedenklich, insbesondere was die notwendigen Proben aus der Gruppe der 10-18-Jährigen angeht.

Die Stichprobengröße sollte in beiden Bezirken bei jeweils 350 - 400 Fällen liegen. Mit einer Power von  $\alpha=0,8$  und einem Signifikanzniveau von  $p=0,05$  können Unterschiede von Stichprobenanteilen von 10% zwischen zwei Stichproben bei Stichprobengrößen von jeweils etwa  $n=200$  bis  $n=390$  nachgewiesen werden (Spanne der Anteile in der Stichprobe mit kleinerem Anteil liegt bei dieser Kalkulation zwischen 10 und 40%; EpiCalc 2000, Version 1.02).

In Berlin sind bei der Kassenärztlichen Vereinigung Berlin (KV Berlin) Laborärzte an 21 Laboren registriert, bei denen zumindest ein kassenärztlich zugelassener Laborarzt tätig ist, sowie weitere sechs hausärztliche Laborgemeinschaften niedergelassener, klinisch tätiger Ärzte [14]. Diese Labore wurden angeschrieben, informiert und um Teilnahme bei der Gewinnung der Seren gebeten. Acht Labore nahmen teil und Serumproben konnten in mehr als ausreichender Zahl von diesen in einem Zeitraum von zwei Monaten (August - September 2010) gesammelt werden.

### **3. Methoden**

#### **3.1 Blutproben**

Die Serumproben sind im Rahmen eines anderen Sentinels nach §§ 13,14 IfSG [15] in 2009 über Restblutproben aus Blutuntersuchungen von Patienten gewonnen worden. Bei den Patienten waren im Rahmen von Konsultationen bei niedergelassenen Ärzten in Berlin Laboruntersuchungen mit venösen Blutentnahmen veranlasst worden. Die Seren stehen nach Abschluss der ersten Untersuchung noch in ausreichenden Mengen zur Verfügung, so dass bei übereinstimmender Untersuchungspopulation eine weitere Sentinelerhebung nach den §§ 13,14 IfSG erfolgen kann.

#### **3.2 Antikörpernachweis**

Der Nachweis der spezifischen Antikörper erfolgt am LLBB mittels eines Pertussistoxin (PT)-spezifischen IgG-ELISA. International gibt es noch keine einheitlichen anerkannten Standards. Die Untersuchungsverfahren wurden aber in jüngster Zeit in verschiedenen Untersuchungen evaluiert und weiter entwickelt. Ein Wert  $>100$  IU/ml gilt in Deutschland als positiv, wobei dies sowohl auf durchgemachte Infektion als auch auf einen Zustand nach Immunisierung durch Impfung hinweisen kann. Sehr niedrige oder negative Antikörpertiter gegenüber Pertussistoxin erhöhen das Risiko für die Infektion mit *Bordetella pertussis*, wobei hier ein Grenzwert von  $<20$  IU/ml angesetzt werden kann [1, 10, 16, 17]. Das optimale



Testverfahren wird entsprechend der Ergebnisse einer kürzlich aus Deutschland publizierten vergleichenden Testevaluierung gewählt [18]. Bei uneindeutigen Ergebnissen muss ggf. eine Ergänzung durch Untersuchung der Proben auf andere pertussisspezifische Antikörper erfolgen. Als Antikörpernachweis kommt in diesem Fall der anti-FHA-IgG-AK in Frage, der gegen das pertussisspezifische Filamentöse Hämagglutinin gerichtet ist [19].

### **3.3 Statistische Analyse**

Die Datenanalyse erfolgt mit den üblichen statistischen Verfahren ( $\chi^2$ , t-Test, nicht-parametrische Tests) mittels Standardsoftware IBM® SPSS® Version 19.0 (IBM Corporation, Route 100, Somers, NY 10589, USA).

## **4. Datenpflege und Datenschutz**

Die erhobenen demographischen Basisdaten und die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen werden am Landesamt für Gesundheit und Soziales in eine Access-Datenbank eingegeben und gehalten. Es gelten die Bestimmungen wie für die Datenhaltung der Meldedaten nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG). Die Daten können in anonymisierter Form und nach gemeinsamer Absprache zwischen LAGeSo und der Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales (SenGesSoz) veröffentlicht werden.

## **5. Ethische Aspekte**

Bei dieser Studie handelt es sich um eine Sentinel-Erhebung nach §§13 und 14 IfSG, wobei die Erhebung hier über anonyme unverknüpfbare Restblutproben aus Laboren erfolgt. Da es sich bei der Studie um ein Surveillance-Instrument nach dem IfSG handelt, ist keine Patienteneinwilligung erforderlich. Ein Ethik-Votum muss nicht eingeholt werden.

Das IfSG nennt zwei Gründe für die Durchführung von zusätzlichen Sentinels im Sinne der „...Erhebung

(1) der Verbreitung übertragbarer Krankheiten, wenn diese Krankheiten von großer gesundheitlicher Bedeutung für das Gemeinwohl sind und die Krankheiten wegen ihrer Häufigkeit oder aus anderen Gründen über Einzelfallmeldungen nicht erfasst werden können;

(2) des Anteils der Personen, der gegen bestimmte Erreger nicht immun ist, sofern dies notwendig ist, um die Gefährdung der Bevölkerung durch diese Krankheitserreger zu bestimmen [15].“

Diese Studie wird unter Berücksichtigung der Vorschriften des Deutschen Arzneimittelgesetzes, der Richtlinien der Deklaration von Helsinki zur biomedizinischen

Forschung am Menschen in der revidierten Fassung von Edinburgh, Schottland, Oktober 2000, der Bekanntmachungen von Grundsätzen für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln sowie der Richtlinien der Europäischen Gemeinschaft und der *International Conference of Harmonization* durchgeführt.

## 6. Zeitplan

Folgender Zeitplan ist für die Durchführung der Studie vorgesehen (1.7.2011 - 30.11.2011):

- Analysen der aktuell beim Landeslabor Berlin Brandenburg gelagerten Serumproben des PILS-Berlin Sentinels (Juli - August 2011)
- Epidemiologische Analysen am LAGeSo (September - November 2011)
- Nachuntersuchung der Serumproben am LLBB (Dezember 2011 - Januar 2012)
- Epidemiologische Analysen am LAGeSo (Februar - April 2012)
- Veröffentlichung der Ergebnisse in Fachzeitschriften (Mai - Juni 2012)

## 7. Literaturverzeichnis

[1] Robert Koch-Institut: Pertussis (Keuchhusten). RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten - Merkblätter für Ärzte. RKI, Berlin (2010). Link:

[http://www.rki.de/cn\\_109/nn\\_494670/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Mbl\\_Pertussis.html](http://www.rki.de/cn_109/nn_494670/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Mbl_Pertussis.html)

[2] RKI: Pertussis – zur Situation wichtiger Infektionskrankheiten in Deutschland: Keuchhusten-Erkrankungen in den neuen Bundesländern seit 2002 in Deutschland. Epid Bull 2007; 50: 475-48.

Link:

[http://www.rki.de/cn\\_109/nn\\_264978/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/50\\_07.html?\\_nn=true](http://www.rki.de/cn_109/nn_264978/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/50_07.html?_nn=true)

[3] Robert Koch-Institut: Impfquoten bei den Schuleingangsuntersuchungen in Deutschland 2008. Epidemiologisches Bulletin, RKI, Berlin (2010): 138-40. Link:

[http://www.rki.de/cn\\_169/nn\\_1759378/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2010/16/Tabelle.html?\\_nn=true](http://www.rki.de/cn_169/nn_1759378/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2010/16/Tabelle.html?_nn=true)

[4] Wendelboe AM, Van RA, Salmaso S, Englund JA: Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: S58–S61

[5] Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut (Stand: Juli 2010). *Epid Bull* 2010; 30: 279-298. Link:

[http://www.rki.de/cn\\_109/nn\\_1759378/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2010/30/Tabelle.html?\\_nn=true](http://www.rki.de/cn_109/nn_1759378/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2010/30/Tabelle.html?_nn=true)

[6] Landesamt für Gesundheit und Soziales (LAGeSo): Pandemische Influenza Labor-Serosurvey in Berlin (PILS-Berlin). LAGeSo, Berlin (2010). Link:

[http://www.berlin.de/imperia/md/content/lageso/behinderte/pils\\_berlin\\_information\\_v1\\_20100819.pdf?download.html](http://www.berlin.de/imperia/md/content/lageso/behinderte/pils_berlin_information_v1_20100819.pdf?download.html)

- [7] Novel Swine-origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team: Emergence of a novel swine-origin influenza A virus in humans. *N Engl J Med* 2009; 360: 159-63
- [8] World Health Organization (WHO): Seroepidemiological studies of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus. *Weekly Epidemic Rec* 2010; 85(24): 229-36
- [9] Dalby T, Harboe ZB, Krogfelt KA: Seroprevalence of Pertussis among Danish Patients with cough of Unknown Etiology. *Clin Vacc Immunol* 2010; 17: 2016-23
- [10] Nooitgedagt JE, de Greeff SC, Elvers BE, de Melker HE, Notermans DW, van Huisseling H, Versteegh FGA: Seroprevalence of *Bordetella pertussis* Infection during Pregnancy Measured by IgG Antibodies against Pertussis Toxin. *Clin Inf Dis* 2009; 49: 1086-9
- [11] de Greeff SC, de Melker HE, van Gageldonk PGM, Schelleken JFP, van der Klis FRM, Mollema L, Mooi FR, Berber GAM: Seroprevalence of Pertussis in the Netherlands: Evidence for Increased Circulation of *Bordetella pertussis*. *PLoS ONE* 2010; 5: e14183 (doi:10.1371/journal.pone.0014183)
- [12] Hashemi SM, Ranjbar M, Hajilooi M, Seif-Rabiei M-A, Bolandi M, Moghimi J: Seroprevalence of Immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin among asymptomatic medical students in the west of Iran: a cross sectional study. *BMC Infectious Diseases* 2009, 9:58 (doi:10.1186/1471-2334-9-58)
- [13] Amt für Statistik Berlin Brandenburg: Bevölkerung von Berlin (Stand: 31.12.2009). Statistischer Bericht A I 3 – j / 09 (Oktober 2010). Link: <http://www.statistik-berlin-brandenburg.de/>
- [14] Kassenärztliche Vereinigung Berlin, Arztsuche. Link: <http://www.kvberlin.de/60arztsuche/index.html>
- [15] Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten bei Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG). Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045), das zuletzt durch Artikel 2a des Gesetzes vom 17. Juli 2009 (BGBl. I S. 2091) geändert worden ist. Link: <http://bundesrecht.juris.de/ifsg/index.html>
- [16] Menzies SL, Kadwad V, Pawloski LC, Lin T-L, Baughman AL, Martin M, Tondella MLC, Meade BD, and the Pertussis Assay Working Group: Development and Analytical Validation of an Immunoassay for Quantifying Serum Anti-Pertussis Toxin Antibodies Resulting from *Bordetella pertussis* Infection. *Clin Vacc Immunol* 2010; 17:2016-23
- [17] Dalby T, Sørensen C, Petersen JW, Krogfelt KA. Pertussis serology: assessment of IgG anti-PT ELISA for replacement of the CHO cell assay. *APMIS* 2010; 118: 968-72
- [18] Riffelmann M, Thiel K, Schmetz J, Wirsing von Koenig CH: Performance of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detection of Antibodies to *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 4459-4463
- [19] Halperin SA, Scheifele D, De Serres G, Noya F, Meekison W, Zickler P, Larrivee L, Langley<sup>a</sup> JM, McNeil SA, Dobson S, Jordanov E, Thakur M, Decker MD, Johnson DR: Immune responses in adults to revaccination with a tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine 10 years after a previous dose. *Vaccine* 2011; available online 21.11.2011; doi:10.1016/j.vaccine.2011.11.035