

Aus der Klinik und Poliklinik für
Allgemein-, Viszeral-, und Transplantationschirurgie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die zelluläre und humorale Immunantwort nach SARS-CoV-2 Impfung
unter Immunsuppression

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Elisa Schneider
aus Gummersbach

Mainz 2025

Nachnutzungslizenz:
Namensnennung (CC-BY-4.0)

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 26. August 2025

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis.....	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 SARS-CoV-2	1
1.1.1 Coronaviridae	1
1.1.2 Covid- 19: Erkrankung, Risiko und Therapie	3
1.1.3 Impfungen.....	6
1.2 Organtransplantation.....	8
1.2.1 Organtransplantation in Deutschland	8
1.2.2 Organspende während der Covid-Pandemie	8
1.2.3 Immunsuppression nach Organtransplantation.....	9
1.3 Immunantwort unter Immunsuppression	12
1.3.1 B- und T-Zell Aktivierung nach Impfungen	14
1.4 Zielsetzung	16
2 Material und Methoden	18
2.1 Material und Geräte.....	18
2.2 Patienten	19
2.3 Methoden.....	21
2.3.1 Antikörperbestimmung	21
2.3.2 Isolierung der PBMCs	22
2.3.3 Auswertung und Statistik.....	25
2.3.4 Fragebogen zu Impfungen, Infektionen und Schutzverhalten.....	26
3 Ergebnisse	27
3.1 Patienten Charakteristika	27
3.2 Antikörper	28
3.3 T- Zell- Reaktivität	30
3.4 Immunsuppression	36
3.5 SARS-CoV-2 spezifische Immunantwort ein Jahr nach der ersten Impfung	37
3.6 Individuelles Risikoverhalten.....	40
4 Diskussion.....	42
4.1 Humorale und zelluläre Immunantwort nach zweimaliger Impfung mit BNT162b2	42
4.2 Einflussfaktoren auf die Immunantwort.....	45

4.3	Infektionen mit SARS-CoV-2	47
4.4	Grenzen der Studie	48
5	Zusammenfassung	50
6	Literaturverzeichnis	53
7	Anhang	62
7.1	Fragebogen	62
7.2	Publikation	64
	Danksagung	VII

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Flussdiagramm zum Studienverlauf	20
Abbildung 2: Absetzen der verschiedenen Blutbestandteile nach Zentrifugation.....	22
Abbildung 3: Flussdiagramm zum Ablauf der Isolierung von PBMCs.....	23
Abbildung 4: Pipettierschema einer Well Platte des CoV-iSpot Interferon- γ + Interleukin-2 strip format Kits, beispielhaft an drei Strips.	24
Abbildung 5: Die humorale Immunantwort bei TX-Patienten im Vergleich zu den gesunden Probanden zwischen 4 Wochen nach der ersten (BE1) bzw. zweiten Impfstoffdosis (BE2) und 6 Monaten nach der ersten Impfstoffdosis (BE3).	29
Abbildung 6: Humorale Reaktion auf das SARS-CoV-2-Antigen.....	30
Abbildung 7: Ein repräsentativer ELISpot eines LTX-Patienten.	32
Abbildung 8: SARS-CoV-2-Antigen spezifische zelluläre Reaktion nach zwei Dosen des BNT162b2-Impfstoffs	33
Abbildung 9: Rückgang der zellulären (A) und humoralen (B) Immunantwort ein halbes Jahr nach der ersten Impfung	34
Abbildung 10: Darstellung der verschiedenen Booster-Impfungen nach der zweifachen Impfung mit BNT162b2	38

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Material und Geräte, die für die Untersuchungen der T-Zell Reaktivität verwendet wurden.	18
Tabelle 2: Patienten Charakteristika und demographische Daten.....	27
Tabelle 3: IgG- Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Spike-Protein nach der 1.BE.....	28
Tabelle 4: IgG- Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Spike-Protein nach der 2.BE.....	28
Tabelle 5: IgG- Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Spike-Protein nach der 3.BE.....	30
Tabelle 6: T- Zell Reaktivität nach der 1.BE.....	31
Tabelle 7: T- Zell Reaktivität nach der 2.BE.....	31
Tabelle 8: T- Zell Reaktivität nach der 3.BE.....	33
Tabelle 9: Messungen der SARS-CoV-2 Antigen spezifischen humoralen und zellulären Immunantwort.....	35
Tabelle 10: Übersicht der verschiedenen Immunsuppressiva	36

Abkürzungsverzeichnis

ACE2	- angiotensin converting enzyme 2
ARDS	- acute respiratory distress syndrome; akutes Atemnotsyndrom
BE	- Blutentnahme
BMI	- body mass index
CD	- clusters of differentiation
Covid-19	- Coronavirus Disease- 2019
CNI	- Calcineurin-Inhibitor
CyA	- Cyclosporin A
DMV	- Doppelmembranvesikel
DSO	- Deutsche Stiftung Organtransplantation
eGFR	- geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
ELISpot	- enzyme linked immunospot assay
EMA	- Europäische Arzneimittel-Agentur
ET	- Eurotransplant
Ever	- Everolimus
Ggf.	- gegebenenfalls
GM- CSF	- granulocyte macrophage colony-stimulating factor
GP	- gesunde Probanden
HBs	- Hepatitis-B-Surface-Protein
IFN- γ	- Interferon gamma
Ig	- Immunglobulin
IL	- Interleukin
IQA	- Interquartilsabstand
KW	- Kalenderwoche
LTX	- Lebertransplantation
MERS- CoV	- middle east respiratory syndrome coronavirus
MHC	- major histocompatibility complex
MMF	- Mycophenolatmofetil
MPA	- Mycophenolsäure
mTOR	- mammalian target of rapamycin
NF- AT	- nukleärer Faktor aktivierter T- Zellen
NF- κ B	- nukleärer Faktor- κ B
NK- Zelle	- natürliche Killerzelle
NTX	- Nierentransplantation
PANGO	- Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages
PBMCs	- mononukleäre Zellen des peripheren Blutes

PBS	- phosphatgepufferte Salzlösung
PEI	- Paul-Ehrlich-Institut
RBD	- rezeptorbindende Domäne
RKI	- Robert Koch-Institut
SARS-CoV	- severe acute respiratory syndrome coronavirus
SARS-CoV-2	- severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SI	- Simulationsindex
STIKO	- Ständige Impfkommission
Tac	- Tacrolimus
TNF- α	- Tumornekrosefaktor α
TPG	- Transplantationsgesetz
TX	- Transplantation
Vgl.	- Vergleiche
VOC	- variants of concern
VOI	- variants of interest
VUM	- variants under monitoring
WHO	- world health organisation
z.B.	- zum Beispiel

Gender-Hinweis

Zur besseren Lesbarkeit wird in dieser Dissertation für Personenbezeichnungen das generische Maskulinum verwendet. Diese beziehen sich – sofern nicht anders kenntlich gemacht – im Sinne der sprachlichen Gleichbehandlung auf alle Geschlechter.

Hinweis

Abschnitte des Material-, Methoden- und Ergebnisteils dieser Dissertation wurden bereits im Jahr 2023 publiziert (1), siehe dafür auch Anhang 7.2. Die Datenerhebung und Auswertung erfolgten in Zusammenarbeit mit Dr. Anja Lautem, die zudem die statistische Berechnung und die Verschriftlichung der Publikation durchführte. Die Erstellung, Durchführung und Auswertung des Fragebogens wurden von mir persönlich umgesetzt.

1 Einleitung

1.1 SARS-CoV-2

1.1.1 Coronaviridae

Das Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Type 2 (SARS-CoV-2) wurde 2020 als Auslöser für die Covid-19 Erkrankung identifiziert und ist der Grund für die weltweite Corona-Pandemie. Coronaviren wurden erstmals im Jahre 1968 beschrieben und nach dem kronenartigen Aussehen ihrer Oberfläche benannt. Sie gehören der Ordnung Nidovirales und der Familie Coronaviridae an. Coronaviren sind umhüllte, einzelsträngige RNA-Viren, die in vier große Gattungen unterteilt werden. Dabei können Alpha- und Betacoronaviren den Menschen infizieren, während Gamma- und Deltaviren vornehmlich Vögel infizieren (2, 3). Das neue Coronavirus gehört zu der Gattung der Betacoronaviren. Infektionen verursachen beim Menschen vor allem leichte Erkrankungen des Respirationstraktes oder des Gastrointestinaltraktes. Insgesamt sind 7 humanpathogene Coronaviren bekannt, wobei vier davon endemisch zirkulieren und meist mildere Symptome im oberen Respirationstrakt hervorrufen (4-6). Jährlich sind Coronaviren für etwa 15-30 % aller respiratorischen Infektionen verantwortlich, wobei besonders Risikogruppen wie Neugeborene, Ältere und Personen mit starken Komorbiditäten betroffen sind (7-9). Die hochpathogenen Viren SARS-CoV, MERS-CoV, und SARS-CoV-2 können schwere Infektionen des tiefen Respirationstraktes mit möglicherweise tödlichem Verlauf verursachen (10). Historisch relevant sind vor allem zwei Epidemien mit Coronaviridae. Klinisch traten hierbei besonders ein akuter Krankheitsverlauf mit Fieber und respiratorischen Symptomen, sowie sich daraus entwickelnde Pneumonien auf, die zum Teil einen schweren Verlauf mit akutem Atemnotsyndrom nahmen. SARS-CoV aus dem Reservoir der Fledermäuse trat erstmals 2002 in Südostasien auf. Bei über 8000 dokumentierten Fällen betrug die Mortalitätsrate 9 % (9). MERS-CoV aus dem Reservoir der Dromedare trat 2012 erstmals in Saudi-Arabien auf. Es wurden über 2500 Fälle bekannt bei einer Mortalitätsrate von 34 % (7).

Im Dezember 2019 wurde erstmals eine SARS-CoV-2 Infektion in Wuhan, China beobachtet. Bis zum 31. Dezember wurden 27 Infektionen gezählt, wobei man einen Zusammenhang zu einem Großmarkt für Fisch und Meeresfrüchte herstellte. SARS-CoV-2 hat sehr große genetische Ähnlichkeiten mit Fledermaus-Coronaviren, weshalb davon ausgegangen wird, dass dieses Virus aus dem Reservoir der Fledermäuse stammt und mithilfe eines Zwischenwirts auf den Menschen übertragen werden kann (11, 12). Die Patienten fielen mit ungewöhnlichen, viralen Pneumonien unbekanntem Erregers auf (13, 14). Detektiert wurde die neue Form des Coronavirus erstmals im Januar 2020. Einen Monat später benannte die WHO die Erkrankung an dem Virus als Covid-19 und verlieh dem Virus aufgrund der schnellen

Ausbreitung ein globales, sehr hohes Risiko. Zu diesem Zeitpunkt waren bereits alle 34 Provinzen Chinas betroffen. Im Verlauf der folgenden 8 Monate entwickelte sich SARS-CoV-2 zur Ursache der weltweiten Corona-Pandemie mit über 30 Millionen weiteren Infektionen (13). Bis März 2023 wurden über 750 Tausend Infektionen und knapp 7 Millionen Todesfälle durch Covid-19 von der WHO dokumentiert (15).

SARS-CoV-2 hat eine Genomlänge von 27 bis 32 Kilobasenpaaren. Das Nukleokapsid besteht aus dem einzelsträngigen RNA-Genom sowie dem Nukleokapsid-(N-) Protein und wird von einer Virusmembran umgeben. Auf der Oberfläche des Virus befinden sich membranständige Strukturproteine, die durch das einsträngige RNA-Genom kodiert werden. Dazu gehören das Spike-(S-) Protein, das Envelope-(E-) Protein und das Matrix- oder Membran-(M-) Protein (7, 9, 16). Von besonderer Bedeutung für die Infektion der Zielzelle ist das S-Protein, indem es eine regelhafte Antikörperreaktion der Zielzelle verhindern kann (17). Das Spike-Protein besteht aus mehreren Domänen, darunter Signalpeptide, das rezeptorbindende S1-Fragment und das S2-Fusionsfragment. Über die rezeptorbindende Domäne des S1-Fragments bindet SARS-CoV-2 an den ACE2-Rezeptor der Wirtszelle und begünstigt die Fusion beider Zellen über eine Strukturänderung. Relevant für die Fusion ist des Weiteren die Beteiligung von Proteasen, wie etwa der transmembranen Serinprotease TMPRSS2 (18, 19). Mutationen und strukturelle Unterschiede im Spike-Protein werden als Grund für die stärkere Bindung an den ACE2-Rezeptor und die damit einhergehende schnellere Verbreitung des Virus weltweit im Vergleich zu SARS-CoV und anderen SARS-like Viren betrachtet (7, 19, 20). Durch die Fusion der Lipiddoppelschicht der Virushülle mit der Membran der Zielzelle kann die unverhüllte genomische RNA in die Wirtszelle übertreten. Dort wird diese in Polyproteine translatiert und für die Replikation und Transkription mit virusinduzierten Doppelmembranvesikeln zusammengesetzt, sodass Strukturproteine kodiert und neue Viruspartikel gebildet werden können. Da die DMVs keine pathogen-assoziierten molekularen Muster tragen, werden sie vom Immunsystem der Wirtszelle nicht erkannt (19). ACE2 wird in vielen verschiedenen Geweben exprimiert, wie beispielsweise im Respirationstrakt, Ösophagus, Ileum, in der Cornea, Leber, Gallenblase, im Herz und im Hoden (21). Die höchste Expression befindet sich jedoch im nasalen Flimmerepithel. Dies erklärt ein vereinfachtes Eintreten des Virus über den oberen Respirationstrakt und eine damit einhergehende erhöhte Viruslast im Nasensekret, die eine hohe Ausscheidung und Ansteckung über die oberen Atemwege begünstigt (18).

Wie andere RNA-Viren ist auch SARS-CoV-2 in der Lage genomisch zu mutieren. RNA-Viren mutieren durch Fehler während der Replikation aufgrund fehlender Korrekturleseenzyme in den RNA abhängigen RNA-Polymerasen (22). Die Mutationsrate treibt die Evolution von Viren und die Variabilität ihres Genoms voran und ermöglicht es den Viren, der Immunität des Wirts zu entgehen oder sogar Arzneimittelresistenzen zu entwickeln (23). Durch die Übertragung

und Anpassung an weltweite Populationen kam es im Verlauf der Corona Pandemie sehr schnell zur Ausbildung von Mutationen und neuen SARS-CoV-2 Varianten (24). In hohem Maße ist das S-Protein von den Mutationen betroffen, sodass vor allem die Übertragung, die Infektiosität aber auch das Ansprechen auf Impfstoffe durch die Mutationen beeinflusst werden (22). Eine der ersten Mutationen zugunsten des Virus wurde während der ersten Welle der Pandemie erworben. Die Mutation D614G im Spike-Protein löste die ursprüngliche Variante im April 2020 als Hauptvariante ab (25). Varianten mit dieser Mutation zeigen erhöhte Übertragbarkeit durch eine effizientere Bindung an den ACE2-Rezeptor, sowie Konformationsänderung der RBD und veränderte Spaltmuster die zu erhöhter Fusions- und Replikationsfähigkeit führen (26, 27).

Für die Bezeichnung der verschiedenen Varianten existieren mehrere Klassifikationsverfahren und Nomenklaturen. Die WHO unterscheidet besorgniserregende Varianten (VOC) von unter Beobachtung stehenden Varianten (VOI), um die globale Überwachung und Forschung risikoreicher Varianten zu priorisieren. Die verschiedenen Varianten werden anhand griechischer Buchstaben kategorisiert. Die Nomenklatur nach PANGO ist ebenfalls weit verbreitet und dient der Verfolgung von sich ausbreitenden Varianten (28). Grundlage dieser Nomenklatur sind die zwei ursprünglichsten Formen des in China entdeckten Virus. Dafür werden die Buchstaben A und B verwendet, wobei A direkterweise mit der Wuhan/WH04/2020 Variante und der Buchstabe B mit der Wuhan-Hu-1 Variante in Verbindung gebracht werden. Den Buchstaben können dann bis zu drei weiteren Zahlenstellen folgen, die Untervarianten deklarieren (z.B. B.1.1.7). Ab einer vierten Zifferstelle wird ein weiterer Buchstabe angehängt (z.B. BA.1) (29).

Seit Februar 2022 machte die Omicron Variante (B.1.1.529) als VOC mehr als 98% aller SARS-CoV-2 Infektionen aus, wobei zuvor auch Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.315), Gamma (P.1) und Delta (B.1.617.2) als VOC zirkulierten. Die weltweit dominierende Omicron Variante wurde erstmals im November 2021 in Botswana detektiert (30). Sie birgt ein sehr hohes Ansteckungsrisiko und ein erhöhtes Reinfektionsrisiko bei insgesamt milderem Verlauf und geringerer Hospitalisierungsrate im Vergleich zur Delta Variante (31, 32). Aufgrund weiterer Mutationen innerhalb der Omicron-Elternvarianten (BA.1, BA.2, BA.4/BA.5) werden die verschiedenen Varianten seit dem 15.03.2023 unabhängig voneinander der Gruppe der zu überwachende Varianten (VUM), den VOCs oder VOIs zugeordnet (33).

1.1.2 Covid- 19: Erkrankung, Risiko und Therapie

Die Übertragung des Virus erfolgt über den Kontakt zu Mund-, Nasen oder Augensekreten oder die Tröpfchen eines niesenden oder hustenden Infizierten (34). Die Inkubationszeit

variiert abhängig von den immunologischen Voraussetzungen eines Patienten zwischen 2 und 18 Tagen bei einem Häufigkeitsgipfel von 3-7 Tagen (35, 36). Nachweisbar kann das Virus bereits einige Tage vor Symptombeginn in Nasen- oder Rachensekret sein. Die häufigsten Symptome bei einer Infektion mit SARS-CoV-2 sind Fieber, trockener Husten und Müdigkeit (13, 37-40). Des Weiteren können Kopfschmerzen, Rhinorrhoe, Diarrhoe, Dyspnoe, Pneumonie, Hämoptysen, Appetitlosigkeit, Halsschmerzen, Brustschmerzen, Kurzatmigkeit, Übelkeit und Erbrechen sowie Störungen des Geruchs- und Geschmacksinnes auftreten (13, 16, 41). Generell wird von einer sehr variablen Ausprägung der Symptome berichtet, von asymptomatisch oder mild verlaufenden Infektionen vorwiegend bei Kindern und jungen Erwachsenen bis hin zu schweren Erkrankungen mit Hospitalisierung oder Todesfolge. Es wurde zudem festgestellt, dass asymptomatische Patienten über eine genauso hohe Viruslast verfügen können wie symptomatische Patienten, sodass sie auch gleichermaßen infektiös sind und das Virus so unbewusst auf Gesunde übertragen können (42). Mögliche Komplikationen der Covid-19 Erkrankung sind ARDS, akute Niereninsuffizienz, Gerinnungsstörungen und Thromboembolien (43). Eine Covid-19 Erkrankung des Erwachsenen gilt als schwer bei Dyspnoe, einer Atemfrequenz über 30/min, einer Sauerstoffsättigung unter 93 %, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ unter 300 und/oder Lungeninfiltraten über 50 % innerhalb der ersten 24-48 Stunden. Ein kritisches Stadium ist bei respiratorischem Versagen, septischem Schock und/oder Multiorgandysfunktion/ -versagen mit notwendiger intensivmedizinischer Behandlung gegeben (44).

Es wurden viele Risikofaktoren für das Auftreten schwerer Verläufe festgestellt. Dazu gehören vor allem ein Alter über 60 Jahre, männliches Geschlecht, wesentliche körperliche Komorbiditäten wie etwa kardiovaskuläre Vorerkrankungen, Lungen-, Nieren- oder maligne Erkrankungen, Diabetes, Adipositas, Schwangerschaft und Immundefizienz (13, 43-45). Studien zeigen, dass das Risiko für eine intensivmedizinische Versorgung und eine erhöhte Mortalität mit dem Alter, Komorbiditäten, männlichem Geschlecht und Dyspnoe steigt (45, 46). Als Risikogruppe für eine Infektion mit SARS-CoV-2 wurden auch Empfänger von Organen betrachtet. Während sich das klinische Erscheinungsbild bei infizierten Transplantationspatienten kaum von den allgemein am häufigsten auftretenden Symptomen einer Covid-19 Infektion unterscheidet, konnte in einigen Studien eine erhöhte Hospitalisierungsrate von 78-89 % festgestellt werden (47, 48). Neuesten Studien zufolge gibt es keine Unterschiede in der 30-Tages Mortalität zwischen transplantierten und nicht transplantierten Patienten. Jedoch konnte ein erhöhtes Risiko für eine intensivpflichtige Behandlung und ein akutes Nierenversagen festgestellt werden (49).

Die meisten Covid-19 Erkrankten genesen vollständig, 10-20 % leiden jedoch an mittel- bis langfristigen Folgeerscheinungen wie Müdigkeit, Kurzatmigkeit, Belastungsintoleranz, Konzentrationsschwäche, Angstzuständen und Depression sowie neurokognitiven Einbußen

(50, 51). Ein solches Long-Covid-Syndrom, auch „Post-Covid“, wird nach der WHO bei einer Dauer über 2 Monate und erstmaligem Auftreten 3 Monate nach der akuten Infektion definiert (52).

Nachdem es mit Ausbruch der Pandemie lange keine Medikamente und Impfstoffe gegen eine Infektion mit SARS-CoV-2 gab, existieren inzwischen einige antivirale und monoklonale Medikamente sowie eine Vielzahl an Impfstoffen.

Paxlovid® wurde als antivirales Medikament gegen Covid-19 im Januar 2022 zugelassen. Der Kombinationswirkstoff des Medikaments besteht aus Nirmatrelvir, einem Proteaseinhibitor zur Verhinderung der Replikation des Virus, in Kombination mit Ritonavir, einem Enhancer (53). Das Virostatikum wird über fünf Tage oral eingenommen und konnte in klinischen Studien eine signifikante Verringerung von schweren Verläufen bei Risikopatienten zeigen. Effektiver scheint das Medikament bei älteren, immunsupprimierten beziehungsweise neurologisch oder kardiovaskulär vorerkrankten Patienten zu sein (54, 55).

Ein weiteres Virostatikum ist Lagevrio® mit dem Wirkstoff Molnupiravir. Dieser ist eine Vorstufe zu einem Nukleosidderivat und wird in die Virus-DNA eingebaut. Daraus resultiert eine Vielzahl von mutierten RNA-Produkten sowie eine verringerte Replikation des Virus (56). Im Vergleich reduzierte Paxlovid® das Risiko für Hospitalisierung und Mortalität jedoch stärker als Lagevrio® (57).

Veklury® enthält den Wirkstoff Remdesivir und wurde ursprünglich gegen den Ausbruch des Ebola-Virus in Westafrika 2014-2016 entwickelt. In Europa wurde das Medikament im Sommer 2020 zugelassen. Remdesivir ist eine inaktive Vorstufe eines Nukleotidanalogs, welche in die Virus-RNA eingebaut wird und somit die RNA Produktion unterbindet (58). In Studien konnte gezeigt werden, dass hospitalisierte Patienten unter Remdesivir eine verkürzte Genesungszeit und nicht beatmete Patienten ein geringeres Mortalitätsrisiko haben (59, 60). Der Einsatz monoklonaler Antikörper gegen SARS-CoV-2 wurde lange diskutiert. Diese Medikamentenklasse bietet die Möglichkeit stark immunsupprimierte Patienten, die keine hinreichende Immunantwort auf die Coronaimpfungen zeigen, vor schweren Verläufen zu schützen. Eine Anwendung kann prophylaktisch vor oder nach Kontakt zum Virus oder therapeutisch indiziert sein. Studien zeigen, dass besonders das erhöhte Mortalitätsrisiko nach SARS-Cov-2 Infektion unter CD20-Depletion mithilfe von Antikörper Präparaten verringert werden kann. Hierbei kommen Substanzen wie Ronapreve® und Xevudy® zum Einsatz (61). Ronapreve® enthält die Wirkstoffe Casirivimab und Imdevimab, zwei neutralisierende IgG1-Antikörper gegen das Spike-Protein (62). Xevudy® enthält Sotrovima, ebenfalls ein Antikörper, der SARS-CoV-2 über die Bindung der Epitope des Spike-Proteins neutralisiert.

1.1.3 Impfungen

Die Entwicklung eines wirksamen Vakzins gegen SARS-CoV-2 sowie eine adäquate medikamentöse Therapie erschien unabdingbar zur Eindämmung der weltweiten Corona-Pandemie. Die Entwicklung eines Impfstoffes ist unter normalen Umständen ein langer Prozess, der mehrere Jahre dauern kann. Nach Bestimmung eines entsprechenden Erregers, seiner Antigene und Entwicklung möglicher Impfstoffkandidaten, werden diese zunächst im Labor und im Tierversuch getestet. Klinisch wird ein Impfstoff in drei Stufen auf Wirksamkeit und Sicherheit geprüft, erst danach erfolgt die Bewertung und Empfehlung der Europäischen Arzneimittelagentur und der Europäischen Kommission. In Deutschland ist das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) für die staatliche Prüfung und Freigabe entsprechender Impfstoffchargen zuständig. Das Bundesministerium für Gesundheit hat beim PEI inzwischen das Zentrum für Pandemie-Impfstoffe und -Therapeutika entwickelt, um zukünftig im Fall einer Pandemie Impfstoffe und Therapeutika noch schneller entwickeln und verteilen zu können (63). Die Ständige Impfkommission (STIKO) des Robert Koch-Instituts (RKI) entwickelt in Anlehnung an den größten Nutzen für das Individuum und die Bevölkerung Impfempfehlungen für Deutschland.

Am 21.12.2020 wurde nach knapp einem Jahr Pandemie der erste Corona-Impfstoff von der Firma Pfizer/BioNTech durch die EMA zugelassen. Möglich wurden die schnelle Entwicklung und Zulassung durch weltweite Forschungsaktivitäten, bereits vorhandenes Wissen über die Coronavirus-Epidemien SARS-CoV im Jahr 2002 und MERS-CoV im Jahr 2012, frühzeitige und kontinuierliche Beratung der Pharmaunternehmen durch Arzneimittelbehörden und die Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) sowie die zeitliche Kombination klinischer Prüfungsphasen (64).

Im März 2023 werden von der STIKO zehn Covid-19-Impfstoffe unterschiedlicher Impfstofftypen zur Grundimmunisierung und Auffrischung empfohlen, darunter befindet sich kein Lebendimpfstoff (65). Der von der Firma Pfizer/BioNTech hergestellte Impfstoff Comirnaty® (BNT162b2) gehört zu der Gruppe der mRNA-Impfstoffe. Im Vergleich zu konventionellen Impfstoffen enthalten diese anstelle abgeschwächter Erreger-Antigene die mRNA für Erreger-Proteine. Diese wird von den Körperzellen translatiert, sodass wie in diesem Fall das Spike-Protein produziert werden kann. Bestandteile dessen können wiederum über antigenpräsentierende Zellen dem körpereigenen Immunsystem präsentiert werden, sodass die Antikörperproduktion und zelluläre Immunantwort angeregt werden (66, 67).

Im Februar 2021 wurde der vektorbasierte, rekombinante Impfstoff Vaxzevria® (AZD1222) der Firma Oxford/AstraZeneca zugelassen. Der Impfstoff nutzt einen Vektor mit genetisch modifiziertem und damit nicht mehr replizierbarem Virusmaterial aus Adenoviren (ChAdOx1-S), der den Bauplan für das Spike-Protein enthält. Seit dem 01.12.2021 ist der Impfstoff in

Deutschland nicht mehr verfügbar (65, 68). Als zweiter Vektorimpfstoff wurde Jcovden® (Ad26.COVID-2-S) der Firma Janssen Pharmaceutica N.V. im März 2021 zugelassen. Aufgrund selten auftretender thromboembolischer Ereignisse wurde eine Altersbeschränkung auf über 60-Jährige für diese beiden in Deutschland zugelassenen Vektorimpfstoffe verhängt (65). Spikevax® (mRNA- 1273) der Firma Moderna wird seit Ende April 2021 als alternativer mRNA-Impfstoff geimpft. Zwischen 12 und 29 Jahren wird Spikevax® aufgrund eines erhöhten Peri- und Myokarditisrisikos nicht mehr empfohlen (65). Des Weiteren sind in Deutschland der proteinbasierte Impfstoff Nuvaxovid® (NVX-CoV2327) und der inaktivierte Ganzvirusimpfstoff Valneva® (VLA2001) zugelassen. Seit Herbst 2022 sind zudem bivalente mRNA-Impfstoffe von Pfizer/BioNTech und Moderna zur Auffrischung zugelassen, die neben der ursprünglichen SARS-CoV-2 mRNA auch die mRNA der Omicron-Varianten BA.1 oder BA.4/5 enthalten. Alle von der STIKO empfohlenen Impfstoffe wurden in Zulassungsstudien nach zweimaliger Impfung als hochwirksam gegen symptomatische Infektionen (63-95 %) und schwere Erkrankungen (75-100 %) eingestuft (65). In Phase-III-Studien zeigten mRNA-Impfstoffe nach zwei Dosen mit über 90 % die beste Wirksamkeit gegen symptomatische Infektionen (69, 70). Eine reduzierte Wirksamkeit zeigte sich für mRNA-Impfstoffe und AZD1222 gegen die Delta Variante und im Allgemeinen nach 6 Monaten (69). Nach zweifacher Grundimmunisierung mit BNT162b2, mRNA-1273 oder AZD1222 sowie einer zusätzlichen Booster-Impfung mit einem dieser drei Impfstoffe, konnte eine höhere Wirksamkeit gegen symptomatische Erkrankungen mit der Delta-Variante (>95 %) als gegen die Omicron-Variante (62-73 %) festgestellt werden (71).

Generell wird die doppelte Impfung mit BNT162b2 gut vertragen. Insgesamt zeigen sich mehr Nebenwirkungen bei Patienten unter dem 55. Lebensjahr und häufiger nach der zweiten als nach der ersten Impfung. Lokale Reaktionen in Form von Rötung, Schwellung und leichten Schmerzen der Einstichstelle entwickeln sich meist mild bis moderat und innerhalb von ein bis zwei Tagen wieder zurück. In unter 1 % der Fälle treten starke Schmerzen auf. Systemisch kommt es am häufigsten zu Müdigkeit und Kopfschmerzen (59 % und 52 %) sowie in 11-16 % der Fälle zu Fieber über 38° C. (70)

Aufgrund der begrenzten Bereitstellung von Impfdosen nach Zulassung der ersten Impfstoffe wurde von der STIKO im Februar 2021 ein Stufenplan zur Priorisierung der Impfstoffverteilung erstellt. Dieser zielte auf eine bestmögliche Verhinderung von Schäden durch die Pandemie ab, sodass sich Risikopersonen für einen schweren bis tödlichen Verlauf, Personen mit arbeitsbedingtem erhöhtem Infektionsrisiko durch Exposition und Personen in häufigem Kontakt mit besonders gefährdeten Risikogruppen vordringlich impfen lassen konnten. In der dritten Stufe wurden demnach auch immunsupprimierte Personen mit Zustand nach Organtransplantation sowie chronischen Leber- oder Nierenerkrankungen priorisiert (72).

1.2 Organtransplantation

1.2.1 Organtransplantation in Deutschland

Die postmortale Organspende wird in Deutschland durch das Transplantationsgesetz (TPG) geregelt. Hierbei werden die bundesweiten Rahmenbedingungen für die Entnahme, Spende, Vermittlung und Übertragung von Organen und Geweben an Empfänger gesetzt. Die zentrale Koordinierungsstelle rund um das Thema Organspende ist in Deutschland die Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO). Die DSO steht in ständigem Austausch mit dem Entnahmekrankenhaus, den Transplantationszentren, sowie der zentralen Vermittlungsstelle Eurotransplant (ET). ET ist für die Allokation der Spenderorgane in Deutschland, Österreich, Belgien, den Niederlanden, Ungarn, Slowenien, Kroatien und Luxemburg zuständig. Die DSO koordiniert dabei die Spendercharakterisierung, die Einwilligung zur Spende, die Entnahme, Konservierung, Verpackung sowie den Transport der entsprechenden Spenderorgane (73).

Generell sind die postmortale Spende und Transplantation von Herz, Lunge, Niere, Leber, Pankreas und Dünndarm möglich. Auch Gewebe wie Augenhornhaut, Herzklappen und Blutgefäße können transplantiert werden, wobei die Zuständigkeit dafür beim PEI und zertifizierten Gewebebanken liegt. In Deutschland werden postmortal jährlich rund 2600 Organe gespendet, wobei die häufigsten Organe Nieren (ca. 1350 jährlich) und Lebern (ca. 670 jährlich) sind (74). Der Bedarf nach Spenderorganen übersteigt das Angebot jedoch bei Weitem. Jährlich warten in Deutschland etwa 6500 Patienten auf eine Spender-Niere und 840 Patienten auf eine Spender-Leber (75). Die Wartezeit für eine postmortale Spende variiert stark je nach Organ, Dringlichkeit und weiteren Allokationskriterien wie etwa der Blutgruppe und Gewebetypen. So beträgt die durchschnittliche Wartezeit für eine Spender-Niere in Deutschland etwa acht bis neun Jahre (76). Als Alternative zu der langen Wartezeit auf ein postmortal gespendetes Organ kann im Falle der Nieren auch eine Lebendspende und im Fall der Lebern eine Lebend-Teilspende in Erwägung gezogen werden.

1.2.2 Organspende während der Covid-Pandemie

Durch den Ausbruch der Covid-19 Pandemie wurde weltweit ein Rückgang der Organtransplantationen verzeichnet. Es herrschte Unsicherheit über die Übertragung von SARS-CoV-2 durch infizierte Spenderorgane und deren Einfluss auf den Empfänger (77). Zudem konnten Pandemie bedingte Engpässe in den intensivmedizinischen Abteilungen in vielen Ländern eine adäquate Versorgung von Organspendern vor- und Organempfängern nach einer Organtransplantation nicht garantieren (78). Nationen und auch die verschiedenen Transplantationszentren innerhalb dieser gingen weltweit sehr uneinheitlich mit der Situation um. Insgesamt wurde ab März 2020 aufgrund der eingeschränkten Kapazitäten zurückhaltend transplantiert. Die meisten Länder strukturierten routinemäßige Kontrolluntersuchungen von

Transplantierten in telemedizinische Konsultationen um (79). Durch die unzureichenden Kenntnisse über SARS-CoV-2 Infektionen bei Transplantationspatienten und die zunehmende Knappheit an Intensivbetten bei gleichzeitig rasant ansteigenden Infektionszahlen, sollte das Infektionsrisiko dieser Patientengruppen so gering wie möglich gehalten werden. In Spanien und England beispielsweise wurden Lebendspenden verschoben und postmortal gespendete Organe in nur sehr dringlichen, lebensrettenden Situationen transplantiert. In den Niederlanden wurden ebenfalls renale Lebendspenden pausiert, Leber-, Lungen- und Herztransplantationen jedoch weitergeführt. In Straßburg und Paris wurden Lebend- und postmortale Nierenspenden gestoppt, während Lebertransplantationen in Paris weitergeführt wurden. In Skandinavien und Deutschland wurden Transplantationen weitestgehend fortgeführt, sodass auch die Anzahl der postmortalen Organspenden stabil blieb (74, 79). Sowohl Spender als auch Empfänger wurden vor einer Transplantation auf SARS-CoV-2 getestet, wobei eine Infektion nicht zwangsläufig mit der Entscheidung über die Durchführung der geplanten Transplantation einherging. In Bezug auf Lebendspenden wurde zurückhaltend agiert und diese nach Möglichkeit auf einen späteren Zeitpunkt verschoben (79).

1.2.3 Immunsuppression nach Organtransplantation

Nach einer Organtransplantation müssen Patienten lebenslanglich immunsuppressive Medikamente einnehmen. Grund dafür ist die Vermeidung einer möglichen Abstoßungsreaktion. Im Allgemeinen würde das körpereigene Immunsystem Oberflächenproteine des transplantierten Organs als körperfremd erkennen und eine Immunreaktion auslösen, die eine Abstoßung des Organs zur Folge haben kann. Unter den Abstoßungsreaktionen wird zwischen hyperakuten, akuten und chronischen Abstoßungen differenziert. Um dies zu verhindern, wird das Immunsystem mithilfe von Immunsuppressiva unterdrückt, was auf den Erhalt des Organs abzielt. Es gibt viele verschiedene Substanzklassen, die dafür verwendet werden.

Glucocorticoide

Glucocorticoide gehören zu den katabolen Steroidhormonen und wirken ubiquitär auf den Körper. Neben der antiinflammatorischen und immunsuppressiven Wirkung haben sie auch antiproliferative, neurologische und psychotrope Effekte. Die Wirkung wird vor allem über die Bindung intrazellulärer Rezeptoren vermittelt, die mit verschiedenen Genen interagieren (80, 81). Von zentraler Bedeutung ist dabei die Hemmung von Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B, einem wichtigen Stimulator für die Bildung einer Vielzahl von Zytokinen. Zytokine sind regulatorische Botenstoffe, die an der Signalübertragung, Differenzierung und Proliferation von Zellen beteiligt sind. Sie werden unter anderem von Immunzellen sezerniert und vermitteln Entzündungsreaktionen. Glucocorticoide hemmen unzählige Zytokine, darunter IL-1, IL-2 und TNF- α , die wichtig zur Regulation von NF- κ B und der T-Zell Aktivierung sind (82, 83). Des

Weiteren dämpfen Steroide die CD4⁺-T-Zell Aktivierung durch die Modulation der dendritischen Zellfunktion und des T-Zell-Rezeptors (82). Verwendet wird häufig (Methyl-) Prednisolon. Um Langzeitfolgen wie Osteoporose, Muskelatrophie und Hypertonie zu vermeiden, werden Steroide in Langzeittherapie unterhalb der sogenannten „Cushing-Schwelle“ dosiert, was einer Dosis von nicht mehr als 0,1mg/kg Körpergewicht entspricht.

Calcineurin-Inhibitoren

Calcineurin-Inhibitoren (CNI) wirken über die Unterdrückung der Proteinphosphatase Calcineurin, was zu verminderter Dephosphorylierung und Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-AT führt. Dadurch kommt es zu einer geringeren Transkription von proinflammatorischen Zytokinen, wie etwa IL-2 und einer damit einhergehenden reduzierten T-Zell-Aktivierung (84). Durch die fehlende Produktion von IL-4 und IL-5 der T-Zellen kommt es auch zu einem inhibitorischen Effekt auf die B-Zellen und ihre Antikörperproduktion (83). Die häufigsten Vertreter sind Tacrolimus und Cyclosporin-A. Sie wirken unter anderem nephro- und neurotoxisch, können aber auch eine Hypertension und metabolische Störungen auslösen. Das therapeutische Fenster von Calcineurin-Inhibitoren ist entsprechend sehr schmal, sodass individuelle Dosen und ein regelmäßiges Medikamenten Monitoring notwendig sind (85).

mTOR-Inhibitoren

Ein weiterer Bestandteil der immunsuppressiven Therapie sind die mTOR-Inhibitoren. mTOR ist eine Serin-/Threoninkinase, die durch IL-2 aktiviert wird und an Prozessen des Zellstoffwechsels, -proliferation, -metabolismus und dem Zellüberleben beteiligt ist (86, 87). Die Kinase nimmt hohen Einfluss auf den Phosphoinositid-3-Kinase/Akt-Signalweg, der die T-Zell Proliferation und Lymphozytenaktivierung beeinflusst (88). Bekannte Vertreter der mTOR-Inhibitoren sind Everolimus und Sirolimus. Eine Vielzahl unerwünschter Nebenwirkungen wie etwa Insulinresistenz, Niereninsuffizienz, Dyslipidämie, Wundheilungsstörung und Angio- sowie Lymphödeme erfordern ebenfalls eine gute Medikamentenüberwachung (89).

Antiproliferativa

Antiproliferative Immunsuppressiva umfassen in erster Linie Azathioprin und Mycophenolatmofetil (MMF) (90). Beide Substanzen interferieren mit der Purinsynthese und inhibieren somit sowohl die B- als auch die T-Zell Proliferation (83). Azathioprin ist ein Purinanalogon und wird als falscher Basenbaustein in die DNA und RNA eingebaut, sodass sowohl der für T- und B-Lymphozyten erforderliche Purinmetabolismus als auch die DNA Synthese gehemmt werden (91). Mycophenolatmofetil ist die Vorstufe zur Mycophenolsäure, einem Inhibitor der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase. So kommt es zu einem Mangel an

Purinen und insbesondere Guanosin in T- und B-Zellen, was eine adäquate zelluläre und humorale Immunantwort verhindert (92).

Monoklonale Antikörper

Ein weiteres Standbein der immunsuppressiven Therapie sind monoklonale Antikörper. Basiliximab gehört zu den sogenannten „Biologicals“ und ist ein IL-2-Rezeptorantagonist, der die α -Bindungsstelle für IL-2 am IL-2-Rezeptor blockiert (93). Dadurch wird die B- und besonders die T-Zell Proliferation verhindert und eine entsprechende Immunreaktion effizient unterdrückt. Basiliximab wird vor allem zur Prophylaxe einer akuten Abstoßungsreaktion eingesetzt (94).

Antilymphozyten- und Antithymocytenoglobuline

Zur Depletion von Immunzellen zur Prophylaxe und Therapie einer Abstoßungsreaktion kommen auch Antikörper-Präparate zum Einsatz. Die Antikörper binden an Oberflächenmoleküle und aktivieren das Komplementsystem sowie natürliche Killerzellen, was die Lyse der gebundenen Zelle zur Folge hat (95). Hergestellt werden entsprechende Präparate durch die Isolierung humaner Immunzellen mit anschließender Immunisierung von Pferden oder Kaninchen (96). Die Antikörper werden isoliert und dienen als Basis für Antilymphozyten- und Antithymocytenoglobuline.

Grundsätzlich gilt, dass eine Immunsuppression nach Organtransplantation meist aus einer Kombination mehrerer Medikamente besteht, jedoch individuell auf jeden Patienten abgestimmt werden muss. Dabei dient die anfänglich starke Induktionstherapie der Prophylaxe einer Immunreaktion des Wirts nach dem ersten Kontakt mit Alloantigenen des Transplantats. Die Erhaltungstherapie soll kontinuierlich vor Abstoßungsreaktionen schützen (97).

Die standardmäßige, immunsuppressive Therapie von Langzeittransplantierten unterscheidet sich je nach Organ. Nach bzw. bereits vor einer Nierentransplantation wird eine Induktionstherapie mit einem IL-2-Rezeptorantagonisten als Biological in Kombination mit weiteren Immunsuppressiva empfohlen. Die initiale Erhaltungstherapie von Nierentransplantierten besteht zumeist aus einer Kombinationstherapie mit einem Calcineurin-Inhibitor (CNI), einem Antiproliferativum und/ oder einem Glucocorticoid (98). Empfohlen wird dabei die Kombination aus Tacrolimus, MMF und Prednisolon. Die Langzeit-Erhaltungstherapie erfolgt ebenfalls als Kombinationstherapie mit einem CNI (99).

Nach einer Lebertransplantation wird initial eine Induktionstherapie mit einem Calcineurin-Inhibitor empfohlen, wobei eine alleinige oder auch eine Kombinationstherapie mit anderen Immunsuppressiva, wie einem mTOR- Inhibitor oder Steroiden, möglich ist. Um Steroide oder auch CNI einzusparen, kann auch MMF eingesetzt werden. In der Erhaltungstherapie wird

ebenfalls die standardmäßige Medikation mit einem CNI empfohlen. Bei erhöhtem Rejektionsrisiko kann diese durch einen mTOR-Inhibitor oder ein Antimetabolit/ Steroid ergänzt werden (100, 101).

In der langfristigen Erhaltungstherapie von Leber- und Nierentransplantierten fällt dementsprechend auf, dass vor allem Nierentransplantierte auf eine Kombinationstherapie aus zwei oder drei verschiedenen Metaboliten angewiesen zu sein scheinen, während Lebertransplantierte nur bei erhöhtem Risiko mehr als ein Immunsuppressivum benötigen. Grund dafür, dass nach einer Lebertransplantation weniger Immunsuppression notwendig ist als nach einer Nierentransplantation ist unter anderem, dass der Leber aufgrund von verschiedenen immunologischen Funktionen eine Art Immuntoleranz zugeschrieben wird. Dadurch ist die Leber in der Lage, die Immunreaktionen zu modulieren. Viele ihrer Immunzellen, darunter insbesondere regulatorische T-Zellen und dendritische Zellen können eine starke Immunantwort gegen fremde Zellen unterdrücken (102, 103). Daraus resultiert eine höhere Toleranz und ein geringeres Risiko für Abstoßungsreaktionen im Vergleich zu Nierentransplantierten, sodass häufig eine weniger immunsuppressive Therapie angestrebt werden kann.

1.3 Immunantwort unter Immunsuppression

Das durch Immunsuppressiva heruntergeregelt und ohnehin geschwächte Immunsystem eines Organempfängers bildet immer auch eine Gefahr für die Anfälligkeit gegenüber Viren, Bakterien und anderen Erregern. Infektionen nach einer Organtransplantation sind häufige Komplikationen und können bei den Transplantierten mit einer hohen Morbidität und Mortalität im Vergleich zu immunkompetenten Personen assoziiert sein (104). Beispielsweise kann die Erkrankung mit dem Epstein-Barr-Virus unter Umständen zu einem Prosttransplantationslymphom (PTLD) führen. Ebenso können das Zytomegalie-Virus (Prävalenz 67 %), Bakterien oder Pilze Auslöser für eine etwaige Langzeitfolge sein (105, 106). Grundsätzlich werden frühe Infektionen innerhalb der ersten 30 Tage, mittlere innerhalb der ersten sechs Monate und späte Infektionen nach über sechs bis zwölf Monaten nach Transplantation unterschieden (107, 108). Für Lebertransplantierte konnten unter anderem die Menge intraoperativ benötigter Bluttransfusionen, die Anzahl von Re-Transplantationen, die Dauer der intensivmedizinischen Therapie, Verwendung von Antibiotika und insbesondere die Menge und Art der Immunsuppression als Risikofaktoren für Infektionen festgestellt werden (108). Auch für Nierentransplantierte scheinen Faktoren wie Alter, Komorbiditäten, bestehende Infektionen, Immunsuppression und die Verwendung von antibiotischen Prophylaxen Einfluss auf das Auftreten von Infektionen zu nehmen (105, 107). Seit der Einführung moderner Immunsuppressiva und Fortschritten in chirurgischen Techniken sowie neuen Erkenntnissen

der Nachsorge und postoperativen Überwachung, konnte das Outcome für Organtransplantierte deutlich gesteigert und die Anzahl von Transplantatabstoßungen verringert werden (104, 105). Mit der Notwendigkeit der immunsuppressiven Therapie bleibt jedoch auch die Anfälligkeit für Erreger und Infektionen, weshalb es für Organempfänger unumgänglich ist, sich bestmöglich vor Infektionen zu schützen.

Impfungen sind grundsätzlich ein effizientes und vergleichsweise kostengünstiges Verfahren, um gewissen Infektionen bei Gesunden vorzubeugen (109). Impfungen entfalten ihre Wirkung über zwei Mechanismen. Durch Verabreichen bereits präformierter Antikörper gegen einen bestimmten Erreger wird eine passive Immunisierung hervorgerufen, die es dem Immunsystem ermöglicht, den Erreger bei Eintritt in den Organismus direkt zu neutralisieren. Die passive Immunisierung eignet sich daher nach einem kürzlichen Kontakt zu einem Erreger. Eine aktive Immunisierung entspricht einer Verabreichung von deaktivierten, toten Anteilen oder abgeschwächten, lebenden Anteilen des Erregers. Diese sollen das Immunsystem dazu animieren, selbst Antikörper und Gedächtniszellen herzustellen. Bei einer Infektion mit demselben Erreger kann dann eine sofortige Immunabwehr gegen diesen eingeleitet werden, da die entsprechenden Immunzellen bereits bestehen.

Im Allgemeinen existieren viele verschiedene Faktoren, die eine Immunantwort auf eine Impfung beeinflussen können. Darunter befinden sich intrinsische Faktoren wie Alter, Komorbiditäten und Genetik, extrinsische Faktoren wie Infektionen, Antibiotika und vorbestehende Immunität, Umwelt-, Ernährungsfaktoren sowie Unterschiede in der Impfwaise, die Einfluss auf das Impfergebnis nehmen können (110). Die Effektivität einer Impfung hängt jedoch insbesondere von der resultierenden Immunantwort auf den Impfstoff und damit von einem funktionierenden Immunsystem ab (104, 111). Indem Immunsuppressiva bei Transplantationspatienten jedoch essenzielle Teile zur Aktivierung von B- und T-Lymphozyten unterdrücken, kann das Immunsystem nicht mehr adäquat auf Erregerbestandteile in Impfungen reagieren. Werden beispielsweise Antigene aus inaktivierten Erregerbestandteilen über dendritische Zellen oder Makrophagen präsentiert, käme es normalerweise zu einer Aktivierung von B- und T-Zellen, die wiederum Zytokine ausschütten und damit eine Proliferation und Differenzierung zu weiteren Immunzellen auslösen würden. Immunsuppressiva sorgen jedoch dafür, dass diese Kaskade unterbrochen bzw. nicht weitergeführt wird, indem die Ausschüttung von Zytokinen und die Aktivierung von B- und T-Zellen unterdrückt werden. Daher ist es wahrscheinlich, unter Immunsuppression keine hinreichende Immunantwort nach einer Impfung ausbilden zu können.

Inaktivierte Impfstoffe können bei Immunsupprimierten häufig keine ausreichende Impfantwort hervorrufen, während Lebendimpfstoffe zwar einen zuverlässigen Schutz gewährleisten, jedoch auch das Risiko schwerer Erkrankungen mit sich bringen (112, 113). Für Lebertransplantierte konnte beispielsweise trotz immunsuppressiver Therapie eine suffiziente

Immunantwort in über 60-80 % der Fälle nach ein- bzw. zweimaliger Influenza-Impfung gezeigt werden (114). Es konnte auch ein Zusammenhang zwischen hohen Dosen MMF >2g täglich und geringer Serokonversion festgestellt werden, während dies nicht auf andere Immunsuppressiva wie Calcineurin-Inhibitoren, Sirolimus oder Azathioprin zutrifft (111, 115). Zusätzlich ist der Zeitpunkt einer Impfung von zentraler Bedeutung. Patienten mit Organversagen und Empfänger eines Organs innerhalb der ersten sechs Monate nach Transplantation wiesen nur eine geringe Immunantwort nach Impfungen auf (83, 116).

1.3.1 B- und T-Zell Aktivierung nach Impfungen

B- Lymphozyten sind die Vertreter der spezifischen, humoralen Immunabwehr. Sie werden durch Antigene aktiviert, indem sie diese frei über den B-Zell-Rezeptor binden und internalisieren. So können inaktivierte Erregerbestandteile eines Impfstoffes abgebaut und in Form von Antigenen über MHC-II-Moleküle auf der Oberfläche der B-Zelle präsentiert werden. Aktiviert wird die Zelle schließlich über T_{H2} -Helferzellen, die über den $CD4^+$ -T-Zell-Rezeptorkomplex an das präsentierte Antigen binden können. Die Helferzelle produziert Zytokine wie beispielsweise IL-4 und IL-21, welche die Proliferation und Ausreifung des B-Lymphozyten stimulieren (117). Eine aktivierte B-Zelle kann dann entweder weiter zur Plasmazelle proliferieren und neutralisierende Antikörper gegen das prozessierte Antigen exprimieren oder sie entwickelt sich zur langlebigen Gedächtniszelle und verbleibt somit im inaktiven Ruhezustand. Tritt der Körper zu einem späteren Zeitpunkt erneut in Kontakt zu dem entsprechenden Erreger, kann sich eine Gedächtniszelle deutlich schneller zur antikörperproduzierenden Plasmazelle differenzieren und eine Immunreaktion auslösen. Diese Funktionen immunologischen Wiedererkennens sind zentraler Bestandteil vieler Impfstrategien (118, 119).

Die Bestimmung von Antikörpern und Antikörper-Titern zur Verifizierung einer Immunität gegen Erreger nach einer Impfung ist für ausgewählte Impfstoffe erprobt und etabliert. Beispielhaft sei hierbei die Hepatitis B Impfung genannt, bei der die Antikörper gegen das Hepatitis-B-Surface-(HBs-) Antigen bestimmt werden, um einen zuverlässigen Schutz zu prognostizieren. Ab einem Titer von über 100 IE/L wird hierbei von einem wirksamen Schutz ausgegangen, auch wenn dieser nicht in jedem Fall eine mögliche Infektion mit dem Virus ausschließen kann. Als sogenannte „Non-Responder“ sind im Fall der Hepatitis B Impfung Personen definiert, die nach drei Impfungen einen Titer unter 10 IE/L erzielen (120). Die Bestimmung von Antikörpern im Serum ist ein kostengünstiges, schnelles und einfaches Verfahren, um einen erfolgreichen Impfschutz nachzuweisen. Im Falle der „Non-Responder“ konnte jedoch gezeigt werden, dass die Aussagekraft über die Immunität durch eine alleinige Bestimmung der humoralen Immunantwort in Form von Antikörpern nicht ausreichend ist. Vielmehr sollten die Ergebnisse der humoralen Immunantwort durch die Betrachtung von

zellulären Immunantworten ergänzt werden, da HBs-reaktive T-Zellen eine unzureichende Antikörper Ausbildung möglicherweise kompensieren (121, 122).

T-Lymphozyten sind der spezifische, zelluläre Teil der Immunabwehr. Unter den im peripheren Blut zirkulierenden T-Zellen werden naive von Gedächtnis- und regulatorischen T-Zellen unterschieden. Naive T-Zellen können auf neue Antigene reagieren, Gedächtniszellen sind durch vorherigen Kontakt mit einem Antigen entstanden und dienen der langfristigen Immunität während regulatorische T-Zellen eine Immunreaktion gegen körpereigene Strukturen verhindern können (123). Nach der Bindung eines über MHC-Moleküle präsentierten Antigens von inaktivierten Erregerbestandteilen einer Impfung über den T-Zell-Rezeptor, kommt es zu einer Co-Stimulation über die antigenpräsentierende Zelle (124). Die Aktivierung einer T-Zelle resultiert in der Expression von IL-2, erhöhter Zellproliferation und der Differenzierung zu Effektorzellen (123). Hierbei unterscheiden sich CD8 tragende, zytotoxische von CD4 tragenden T-Helferzellen. Durch die Produktion von vielen Effektorzytokinen wie etwa IL-2, IL-6, IL-10, IL-21, TNF- α und GM-CSF kommt den T-Helferzellen eine entscheidende Rolle in der adaptiven Immunreaktion zu, indem sie erheblichen Einfluss auf die Aktivierung und Proliferation von B-, T- und natürlichen Killerzellen nehmen (125-127).

1.3.1.1 Verifizierung der T-Zell Reaktivität

Der Prozess der Aktivierung von T-Zellen erfolgt durch viele verschiedene Schritte und Interaktionen von Immunzellen und Botenstoffen. Dementsprechend gibt es auch verschiedene Methoden, um Bestandteile der Aktivierungskaskade darzustellen und somit eine T-Zell Reaktivität nachzuweisen. Üblich ist dabei die Darstellung von Zytokinen, die von aktivierten T-Zellen sezerniert werden. Es eignen sich dabei vor allem Zytokine, die von einem Großteil der verschiedenen T-Zellen in ausreichender Menge produziert werden, um eine möglichst umfängliche Aussage über die Aktivierung dieser Zellen zu erhalten. Neben der weit verbreiteten Messung von Interferon- γ (IFN- γ), eignet sich hierbei auch Interleukin-2 (IL-2) (128).

Interleukin-2 ist ein wichtiger Mediator der Lymphozytenproliferation. Das Zytokin wird von aktivierten T-Zellen sezerniert und wirkt einerseits als autokriner Wachstumsfaktor stimulierend auf die Proliferation von T-Zellen. Parakrin wirkt IL-2 auch als Wachstumsfaktor auf B- und natürliche Killer- (NK-) zellen (129). NK-Zellen gehören wie Makrophagen dem zellulären Teil des unspezifischen Immunsystems an und können Erregerzellen ohne vorherige Aktivierung töten. Es wird davon ausgegangen, dass sowohl die autokrine als auch die parakrine Wirkung von IL-2 die Expansion von Effektorzellen vorantreiben und gleichzeitig die Produktion von Gedächtniszellen fördern (130). Somit ist Interleukin-2 nicht nur ein guter

Indikator für ein akutes Immunitätsgeschehen in Form von aktivierten T-Zellen, sondern auch ein möglicher Prädiktor für eine langanhaltende Immunität.

Interferon- γ ist ein Typ-II-Interferon und zeigt einen vielseitigen immunmodulatorischen Einfluss durch Verbesserung der Antigenverarbeitung und -präsentation, erhöhte Leukozytenaktivität, Verstärkung antiviraler und antimikrobieller Funktionen und Beeinflussung der Zellproliferation und Apoptose. Eine Überaktivität des Zytokins steht in Zusammenhang mit Zellschäden, Nekrosen und krankheitsfördernden Entzündungen. Der überwiegende Teil von IFN- γ wird durch aktivierte T_{H1}-Zellen produziert und sezerniert. Aber auch NK-, B-, und dendritische Zellen sowie Makrophagen sind in der Lage IFN- γ zu produzieren. Den wohl bedeutsamsten Einfluss nimmt IFN- γ durch die Aktivierung von Makrophagen und einer daraus resultierenden verbesserten Immunaktivität. Beispielsweise werden dabei MHC-II-Moleküle vermehrt auf der Oberfläche antigenpräsentierender Makrophagen exprimiert, die Phagozytose von intrazellulären Erregern und die Sekretion proinflammatorischer Zytokine gefördert (131).

IL-2 und IFN- γ werden unter anderem durch NF-AT reguliert. Da Calcineurin-Inhibitoren ihre Wirkung in erster Linie über die Inhibierung der Calcineurin/NF-AT-Signalkaskade in T-Helferzellen erzielen, wurden diese Zytokine bereits als Biomarker verwendet, um Infektionen, akute Abstoßungsreaktionen oder Malignitätsrisiken bei immunsupprimierten Patienten zu überwachen. Beispielsweise konnte dabei eine starke Verminderung der Zytokine bei Patienten mit wiederkehrenden Infektionen festgestellt werden. Eine starke Verminderung von Zytokinen wurde außerdem mit erhöhtem Malignitätsrisiko und eine schwache Verminderung mit erhöhtem Abstoßungsrisiko in Verbindung gebracht. Das klinische Erscheinungsbild scheint jedoch nicht einheitlich mit der durch CNIs inhibierten Zytokinproduktion zu korrelieren (132).

1.4 Zielsetzung

Mit dem Hintergrund der SARS-CoV-2-Impfpriorisierung von Organtransplantierten als Risikogruppe zum Schutz vor schweren Krankheitsverläufen und den gleichzeitigen Erwartungen eines geringeren Impfansprechens dieser immunsupprimierten Patienten, soll die vorliegende Arbeit den tatsächlichen Schutz durch die Impfung der Transplantationspatienten untersuchen. Dazu werden die humorale und zelluläre Immunantwort von langfristig immunsupprimierten Leber- im Vergleich zu Nierentransplantierten zu verschiedenen Zeitpunkten nach SARS-CoV-2 Impfungen betrachtet und mit denen von gesunden, nicht immunsupprimierten Probanden verglichen. Parallel sollen die über den Untersuchungszeitraum gesammelten Daten bezüglich des individuellen Schutzverhaltens, möglicherweise durchgemachten Infektionen und deren

Verläufe, Aufschluss über die Wirksamkeit der Impfungen und das Risiko einer Infektion geben.

Durch regelmäßige Verlaufskontrollen nach Beginn der SARS-CoV-2-Impfungen, wurden die Patienten- und Kontrollgruppen dieser Arbeit über ein Jahr lang in Bezug auf ihre Impfungen, Immunantworten und Infektionen sowie ihr Verhalten während der Pandemie untersucht und befragt. Die meisten bisher veröffentlichten Studien zeigten Untersuchungen von T- Zellen anhand des gemessenen IFN- γ (133-135). Im Vergleich dazu wurde in der vorliegenden Studie zusätzlich IL-2 als Proliferationsmarker der aktivierten T-Zellen untersucht. Zudem wurden auch die jeweiligen Antikörper bestimmt, um ein umfänglicheres Bild der Immunreaktionen zu erhalten. Ziel dieser prospektiven Kohortenstudie ist es, die Unterschiede in der Immunantwort und Krankheitsverläufen zwischen Langzeit Nieren- und Lebertransplantierten im Vergleich zu einer gesunden Vergleichsgruppe feststellen zu können und gegebenenfalls Rückschlüsse auf verschiedene Booster-Impfungen, Immunsuppressiva und Risiko- beziehungsweise Schutzverhalten ziehen zu können. Auf individueller Ebene soll diese Studie zudem Erkenntnisse für die untersuchten Patienten an der Universitätsmedizin Mainz erbringen, die von dem Wissen über ihren Immunstatus gegen SARS-CoV-2 in Form einer persönlichen Impfberatung oder eines sinnvollen Schutzverhaltens profitieren könnten.

2 Material und Methoden

2.1 Material und Geräte

Tabelle 1: Material und Geräte, die für die Untersuchungen der T-Zell Reaktivität verwendet wurden.

Material	Artikel	Firma
Auffangröhrchen	SafeSeal Gefäß 1,5ml	SARSTEDT AG&CO.KG
Auffangröhrchen	Reagiergefäß 2,0ml	SARSTEDT AG&CO.KG
Aqua	Ampuwa® Spüllösung 1000ml Plastipur®	Fresenius Kabi AG
ELISpot Kit	AID CoV- <i>i</i> Spot Interferon- γ +Interleukin-2 strip format ELSP 7020 ELSP 7010	GenID GMBH
Fluoreszenzlampe	AID Fluorescent Lamp	GenID GMBH
Inkubator	CO ₂ -Inkubator QMI300SVBA Queue systems, Inc.	NUNC
Labor Pipetten	CELLSTAR® 10ml serological pipette, sterile	Greiner bio-one
Labor Pipetten	CELLSTAR® 25ml serological pipette, sterile	Greiner bio-one
Lesegerät	AID <i>i</i> Spot Reader	GenID GMBH
Medium	AIM-V®+AlbuMAX® (BSA) (1X) serum free medium	Gibco
Mikroskop	Mikroskop WILOVERT S	Hund
Papier		
Pipette	Sartorius Pipette 0,01-10 μ l	Sartorius
Pipette	Sartorius Pipette 1-200 μ l	Sartorius
Pipette	Sartorius Pipette 1-1000 μ l	Sartorius
Pipettenspitzen	Pipette tip 1000 μ l blue	SARSTEDT AG&Co.KG
Pipettenspitzen	Pipette tip 200 μ l yellow	SARSTEDT AG&CO.KG
Pipettenspitzen	0,1-10 μ l Extended Length, Natural Tips	STARLAB GmbH
Pipettierhilfe	Accu-jet® pro	BRAND
Pufferlösung	Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS)	SIGMA life science

Sicherheitswerkbank	HERA safe KS 18	Thermoelectron corporation
Teströhrchen	CELLSTAR® TUBES 50ml	Greiner bio-one
Trypanblau	TRYPAN BLUE 0,5%	BIOCHROM KG
Well-Platte	96-Well-Platte	Ceostar®
Zählkammer	Zählkammer 0,1mm Tiefe	Neubauer
Zentrifugationsmedium	PANcoll human	PAN BIOTECH
Zentrifuge	Centrifuge 5804 R	Eppendorf
Zentrifuge	Centrifuge 5810 R	Eppendorf

2.2 Patienten

Untersucht wurden Blutproben von Leber- und Nierentransplantierten sowie von gesunden Probanden zu vier verschiedenen Zeitpunkten. An der Studie waren die Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationsmedizin, die I. Medizinische Klinik, Schwerpunkt Nephrologie sowie die Transfusionszentrale der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstraße 1 in 55131 Mainz, beteiligt. Die Blutentnahmen fanden in der Nierenambulanz und in der Leberambulanz statt. Die Patienten wurden vor allem über die Universitätsmedizin Mainz rekrutiert, sowie zusätzlich aus dem Nierenzentrum am Brand-Mainz, am Brand 12 in 55116 Mainz. In allen Gruppen wurden die SARS-CoV-2 spezifischen humoralen und zellulären Impfantworten bestimmt und miteinander verglichen. Vor Beginn der Studie wurde dazu ein Ethikantrag gemäß der Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes gestellt und von der lokalen Ethikkommission der Universitätsmedizin Mainz, Rheinland-Pfalz, Deutschland, genehmigt (Nr.2021-15786). Die Einverständniserklärung wurde von allen

Teilnehmenden schriftlich eingeholt. Alle Patienten wurden mindestens zweimal im Abstand von vier Wochen mit dem mRNA-Impfstoff BNT162b2 (Comirnaty®, Pfizer/BioNTech, Mainz, Deutschland) geimpft. Blutproben wurden hierfür drei bis vier Wochen nach der ersten Impfung (1. BE), drei bis vier Wochen nach der zweiten Impfung (2. BE), fünf bis sieben Monate nach der ersten Impfung (3. BE) und zehn bis vierzehn Monate nach der ersten Impfung (4. BE) entnommen und untersucht. Im Verlauf der Studie wurden weitere Booster-Impfungen empfohlen, sodass alle Studienteilnehmenden weitere Impfdosen von BNT162b2 (Comirnaty®, Pfizer/BioNTech, Mainz, Deutschland), mRNA-1273 (Spikevax®, Moderna, Cambridge, USA) oder AZD1222 (Vaxzevria®, AstraZeneca, Oxford University, Großbritannien) erhielten. Keiner der Teilnehmenden hatte sich zu Beginn der Studie mit dem SARS-CoV-2 Virus infiziert. Dies konnte durch die Antikörperbestimmung gegen das Nukleokapsid-Protein des Virus ausgeschlossen werden (1).

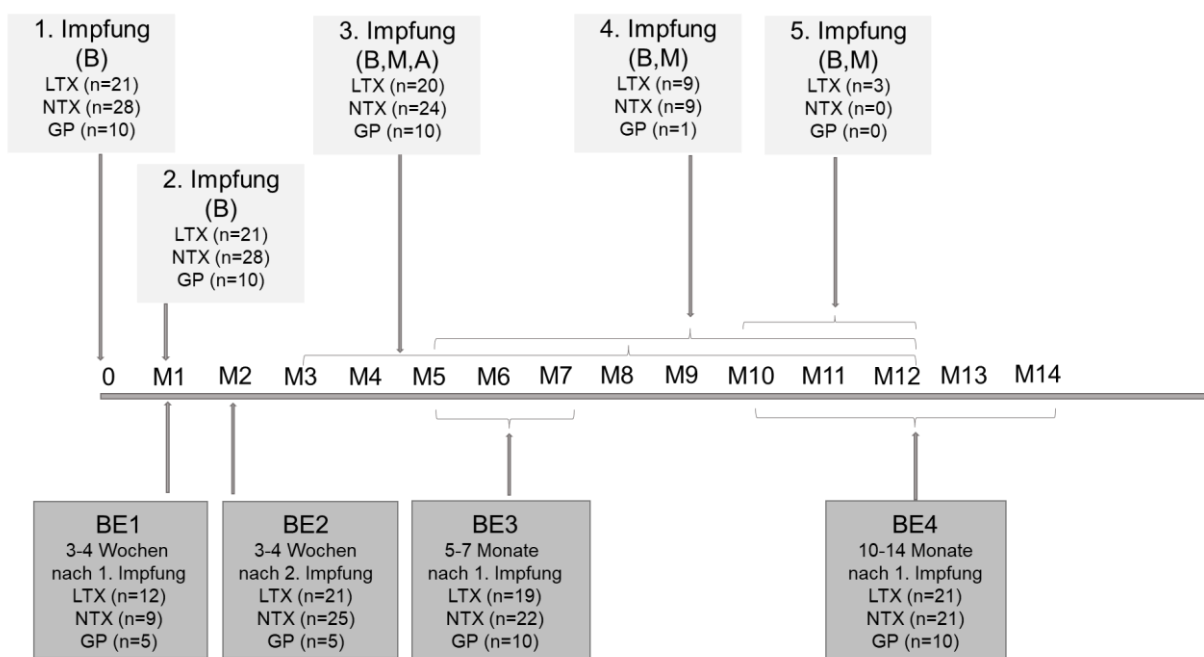


Abbildung 1: Flussdiagramm zum Studienverlauf. Dargestellt ist das Studiendesign mit dem Zeitpunkt der Impfung und den Messungen der humoralen und zellulären Impfantwort. Die Anzahl der untersuchten Patienten zu jedem Zeitpunkt (1. BE – 4. BE) ist angegeben. Zusätzlich ist aufgeführt, wie viele und in welchem Zeitraum nach der ersten Impfung die Studienteilnehmenden weitere Auffrischungsimpfungen erhalten haben.

BE: Blutentnahme, M: Monat; LTX: lebertransplantierte Patienten; NTX: nierentransplantierte Patienten, GP: gesunde Probanden; B: Biontech/Pfizer Impfstoff BNT162b2 (Comirnaty®); M: Moderna Impfstoff mRNA-1273 (Spikevax®); A: Astrazeneca Impfstoff AZD1222 (Vaxzevria®). Quelle: in Anlehnung an (1).

2.3 Methoden

2.3.1 Antikörperbestimmung

Durchgeführt wurden die Untersuchungen zur Antikörperbestimmung von der Bluttransfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz.

Die meisten serologischen Untersuchungstechniken zur Bestimmung von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 beruhen auf der Detektion von IgM- und IgG-Antikörpern gegen das Spike-Protein, dessen rezeptorbindende Domäne oder gegen das N-Protein. Antikörper gegen das N-Protein werden den bindenden Antikörpern zugeordnet. Dies scheint damit begründet zu sein, dass sie funktional mit dem Verpacken der RNA und Transkriptionsvorgängen, jedoch im Vergleich zu den funktionell neutralisierenden S- oder RBD-Antikörpern nicht mit dem Eintritt des Virus in die Zelle assoziiert sind (136). Während genesene Patienten sowohl hohe Antikörper-Titer gegen das N- und S-Protein aufweisen, finden sich bei geimpften Personen vornehmlich S-Antikörper, da sich ihr Immunsystem mit dem S-Protein und nicht mit dem gesamten Virus auseinandergesetzt hat. So ist es möglich anhand verschiedener Immunoassays Informationen über den Infektions- und Impfstatus herauszufinden (137).

Für die Bestimmung der IgG-Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Nukleokapsid-Protein wurde ein qualitativer Chemilumineszenz Mikropartikel Immunoassay verwendet (Architect SARS-CoV-2-IgG, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland). Die Persistenz von IgG-Antikörpern gegen SARS-CoV-2 ist für die Langzeitimmunität sowie das immunologische Gedächtnis von Bedeutung und ermöglicht so die Identifizierung von in der Vergangenheit infizierten, genesenen Personen (138). Stattgehabte, unbemerkte Infektionen mit dem SARS-CoV-2 Virus konnten so detektiert und die entsprechenden Patienten von der Studie ausgeschlossen werden. Die Detektion der individuellen Impfantwort erfolgte ebenfalls mithilfe eines Chemilumineszenz Mikropartikel Immunoassays (Architect SARS-CoV-2-IgG II Quant, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland). Hierbei wurde eine quantitative Bestimmung der IgG-Antikörper gegen die rezeptorbindende Domäne des SARS-CoV-2 Spike-Proteins vorgenommen.

Grundlage der beiden Immunoassays ist die Bindung der im Patientenserum vorhandenen Antikörper gegen die entsprechenden SARS-CoV-2 Proteine an SARS-CoV-2-Antigen beschichtete Mikropartikel. Unter Zugabe eines akridiniummarkierten anti-human-IgG-Konjugats wird ein Reaktionsgemisch hergestellt, das nach Inkubation mit einer Triggerlösung eine Chemilumineszenzreaktion auslöst. Diese kann in relativen Lichteinheiten gemessen werden, sodass die Lichtsignale proportional zu den Antikörpern sind (139).

Eine serologische Immunantwort wurde ab einem Titer von >50 AU/ml als positiv angesehen. Der Grenzwert wurde vom Hersteller festgelegt.

2.3.2 Isolierung der PBMCs

Bei jeder Blutentnahme wurden den Patienten zwei bis drei Lithium-heparinisierte Blutprobenröhrchen entnommen, was einer Menge von etwa 20 ml entsprach. Das heparinisierte Blut wurde zunächst in ein 50 ml Tube überführt und im Verhältnis 2:1 mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) verdünnt. Im Anschluss wurde die Lösung erneut im Verhältnis 2:1 auf ein vorgelegtes Zentrifugationsmedium (Pancoll) pipettiert, sodass sich die beiden Lösungen voneinander absetzten. Danach startete umgehend die Zentrifugation der Probe für 30 Minuten auf 1000x g ohne Bremse. Dabei setzte sich das Blutplasma im oberen Anteil der Lösung ab. Das Plasma konnte im nächsten Schritt abpipettiert und verworfen werden. Von jeder Probe wurde in diesem Schritt 1 ml Blutplasma abpipettiert und eingefroren, um später eventuell notwendige Antikörper Nachbestimmungen gewährleisten zu können. Zwischen dem Plasma und dem übrig gebliebenen Pancoll setzte sich durch die Zentrifugation ein weißlicher Ring ab, der die mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) enthielt. Ganz unten im Gefäß setzten sich die schweren Blutbestandteile und die Erythrozyten ab.

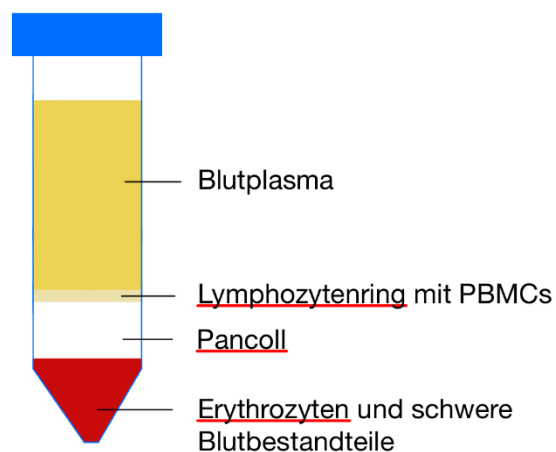


Abbildung 2: Absetzen der verschiedenen Blutbestandteile nach Zentrifugation.

Der Lymphozytenring wurde ebenfalls abpipettiert und ohne Erythrozyten in ein neues Gefäß überführt, dann bis zu 50 ml mit PBS aufgefüllt und bei 700x g zehn Minuten lang erneut zentrifugiert beziehungsweise „gewaschen“. Dabei setzte sich ein Zellpellet am Boden des Gefäßes ab. Der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet erneut in 50 ml PBS aufgespült und für zehn Minuten bei 700x g gewaschen. Danach wurde der Überstand wieder verworfen und der Vorgang ein weiteres Mal mit 30 ml Medium durchgeführt. Das Zellpellet wurde anschließend mit 1000 µl Medium aufgespült, 10 µl dieser Zellsuspension mit 90 µl 10%iger Trypanblaulösung gemischt und 50 µl dieser Lösung wiederum auf die Zählkammer übertragen und unter dem Lichtmikroskop gezählt. Im Anschluss konnte eine Zellsuspension in einer Konzentration von 2×10^6 Zellen/ ml hergestellt werden.

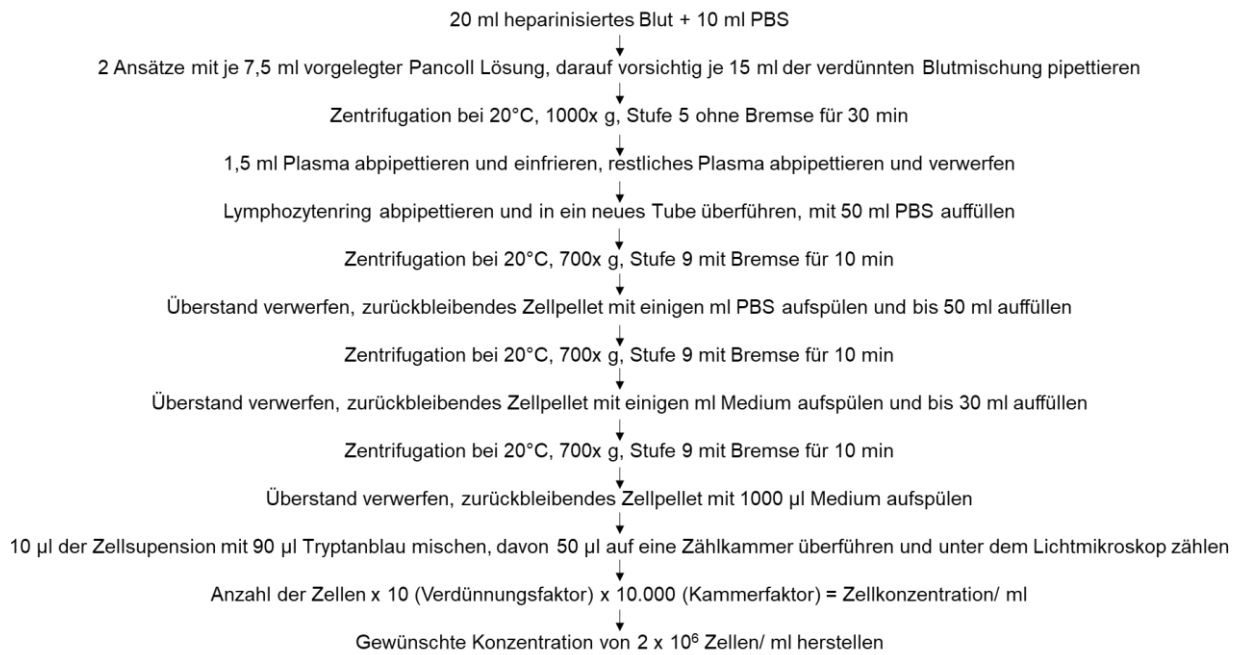


Abbildung 3: Flussdiagramm zum Ablauf der Isolierung von PBMCs.

2.3.2.1 ELISpot Immunoassay

Zur Bestimmung der T-Zell-Reaktivität wurde ein Fluoreszenz-ELISpot verwendet. Mithilfe des CoV-*i*Spot Interferon- γ + Interleukin-2 strip format Kits (AID Diagnostics, Straßberg, Germany) konnten die von aktivierten T-Zellen sezernierten Zytokine IL-2 und IFN- γ detektiert werden. Die enthaltene 96-Well-Platte, bestehend aus 12 Strips zu je 8 Wells, war mit einem monoklonalen Antikörper zur Detektion der Zytokine IL-2 und IFN- γ beschichtet. Darauf wurde pro Well jeweils 100 μ l einer gebrauchsfertigen Antigen- oder Mitogenlösung gegeben. In die ersten beiden Wells eines Strips wurde Medium als Negativkontrolle, in das dritte und vierte Well Pokeweed Mitogen (PWM), ein Reagenz zur Aktivierung aller T-Zellen als Positivkontrolle, in das fünfte und sechste Well PAN-Corona Peptid-Mix und in die letzten beiden Wells SARS-CoV-2 Peptid-Mix pipettiert.

Zu 1 ml der in 2.3.2 hergestellten PBMC-Zellsuspension wurde 1 μ l des Anti-human CD 28 pipettiert, um die T-Zellen zu aktivieren. Im nächsten Schritt konnte dann jedes Well mit jeweils 100 μ l der Zellsuspension aufgefüllt werden. Danach erfolgte umgehend die erschütterungsfreie Inkubation für 20-24 Stunden in einem Inkubator bei 37°C und 5-7 % CO₂.

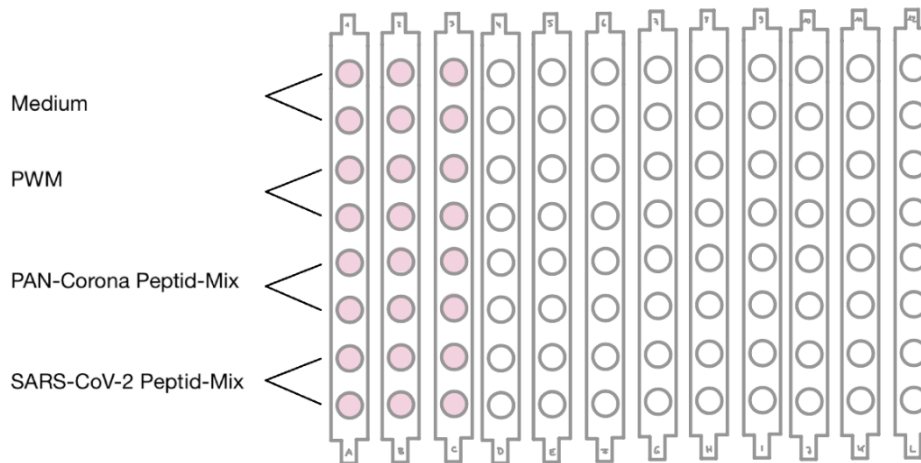


Abbildung 4: Pipettierschema einer Well Platte des CoV-iSpot Interferon- γ + Interleukin-2 strip format Kits, beispielhaft an drei Strips.

In den nächsten Schritten am Folgetag wurden Sekundär- und Fluoreszenzantikörper laut Anleitung des Herstellers zu den Strips hinzugegeben. Diese sollten die freigesetzten Zytokine der aktivierten T-Zellen unter einem Fluoreszenzlicht sichtbar machen.

Dazu wurde zunächst der Wellinhalt verworfen und jedes Well fünfmal mit 200 μ l 1:10 verdünntem Waschpuffer gewaschen. Danach konnte die Platte auf saugfähigem Papier trocken geklopft werden. Für die Zugabe des Sekundärantikörpers wurden je Strip 1000 μ l Verdünnungspuffer mit 2 μ l Anti-human Interleukin-2 biotinyliertem Antikörper Konzentrat und 3 μ l Anti-human Interferon- γ FITC-markiertem Antikörper Konzentrat vermischt. Davon wurden je 100 μ l in jedes Well pipettiert und die Platte für zwei Stunden bei Raumtemperatur lichtgeschützt in einer feuchten Kammer inkubiert.

Nach Ablauf der Zeit konnte der Wellinhalt verworfen, jedes Well erneut fünfmal mit Waschpuffer gewaschen und anschließend trocken geklopft werden. In jedes Well wurden nun 100 μ l des zuvor verdünnten Fluoreszenzantikörpers gegeben. Dieser bestand je Strip aus 1000 μ l Verdünnungspuffer, 3,3 μ l Anti-FITC green Konzentrat zur Bindung an IFN- γ und 5 μ l Streptavidin RED-Cy3 Konzentrat zur Bindung an IL-2. Die erneute Inkubation der Platte erfolgte für eine Stunde bei Raumtemperatur lichtgeschützt in der feuchten Kammer.

Nach wiederholtem fünfmaligem Waschen und Trockenklopfen der Well-Platte konnten 100 μ l Enhancer in jedes Well pipettiert und die Platte 15 Minuten bei Raumtemperatur lichtgeschützt inkubiert werden. Danach wurde der Wellinhalt verworfen, die Platte trocken geklopft und mindestens drei Stunden oder über Nacht umgedreht lichtgeschützt trocknen gelassen. Im Anschluss konnten die jeweiligen Spots pro Well mit dem AID iSpot Reader (EliSpot Reader System) gezählt und ausgewertet werden.

Zur Interpretation der Ergebnisse war die Bildung eines Simulationsindex notwendig. Dazu wurde der Mittelwert der Spotanzahl beider Wells eines Antigen Mixes durch die Spotanzahl der Negativkontrolle dividiert. Gültig waren die Ergebnisse nur mit ≥ 50 Spots in der

Positivkontrolle mit Pokeweed Mitogen und ≤ 10 Spots für IFN- γ beziehungsweise ≤ 20 Spots für IL-2 in der Negativkontrolle mit Medium.

Für Interferon- γ (grün) galt für null bis ein Spot in der Negativkontrolle das Ergebnis als reaktiv, wenn der SI ≥ 7 , als grenzwertig, wenn der SI > 5 und < 7 und als nicht reaktiv, wenn der SI ≤ 5 war. Bei zwei bis zehn Spots in der Negativkontrolle galt das Ergebnis als reaktiv, wenn der SI > 3 , als grenzwertig, wenn der SI > 2 und ≤ 3 und als nicht reaktiv, wenn der SI ≤ 2 war.

Für Interleukin-2 (rot) galt für null bis ein Spot in der Negativkontrolle das Ergebnis als reaktiv, wenn der SI ≥ 7 , als grenzwertig, wenn der SI > 5 und < 7 , und als nicht reaktiv, wenn der SI ≤ 5 war. Bei zwei bis zwanzig Spots in der Negativkontrolle galt das Ergebnis als reaktiv, wenn der SI > 3 , als grenzwertig, wenn der SI > 2 und ≤ 3 , und als nicht reaktiv, wenn der SI ≤ 2 war.

Ein reaktives Ergebnis für entweder IL-2 oder IFN- γ wurde als bezeichnend für eine T-Zell spezifische Immunantwort auf die Impfung angesehen. Da ein grenzwertiges Ergebnis für IFN- γ oder IL-2 in einem klinischen Kontext betrachtet uneindeutig und ohne Relevanz ist, wird ein solches Ergebnis im Folgenden als nicht reaktiv gewertet. Ungültige Ergebnisse wurden nicht in die Berechnungen mit einbezogen.

2.3.3 Auswertung und Statistik

Die Datenverwaltung und alle statistischen Analysen wurden mit dem Programm SPSS (Version 29.0.0.0; IBM Corp., Armonk, NY, USA) durchgeführt. Die Merkmale und demografischen Daten der Patienten wurden als Median und Standardabweichung (SD) angegeben, wenn sie normal verteilt waren und die Stichprobengröße ausreichend getestet wurde. Nicht normalverteilte, kontinuierliche Variablen wurden als Median und Spannweite, die kategorialen Variablen als Anzahl der Patienten und Prozentsatz ausgedrückt. Die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mit dem Pearson χ^2 -Test oder dem exakten Test von Fisher analysiert, wenn die Testannahmen nicht erfüllt waren.

Normalverteilte, kontinuierliche Daten wurden mit dem t-Test für gepaarte Stichproben verglichen, abnormal verteilte Daten wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen. Unterschiede zwischen abhängigen Variablen wurden mit dem nichtparametrischen Wilcoxon-Rangsummentest ausgewertet. Ein p-Wert unter 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen (1).

2.3.4 Fragebogen zu Impfungen, Infektionen und Schutzverhalten

Im Zuge der 4.BE wurde zeitgleich mit der Erhebung der Daten ein Jahr nach der 1.Impfung ein Fragebogen an alle Studienteilnehmer ausgehändigt. Hierbei wurden noch einmal die Impfdaten und Impfstoffe, inklusive aller Booster-Impfungen aller Studienteilnehmer zu ihren SARS-CoV-2-Impfungen erhoben. Des Weiteren wurde nach Impfkomplicationen, wissentlichen Kontakten zu Infizierten, auferlegten Quarantänen, positiven SARS-CoV-2 Antigen- oder PCR- Tests, durchgemachten Covid-19 Infektionen mit jeweiliger Angabe der Zeiträume, sowie der Schwere des klinischen Verlaufs gefragt.

Um das allgemeine, alltägliche Infektionsrisiko der Studienteilnehmer abzuschätzen, wurden weitere Fragen zu entsprechenden Wohn- und Verhaltenssituationen gestellt. Berücksichtigt wurden hierbei die Anzahl der Personen im Haushalt und ob schulpflichtige Kinder im selben Haushalt wohnten. Es wurde auch nach Unterstützung im alltäglichen Leben im Sinne einer externen Putz- oder Haushaltshilfe beziehungsweise anderweitiger Unterstützung zuhause oder in der Öffentlichkeit, wie beispielsweise beim Einkaufen, gefragt.

Um das individuelle Risikoverhalten zu bewerten, wurden die Studienteilnehmer gefragt, ob sie ausschließlich FFP-2-Masken oder OP-Masken trugen oder dies unterschiedlich handhabten. Eine weitere Frage bezog sich auf private Termine und ob die Studienteilnehmer sie wie üblich wahrnahmen oder versuchten diese zu beschränken. Zusätzlich wurde erfragt, ob sie ihre Freizeitkontakte wie gewohnt pflegten oder einschränkten. Hierbei hatten die Studienteilnehmer zusätzlich die Möglichkeit zwischen Einschränkungen bei Treffen mit Mund- und Nasenschutz, im Freien oder nur mit negativem Schnelltest auszuwählen oder eigene Angaben zu ergänzen (siehe: Anhang 7.1).

Prinzipiell wurde der Fragebogen jedem Studienteilnehmer zum Ausfüllen während des Termins zur Blutentnahme ausgehändigt. Personen, die nicht zur 4.BE erschienen oder aus anderen Gründen nicht an der Jahreskontrolle teilnahmen, wurden überwiegend telefonisch befragt.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten Charakteristika

Die charakteristischen und demographischen Daten der Studienteilnehmer sind in *Tabelle 2* aufgeführt. Insgesamt nahmen 49 Patienten und zehn Probanden an der Studie teil. Darunter wurden 21 Lebertransplantierte und 28 Nierentransplantierte prospektiv über einen Zeitraum von etwa einem Jahr nach ihrer ersten Impfung mit dem SARS-CoV-2 Impfstoff BNT162b2 (Comirnaty®, Pfizer/BioNTech) untersucht. Als Vergleichsgruppe dienten 10 gesunde Probanden. Alle Teilnehmenden der Studie wurden insgesamt mindestens zweimal mit BNT162b2 geimpft, wobei ein Abstand von vier Wochen zwischen der ersten und zweiten Impfung eingehalten wurde. Bis zum Zeitpunkt der dritten Blutentnahme erhielt der allergrößte Teil der Studienteilnehmenden keine weitere Covid-Impfung, während bis zur Jahreskontrolle mit einer einzigen Ausnahme alle Teilnehmenden mindestens eine Booster-Impfung erhalten hatten. Zudem wurde vor Beginn der Studie jeder Teilnehmer auf serologische Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Nukleokapsid-Protein untersucht und bei Nachweisbarkeit von der Studie ausgeschlossen. Zu Beginn der Datenerhebung hatte somit niemand einen gesicherten Kontakt zu dem Virus.

Die Geschlechter aller 59 Teilnehmenden verteilten sich bei den LTX-Patienten auf zehn männliche und elf weibliche (etwa 1:1), bei den NTX-Patienten auf 19 männliche und neun weibliche (etwa 2:1) und bei den gesunden Probanden auf vier männliche und sechs weibliche Teilnehmende (2:3). Das mediane Alter der LTX-Patienten betrug zum Zeitpunkt ihrer ersten Covid-Impfung 59 Jahre, während die Gruppen der NTX-Patienten mit 54 Jahren und die GP mit 54 Jahren durchschnittlich etwas jünger waren. Die Transplantation lag bei den LTX-Patienten im Median 4 Jahre zurück, bei den NTX-Patienten waren es etwa 3 Jahre.

Von den Lebertransplantierten erhielten zum Zeitpunkt der ersten Impfung 86% eine duale oder einfache Immunsuppression, während 89% der Nierentransplantierten eine dreifache Medikamentenkombination erhielten. In der gesunden Kontrollgruppe wurden keine immunsuppressiven Medikamente eingenommen.

*Tabelle 2: Patienten Charakteristika und demographische Daten.
Quelle: in Anlehnung an (1).*

	LTX (n=21)	NTX (n=28)	GP (n=10)
Geschlecht (männlich/weiblich)	10/11	19/9	4/6
Alter bei der ersten Impfung in Jahren, Median (IQA 25-75)	59 (53-67)	54 (37-61)	54 (43-58)
Jahre seit der Transplantation, Median (IQA 25-75)	4 (1.5-11)	3 (1-11)	

3.2 Antikörper

Zur Bestimmung der humoralen Immunantwort auf die Covid-Impfungen wurden IgG gegen das N-Protein sowie IgM und der IgG-Titer gegen das S-Protein bestimmt. Somit konnten das Impfansprechen und mögliche Infektionen kontinuierlich beobachtet werden.

Die erste Blutentnahme (1.BE) erfolgte im Durchschnitt 27 Tage nach der ersten SARS-CoV-2 Impfung bei einer Spanne von 19-34 Tagen. Zu diesem Zeitpunkt zeigten die wenigsten Transplantierten eine humorale Immunantwort. 3/12 (25 %) der untersuchten LTX-Patienten und 4/26 (15 %) der NTX-Patienten wiesen ein S-IgG >50 AU/ml auf. Die Werte betrugten 56-112 AU/ml. Alle 5 gesunden Probanden entwickelten eine positive Antikörperantwort (100 %). Zudem waren die Antikörper gegen das S-Protein in dieser Gruppe signifikant höher bei einer Spannweite von 139-1637 AU/ml im Vergleich zu den LTX- ($p<0,0001$) und den NTX-Patienten ($p<0,0001$) (*Abbildung 5*).

Tabelle 3: IgG- Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Spike-Protein nach der 1.BE.

	n	AK>50 AU/ml (%)
LTX	12	3/12 (25 %)
NTX	26	4/26 (15 %)
GP	5	5/5 (100 %)

Die zweite Blutentnahme (2.BE) erfolgte durchschnittlich 29 Tage nach der zweiten Impfung bei einer Spanne von 19-62 Tagen. Bis zu diesem Zeitpunkt entwickelten 15/21 (71 %) der LTX- und 11/25 (44 %) der NTX-Patienten IgG- Antikörper >50 AU/ml. Die Titer der LTX-Patienten wiesen einen Median von 3603 AU/ml bei einer Spannweite von 142-18273 AU/ml auf. Die Nierentransplantierten zeigten eine Spannweite von 64-3156 AU/ml bei einem Median von 688 AU/ml. Die Titer der Lebertransplantierten waren demnach signifikant höher im Vergleich zu denen der Nierentransplantierten ($p=0,001$) (*Abbildung 5*). Wie bereits nach der ersten Impfung konnten bei allen 5/5 gesunden Kontrollpersonen Antikörper gegen das S-Protein nachgewiesen werden. Ihre IgG-Titer waren >2000 AU/ml (2049-23717 AU/ml) bei einem Median von 5913 AU/ml.

Tabelle 4: IgG- Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Spike-Protein nach der 2.BE.

	n	AK>50 AU/ml (%)
LTX	21	15/21 (71 %)
NTX	25	11/25 (44 %)
GP	5	5/5 (100 %)

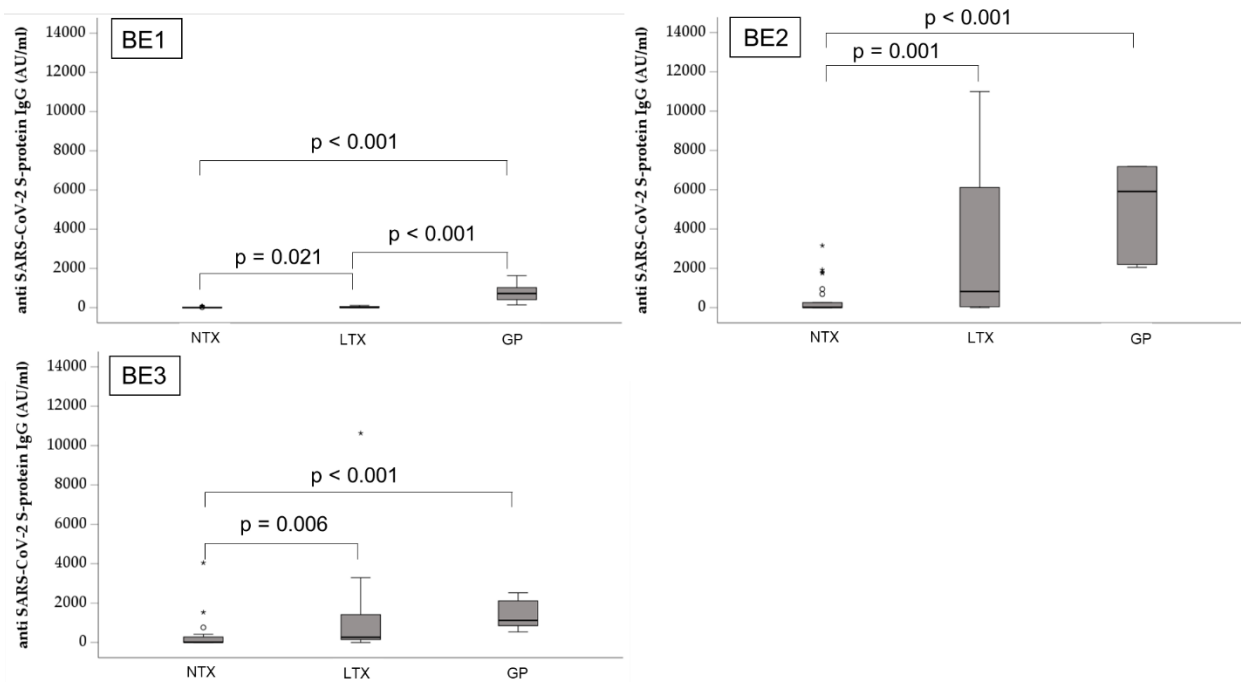


Abbildung 5: Die humorale Immunantwort bei TX-Patienten im Vergleich zu den gesunden Probanden zwischen 4 Wochen nach der ersten (BE1) bzw. zweiten Impfstoffdosis (BE2) und 6 Monaten nach der ersten Impfstoffdosis (BE3).

Etwa sechs Monate nach der ersten Impfung erfolgte die dritte Blutentnahme (3.BE), durchschnittlich 177 Tage nach der ersten Impfung bei einer Spannweite von 116-206 Tagen. Zu diesem Zeitpunkt waren bei 10/10 (100 %) der gesunden Vergleichspersonen, 15/19 (79 %) der Leber- und 9/21 (43 %) der Nierentransplantierten ein S-IgG >50 AU/ml detektierbar. Die IgG-Titer der LTX-Patienten (146-10629 AU/ml) waren mit einem Median von 937 AU/ml im Vergleich zur zweiten BE mit einem Median von 3603 AU/ml signifikant gesunken ($p=0,005$). Auch die Titer der NTX-Patienten sanken auf eine Spannweite von 74-4044 AU/ml und der Median von 688 AU/ml auf 317 AU/ml. Dieser Rückgang der Antikörper war jedoch nicht signifikant ($p=0,086$). Insgesamt konnten bei den LTX-Patienten ein halbes Jahr nach der ersten Impfung signifikant höhere Antikörper-Titer als bei den Nierentransplantierten nachgewiesen werden ($p=0,006$). Auch in der gesunden Kontrollgruppe reduzierten sich die Titer signifikant von BE2 bis BE3 im Median von 5913 AU/ml auf 949 AU/ml (535-2522 AU/ml, $p=0,043$). 3/19 LTX- und 4/21 NTX-Patienten hatten zum Zeitpunkt der 3.BE bereits eine SARS-CoV-2 Booster-Impfung erhalten. 5/7 (71 %) dieser Patienten entwickelten dennoch keine positiven IgG-Titer >50AU/ml.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich die Antikörper-Titer aller Versuchsgruppen von vier Wochen nach der zweiten Impfung (BE2) bis ein halbes Jahr nach der ersten Impfung (BE3) deutlich reduzierten. Zu beiden Zeitpunkten zeigten die LTX- im Vergleich zu den NTX-Patienten signifikant höhere IgG-Titer (Abbildung 5 und Abbildung 9B).

Tabelle 5: IgG- Antikörper gegen das SARS-CoV-2 Spike-Protein nach der 3.BE.

	n	AK>50 AU/ml (%)
LTX	19	15/19 (79 %)
NTX	21	9/21 (43 %)
GP	10	10/10 (100 %)

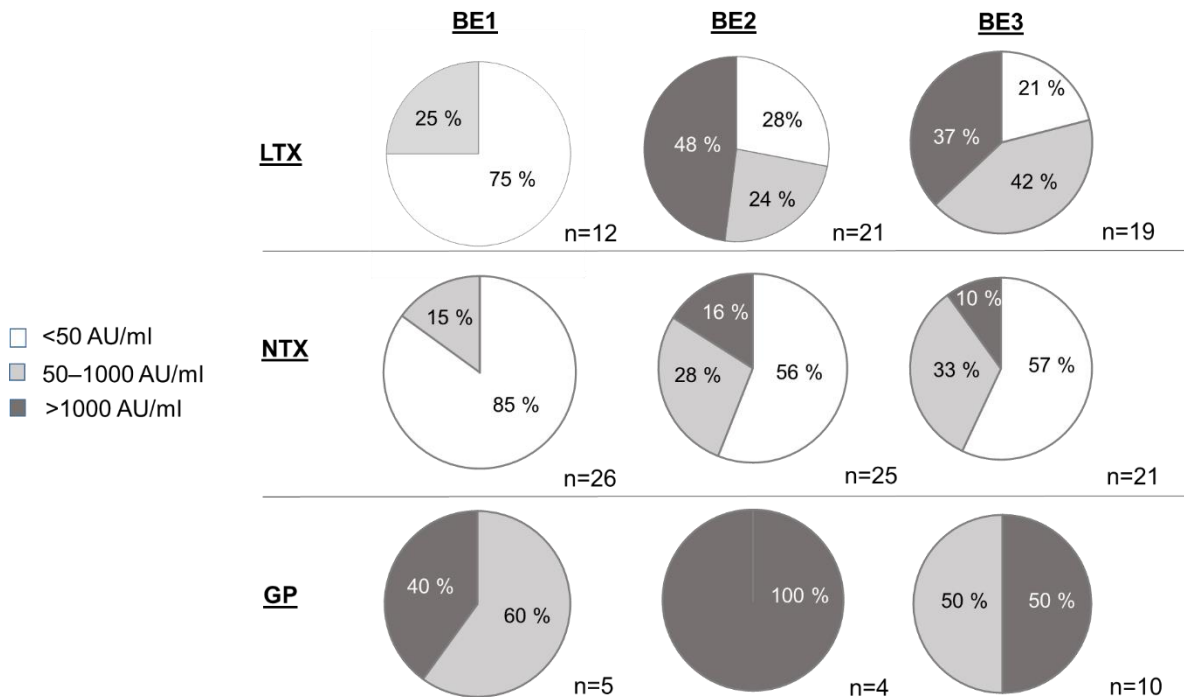


Abbildung 6: Humorale Reaktion auf das SARS-CoV-2-Antigen. Die humorale Impfantwort wurde anhand der IgG-Antikörper gegen die RBD des SARS-CoV-2-Spike-Proteins vier Wochen nach der ersten Impfung (BE1), vier Wochen nach der zweiten Impfung (BE2) und sechs Monate nach der ersten Impfung (BE3) in jeder Studiengruppe gemessen. Das Ansprechen auf die Impfung wurde in die Gruppen Titer <50 AU/ml (negativ), 50-1000 AU/ml (niedrig/mäßig) und >1000 AU/ml (hoch) eingeteilt und in Prozent angegeben. Quelle: in Anlehnung an (1).

3.3 T- Zell- Reaktivität

Die T-Zell Reaktivität wurde zu allen vier Entnahmezeitpunkten anhand eines ELISpot Assays in Form der Detektion von IFN- γ und IL-2 erfasst. Entsprechend des Auswerteschemas aus 2.3.2.1 wurde jede Probe jeweils als reaktiv, grenzwertig oder nicht reaktiv eingestuft. Da ein grenzwertiges Ergebnis für IFN- γ oder IL-2 in einem klinischen Kontext betrachtet uneindeutig und ohne Relevanz ist, wird ein solches Ergebnis im Folgenden als nicht reaktiv gewertet. Ungültige Ergebnisse wurden nicht in die Berechnungen mit einbezogen.

Nach der ersten Impfung war die T-Zell Reaktivität in allen drei Versuchsgruppen gering. Alle Patienten zeigten ein negatives Ergebnis für IFN- γ , lediglich 2/5 (40 %) der gesunden

Probanden bildeten IFN- γ . 2/11 (18 %) der Leber- und 1/9 (11 %) der Nierentransplantierten zeigten ein reaktives Ergebnis für IL-2, während dies auf alle 5 Kontrollpersonen (100 %) zutraf. Keine T-Zell Antwort bildeten entsprechend 8/11 (82 %) der LTX- und 8/9 (89 %) der NTX-Patienten aus. Die T-Zell Reaktivität bei den gesunden Probanden war somit signifikant höher im Vergleich zu den LTX- ($p=0,005$) und den NTX-Patienten ($p=0,003$).

Tabelle 6: T- Zell Reaktivität nach der 1.BE.

	n	IFN- γ (%)	n	IL-2 (%)
LTX	10	0	11	2/11 (18 %)
NTX	9	0	9	1/9 (11 %)
GP	5	2/5 (40 %)	5	5/5 (100 %)

Nach der zweiten Impfung zeigten 17/20 (85%) der Lebertransplantierten eine IL-2 Antwort. Davon bildeten zusätzlich 9/20 Patienten IFN- γ aus (45 %). Bei den NTX-Patienten waren 14/25 (56 %) positiv für IL-2 und von diesen Patienten wiederum 11/25 zusätzlich positiv für IFN- γ (44%). Dies leitet zu der Annahme, dass die meisten der IFN- γ produzierenden Zellen auch IL-2 bilden. Der repräsentative ELISpot eines LTX-Patienten bestätigt dies (Vgl. *Abbildung 7*). Im Vergleich bildeten mehr Leber- als Nierentransplantierte IL-2 produzierende T-Zellen aus ($p=0,05$). Keine T-Zell Reaktivität konnte bei 10/25 (40 %) der Nieren- und 1/20 (5 %) der Lebertransplantierten festgestellt werden. Alle 5/5 gesunden Probanden zeigten ein reaktives Ergebnis sowohl für IL-2 als auch für IFN- γ . Die Unterschiede im Vergleich zu den Patientengruppen erreichten jedoch nicht das Signifikanzlevel ($p=0,45$ im Vergleich mit den LTX- und $p=0,13$ im Vergleich mit den NTX-Patienten).

Tabelle 7: T- Zell Reaktivität nach der 2.BE.

	n	IFN- γ (%)	n	IL-2 (%)
LTX	20	9/20 (45 %)	20	17/20 (85 %)
NTX	25	11/25 (44 %)	25	14/25 (56 %)
GP	5	5/5 (100 %)	5	5/5 (100 %)

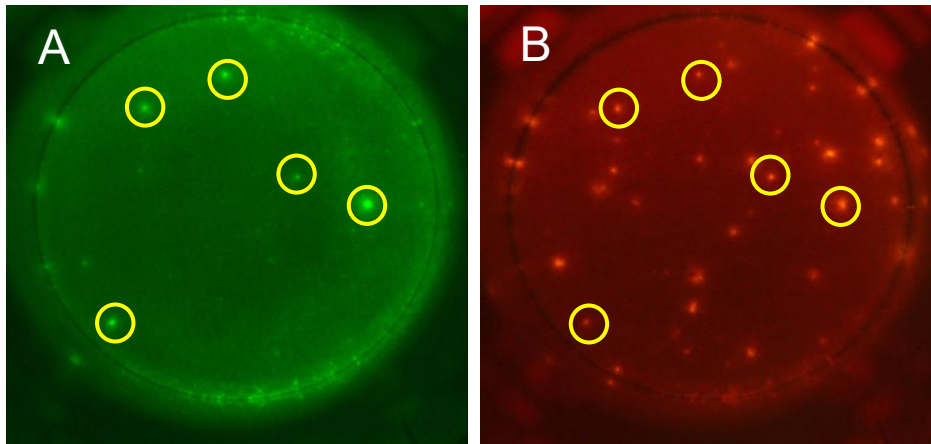


Abbildung 7: Ein repräsentativer ELISpot eines LTX-Patienten. Zu erkennen sind die einzelnen Spots mit deutlich doppelt positiven IFN- γ (A) und IL-2 produzierenden (B) T-Zellen nach der zweiten Impfung. Spots, die beide Zytokine produzieren, sind durch einen gelben Kreis gekennzeichnet.

Sechs Monate nach der ersten Impfung konnte eine insgesamt reduzierte T-Zell Reaktivität beobachtet werden (Abbildung 9A). Ein reaktives Ergebnis für IL-2 zeigten 9/17 (53 %) der LTX-, 7/16 (44 %) der NTX-Patienten und 7/10 (70%) der gesunden Kontrollpersonen, was einer signifikanten Reduktion der IL-2 produzierenden Zellen im Vergleich zur 2.BE in jeder Versuchsgruppe entspricht (LTX: $p=0,008$; NTX: $p=0,002$; GP: $p=0,042$). Ein reaktives Ergebnis für IFN- γ konnte bei 4/17 (24 %) der LTX-, 3/16 (19 %) der NTX-Patienten und bei 6/10 (60 %) der gesunden Probanden detektiert werden. Bei allen Patienten handelte es sich hierbei um eine zusätzliche IFN- γ Produktion zu der IL-2 Produktion. Auch die Reduktion der IFN- γ produzierenden Zellen entsprach einer signifikanten Minderung in den Gruppen der NTX- und LTX-Patienten im Vergleich zur 2.BE (LTX: $p=0,02$; NTX: $p=0,004$; GP: $p=0,14$). Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen nach einem halben Jahr nach der ersten Impfung erreichten keine Signifikanz (LTX-NTX: $p=0,73$; LTX-GP: $p=0,23$; NTX-GP: $p=0,11$). Von den drei LTX- und vier NTX-Patienten, die zum Zeitpunkt der 3.BE bereits eine dritte SARS-CoV-2 Impfung erhalten hatten, zeigte aus jeder Gruppe jeweils nur ein Patient eine reaktive IL-2 und IFN- γ Produktion.

Zusammenfassend fand eine deutliche Reduktion der zellulären Immunantwort nach der 2.BE in allen Gruppen statt. Im Vergleich zur humoralen Immunantwort konnte jedoch zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied in der zellulären Immunantwort zwischen den NTX- und LTX-Patienten festgestellt werden.

Tabelle 8: T- Zell Reaktivität nach der 3.BE.

	n	IFN- γ (%)	n	IL-2 (%)
LTX	17	4/17 (24 %)	17	9/17 (53 %)
NTX	16	3/16 (19 %)	16	7/16 (44 %)
GP	10	6/10 (60 %)	10	7/10 (70 %)

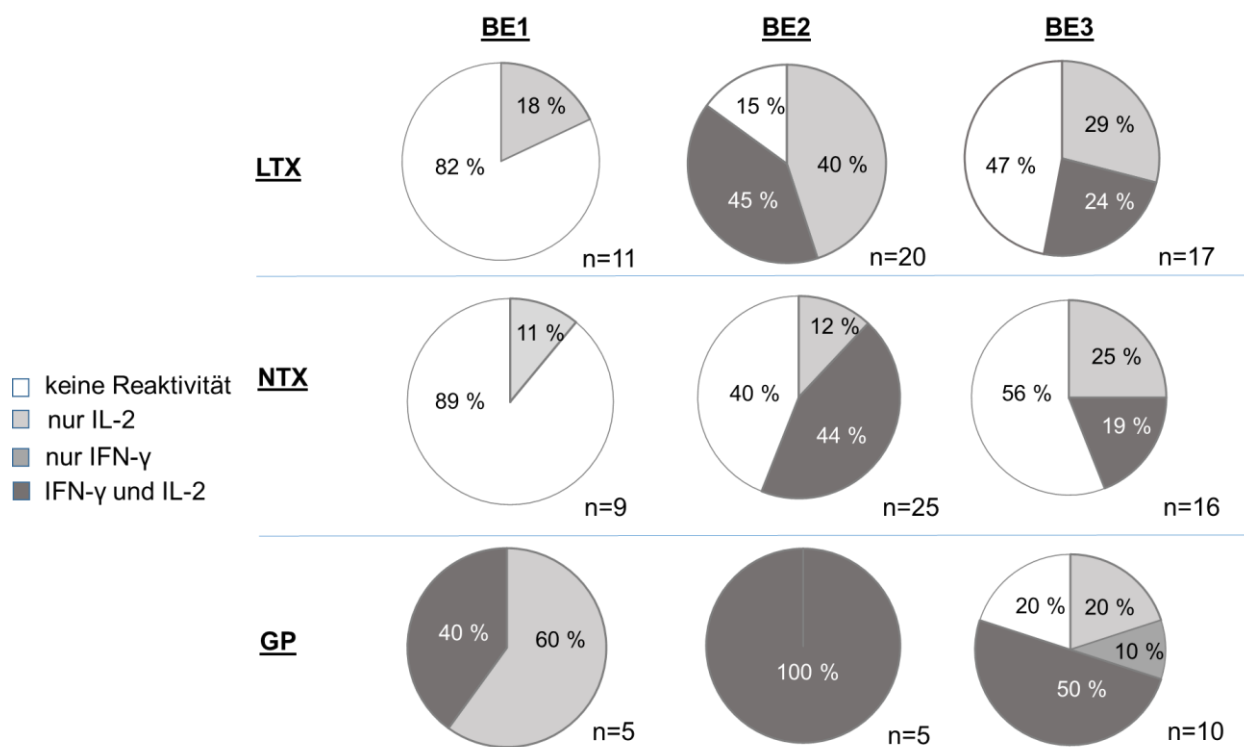


Abbildung 8: SARS-CoV-2-Antigen spezifische zelluläre Reaktion nach zwei Dosen des BNT162b2-Impfstoffs. Die zelluläre Impfantwort wurde anhand der IL-2 und/oder IFN- γ produzierenden Zellen in jeder der Studiengruppen vier Wochen nach der ersten Impfung (BE1), vier Wochen nach der zweiten Impfung (BE2) und sechs Monate nach der ersten Impfung (BE3) gemessen und ist als Prozentsatz der nur IL-2, nur IFN- γ oder IL2 und IFN- γ produzierenden T-Zellen angegeben. Quelle: In Anlehnung an (1).

Werden zelluläre und humorale Immunantwort zusammen betrachtet (siehe *Tabelle 9*), entwickelten alle (100 %) Lebertransplantierten eine SARS-CoV-2 spezifische humorale oder zelluläre Immunantwort auf eine zweifache Impfung mit BNT162b2, entsprechend den Untersuchungen der 2.BE. Darunter zeigten 12/20 (60 %) sowohl Antikörper gegen das S-Protein >50 AU/ml, als auch reaktive T-Zellen. 5/20 (25 %) bildeten nur geringe IgG-Titer <45 AU/ml bei einer Spanne von 3,4-44,5 AU/ml und einem Median von 6,3 AU/ml aus. Diese Patienten waren jedoch, mit einer einzigen Ausnahme ohne T-Zell Untersuchung, alle reaktiv für IL-2 mit einem medianen SI-Wert von 12 und einer SI-Spanne von 7-30. Zudem waren 2/5 (40 %) dieser Patienten zusätzlich auch für IFN- γ reaktiv. 3/20 der LTX-Patienten (15 %) bildeten kein IL-2 oder IFN- γ , sondern ausschließlich Antikörper gegen SARS-CoV-2 (142, 822, 6805 AU/ml).

Bei den Nierentransplantierten entwickelten 8/25 (32 %) keine SARS-CoV-2 spezifische humorale oder zelluläre Immunantwort und 8/25 (32 %) eine SARS-CoV-2 spezifische humorale und zelluläre Immunantwort auf die doppelte Impfung mit BNT162b2. 6/25 (24 %) bildeten zwar keine Antikörper >50 AU/ml, jedoch eine relativ hohe T-Zell Antwort mit einem medianen IL-2 SI-Wert von 17,3 und einer SI-Spanne von 8-34. 3/25 der NTX-Patienten (12 %) bildeten kein IL-2 oder IFN- γ , sondern ausschließlich Antikörper gegen SARS-CoV-2 (64, 127, 1809 AU/ml).

Insgesamt zeigten die meisten Patienten mit ausgebildeter B- oder T-Zell Antwort nach der 2.BE auch nach der 3.BE eine entsprechende, wenn auch reduzierte, Immunantwort (91 %). Der auffälligste Abfall konnte in der Gruppe der Lebertransplantierten festgestellt werden, bei denen im Vergleich zu den 60 % der 2.BE nur noch 44 % eine humorale und zelluläre Immunantwort nach der 3.BE aufwiesen. Außerdem zeigten 11 % der LTX-Patienten ein halbes Jahr nach der ersten Impfung keine SARS-CoV-2 spezifische Immunantwort mehr, während zum Zeitpunkt der 2.BE noch ausnahmslos alle zellulär oder humoral reagiert hatten. Zusammenfassend ließ sich eine deutlich reduzierte zelluläre und humorale Immunantwort ein halbes Jahr nach der Erstimpfung feststellen (*Abbildung 9*).

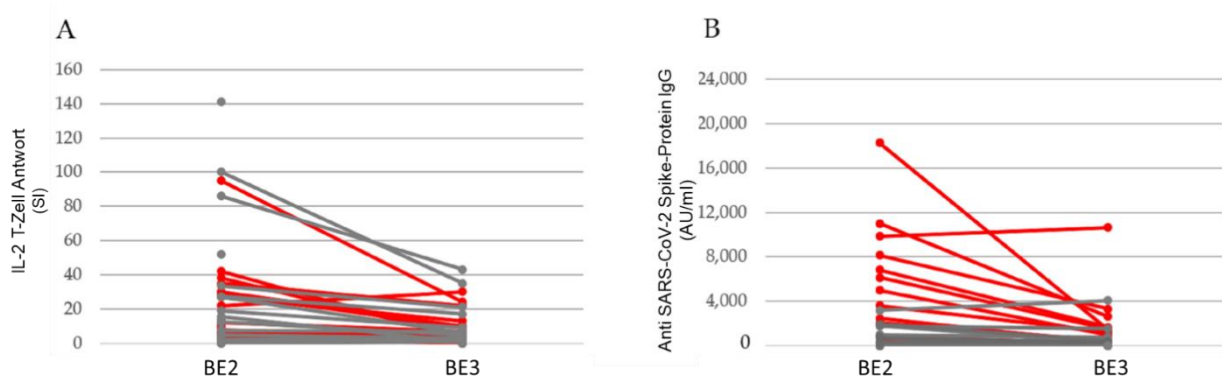


Abbildung 9: Rückgang der zellulären (A) und humoralen (B) Immunantwort ein halbes Jahr nach der ersten Impfung. Dargestellt sind die SI-Werte der IL-2 positiven T-Zellen sowie die Antikörpertiter gegen das SARS-CoV-2 Spike Protein (AU/ml) aller transplantierten Patienten vier Wochen nach der zweiten Impfung (BE2) und 6 Monate nach der ersten Impfung (BE3). Die roten Linien zeigen die LTX- und die grauen Linien die NTX- Patienten. Quelle: in Anlehnung an (1).

Tabelle 9: Messungen der SARS-CoV-2 Antigen spezifischen humoralen und zellulären Immunantwort.
 Quelle: in Anlehnung an (1).

		BE1	BE2	BE3
LTX	weder T-Zell Reaktivität noch IgG-Antikörper, n (%)	6/11 (55 %)	0/20 (0 %)	2/18 (11 %)
	nur T- Zell Reaktivität, n (%)	2/11 (18 %)	5/20 (25 %)	1/18 (6 %)
	nur IgG-Antikörper, n (%)	3/11 (27 %)	3 /20 (15 %)	7/18 (39 %)
	IgG-Antikörper und T-Zell Reaktivität, n (%)	0/11 (0 %)	12/20 (60 %)	8/18 (44 %)
NTX	weder T-Zell Reaktivität noch IgG-Antikörper, n (%)	8/9 (89 %)	8/25 (32 %)	6/16 (37 %)
	nur T- Zell Reaktivität, n (%)	1/9 (11 %)	6/25 (24 %)	2/16 (13 %)
	nur IgG-Antikörper, n (%)	0/9 (0 %)	3/25 (12 %)	3/16 (19 %)
	IgG-Antikörper und T-Zell Reaktivität, n (%)	0/9 (0 %)	8/25 (32 %)	5/16 (31 %)
GP	weder T-Zell Reaktivität noch IgG-Antikörper, n (%)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)	0/10 (0 %)
	nur T- Zell Reaktivität, n (%)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)
	nur IgG-Antikörper, n (%)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)	2/10 (20 %)
	IgG-Antikörper und T-Zell Reaktivität, n (%)	5/5 (100 %)	5/5 (100 %)	8/10 (80 %)

3.4 Immunsuppression

Eine Übersicht zur Verteilung der verschiedenen immunsuppressiven Therapieschemata unter den Patientengruppen findet sich in *Tabelle 10*. In der Gruppe der Lebertransplantierten bekamen zum Zeitpunkt der ersten Impfung 18/21 (86 %) der Patienten zu gleichen Teilen eine einfache oder eine doppelte immunsuppressive Therapie. Die Monotherapie bestand aus den Calcineurin-Inhibitoren Tacrolimus (n=7) oder CyA (n=2). Alle fünf LTX-Patienten, die vier Wochen nach der zweiten Impfung keine Antikörper bildeten, erhielten eine doppelte medikamentöse Therapie bestehend aus Tac/MMF (n=2), Eve/MMF (n=1) oder CyA/MMF (n=1). Eine Person erhielt eine Monotherapie mit Tac. Dennoch entwickelten alle Patienten ohne Antikörper eine reaktive zelluläre Immunantwort gegen SARS-CoV-2 vier Wochen nach der zweiten Impfung, sodass alle Lebertransplantierten unabhängig von der Immunsuppression zellulär oder humoral auf den Kontakt mit dem SARS-CoV-2 Impfstoff reagierten. 3/21 (14 %) der LTX-Patienten bekamen eine Dreifachtherapie. Diese Patienten zeigten trotzdem vier Wochen nach der zweiten Impfung sowohl eine ausgeprägte Antikörperbildung gegen SARS-CoV-2 (3603, 760, 9859 AU/ml), als auch IL-2 produzierende Zellen.

Die Nierentransplantierten erhielten in 89 % der Fälle eine dreifache Immunsuppression. Dies traf auch auf die 8/25 (32 %) der NTX-Patienten zu, die vier Wochen nach der zweiten Impfung weder eine humorale noch eine zelluläre Immunantwort zeigten (Tac/Eve/Steroide n=4, Tac/MMF/Steroide n=3 und EVE/MMF/Steroide n=1). 3/28 (11 %) der NTX-Patienten erhielten eine Zweifachtherapie aus Tac/MMF (n=1), CyA/Steroide (n=1) oder Sirolimus/Steroide (n=1). Alle drei Patienten zeigten reaktive T-Zellen und Antikörper-Titer >500 AU/ml vier Wochen nach der zweiten Impfung. Unter den Nierentransplantierten erhielt niemand eine Monotherapie.

Tabelle 10: Übersicht der verschiedenen Immunsuppressiva. Dargestellt ist die immunsuppressive Therapie der verschiedenen Patientengruppen und deren Verteilung mit prozentualer Angabe () zum Beginn der Datenerhebung entsprechend der 1.BE.

Quelle: in Anlehnung an (1).

	LTX (n=21)	NTX (n=28)	GP (n=10)
Immunsuppressive Therapie, N (%)			
Dreifachtherapie	3 (14.0)	25 (89.0)	
Tacrolimus, MMF, Prednison	2	17	
CyA, MMF, Prednison	0	1	
Tacrolimus, mTOR-Inhibitor, Prednison	1	6	
mTOR-Inhibitor, MMF, Prednison	0	1	

Zweifachtherapie	9 (43.0)	3 (11.0)
Tacrolimus, MMF	3	1
Tacrolimus, mTOR-Inhibitor	4	0
CyA, MMF	1	0
CyA, Prednison	0	1
mTOR-Inhibitor, MMF	1	0
mTOR-Inhibitor, Prednison	0	1
Monotherapie	9 (43.0)	0 (0.0)
Tacrolimus	7	0
CyA	2	0

3.5 SARS-CoV-2 spezifische Immunantwort ein Jahr nach der ersten Impfung

Zum Zeitpunkt der 4.BE wurden erneut die B- und T-Zell spezifische Immunantwort aller Studienteilnehmer auf die SARS-CoV-2 Impfung gemessen. Im Zeitraum zwischen der 3. und 4.BE wurden aufgrund der nachweislich rückläufigen Immunantwort sechs Monate nach der Grundimmunisierung mit einer zweifachen Dosis eines mRNA-Impfstoffes weitere Auffrischimpfungen empfohlen. Aus diesem Grund wurden anhand eines Fragebogens die verschiedenen Grundimmunisierungen und Booster-Impfungen erhoben und zusätzlich nach Infektionen und im Falle dieser auch nach der Schwere der SARS-CoV-2-Infektionen gefragt. Keiner der Studienteilnehmer gab Impfkomplicationen oder behandlungsbedürftige Covid-Infektionen an. Die Impfungen scheinen somit gut vertragen worden zu sein. Insgesamt erhielten 54/59 (92 %) und damit der allergrößte Teil der Studienteilnehmer mindestens eine weitere Impfung zusätzlich zu der doppelten Grundimmunisierung mit BNT162b2 (Comirnaty®, Pfizer/BioNTech, Mainz, Deutschland).

Von 21 LTX-Patienten erhielten 14 (70 %) eine dritte Impfung mit dem mRNA-Impfstoff BNT162b2 (Comirnaty®) der Firma Biontech (Pfizer/BioNTech, Mainz, Deutschland), fünf Patienten (25 %) mit dem mRNA- Impfstoff mRNA-1273 (Spikevax®) der Firma Moderna (Moderna, Cambridge, USA) und ein Patient (5 %) mit dem vektorbasierten Impfstoff AZD1222 (Vaxzevria®) von Astrazeneca (AstraZeneca, Oxford University, Großbritannien). Insgesamt erhielten somit 20/21 (95 %) der LTX-Patienten eine dritte SARS-CoV-2-Impfung. Eine vierte Impfung erhielten 9/21 (43 %) der LTX-Patienten, wobei 2 dieser Patienten mit einer vierten Dosis von Biontech geimpft wurden. Die anderen 7 Patienten hatten innerhalb dieser vier Impfungen mindestens einmal entweder den Moderna- oder Astrazeneca- Impfstoff erhalten.

Von 21 LTX-Patienten hatten bis zur Jahreskontrolle drei Patienten (14 %) eine fünfte Impfung mit einem der beiden mRNA-Impfstoffe von Biontech oder Moderna erhalten.

Von 28 NTX-Patienten erhielten insgesamt 24 (86 %) eine dritte Impfung, davon 14 (50%) mit dem Biontech- und zehn (36 %) mit dem Moderna- Impfstoff. 9/28 (32 %) der NTX-Patienten wurden insgesamt viermal geimpft, davon erhielten fünf Patienten ausschließlich Biontech-Impfdosen, vier weitere Patienten einen Booster mit Moderna- Impfstoff. Im Vergleich zu den LTX-Patienten erhielt in dieser Patientengruppe jedoch niemand eine fünfte Impfung. Zudem wurden die NTX-Patienten ausschließlich mit den beiden mRNA-Impfstoffen geimpft.

Von zehn gesunden Probanden wurden sieben (70 %) ein drittes Mal mit Biontech- Impfdosen und drei (30 %) mit Moderna- Impfdosen geimpft. Damit wurden alle gesunden Probanden insgesamt mindestens dreimal mit einem mRNA-Impfstoff geimpft. Lediglich eine Person (10 %) erhielt eine vierte Impfung mit Moderna.

Insgesamt erhielten somit 54/59 (92 %) aller Teilnehmenden mindestens eine Booster-Impfung im Verlauf der Studie. Vorrangig wurde dabei für die ersten beiden Auffrischimpfungen der Impfstoff von Biontech verwendet (65 % und 58 %).

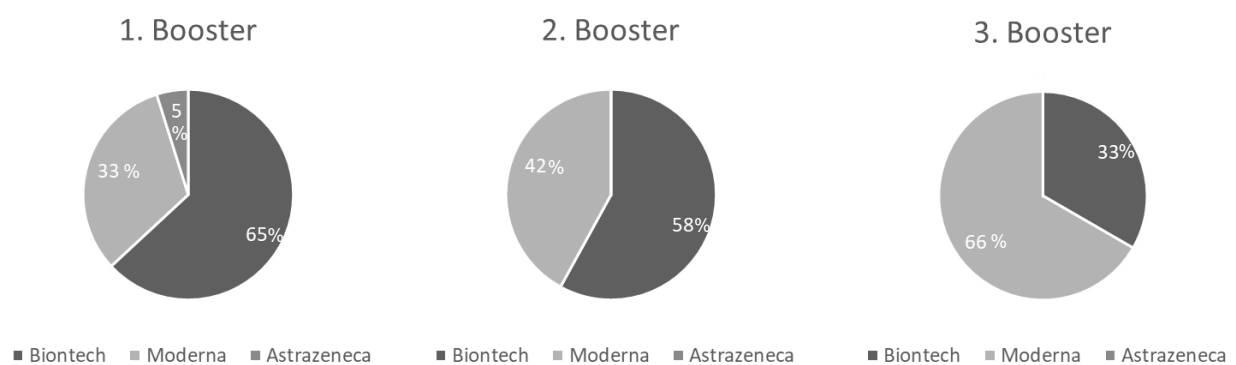


Abbildung 10: Darstellung der verschiedenen Booster-Impfungen nach der zweifachen Impfung mit BNT162b2. Insgesamt erhielten 54 aller Studienteilnehmenden eine, 19 zwei und 3 insgesamt drei weitere Booster-Impfungen im Verlauf der Studie. In den Kreisdiagrammen wurde die prozentuale Aufteilung (%) der Booster-Impfungen dargelegt.

Aufgrund der Unterschiede im Impfstatus eines jeden Studienteilnehmers zum Zeitpunkt der 4.BE ist die Aussagekraft über die B- und T-zelluläre Immunreaktion und besonders der Vergleich zwischen den drei Versuchsgruppen eingeschränkt. Jedoch konnten anhand der B- und T-Zell Reaktion sowie mithilfe des Fragebogens die durchgemachten Infektionen erhoben werden.

19/20 (95 %) der LTX-Patienten zeigten ein Jahr nach der ersten Impfung Antikörper gegen das SARS-CoV-2 S-Protein >50AU/ml (129,5- >40.000 AU/ml), wobei 9 dieser 19 Patienten (47 %) Werte über 20.000 AU/ml aufwiesen. Reaktive T-Zellen in Form einer IL-2 Produktion bildeten nur 9/20 (45 %) der LTX-Patienten, wobei acht von ihnen auch IFN-γ produzierten. Auffallend war, dass 2/21 (9,5 %) der LTX-Patienten eine Infektion im Zeitraum zwischen der 3. und 4.BE angaben, was sich gleichzeitig auch in ihren Antikörper-Titern von >40.000 AU/ml

widerspiegelte. Des Weiteren konnten allerdings bei vier weiteren Patienten, die keine Infektion angegeben hatten, ebenfalls Titer >40.000 AU/ml beziehungsweise bei einem weiteren Patienten >27.000 AU/ml mit zusätzlich positiven Ergebnissen für IgM gegen das SARS-CoV-2 S-Protein oder IgM/IgG/IgA gegen das N-Protein festgestellt werden. Vier dieser fünf LTX-Patienten zeigten auch reaktive T-Zellen mit IL-2 und IFN- γ . Nachdem innerhalb der vorherigen Untersuchungen selbst in der Gruppe der gesunden Probanden zum Zeitpunkt der 2.BE und den damit einhergehenden am höchsten gemessenen Titern nach Impfung und ohne vorherigen Kontakt zum Virus keine Werte über 25.000 AU/ml gemessen werden konnten, sind die Werte dieser fünf LTX-Patienten am ehesten als asymptomatische und damit klinisch stumme Covid-Infektionen zu bewerten. Zusammengefasst ist somit bei 7/21 (33 %) der Lebertransplantierten von einer durchgemachten Covid 19-Infektion auszugehen.

Von den Nierentransplantierten hatten 15/22 (68 %) ein Jahr nach der ersten Covid-Impfung noch Antikörpertiter >50AU/ml (72,6- >40.000 AU/ml), wobei sechs Patienten davon Titer >20.000 AU/ml aufwiesen. IL-2 produzierende T-Zellen waren bei nur 6/21 (29 %) der NTX-Patienten detektierbar, wovon fünf ebenfalls IFN- γ produzierten. 9/28 (32 %) der NTX-Patienten gaben im Fragebogen eine SARS-CoV-2 Infektion an. Alle von ihnen hatten Antikörpertiter >50AU/ml gebildet, wobei nur 7/9 (78 %) auch reaktive T-Zellen aufwiesen. In dieser Patientengruppe traten keine vermeintlich unbemerkten, symptomlosen Infektionen auf. Von den Nierentransplantierten hatten nach zweifacher Impfung mit BNT162b2 acht Patienten (32 %) weder eine humorale noch eine zelluläre Immunantwort ausgebildet. Auch nach mindestens einer weiteren Booster- Impfung im Verlauf steigerte sich ihre Immunantwort nur in geringen Maßen. So hatten zum Zeitpunkt der 4.BE von eben diesen Patienten trotz weiterer Impfungen immer noch 5/7 (71 %) keine Immunantwort gegen SARS-CoV-2 ausgebildet.

Alle zehn gesunden Vergleichspersonen zeigten auch ein Jahr nach der ersten Impfung noch Antikörpertiter >50AU/ml (2754-32467 AU/ml). 5/10 (50 %) der GP waren reaktiv für IL-2 und IFN- γ produzierende T-Zellen. Drei weitere Patienten (30 %) wiesen IFN- γ produzierende T-Zellen auf, die kein IL-2 produzierten. 2/10 (20 %) der gesunden Vergleichspersonen gaben eine Covid-Impfung im Fragebogen an und spiegelten dies auch in den Antikörpertitern (10.885 AU/ml; 32.467 AU/ml) und der T-Zell Reaktivität. Eine weitere gesunde Versuchsperson wies Werte einer symptomlosen Infektion mit einem S-Titer von 14.389 AU/ml und positivem IgG für das N-Protein auf, sodass sich scheinbar insgesamt 3/10 (30 %) der gesunden Kontrollpersonen infizierten.

Insgesamt ließ sich bei 16/39 (41 %) der transplantierten Patienten eine Infektion mit SARS-CoV-2 trotz einer vollständigen Grundimmunisierung mit zweimaliger Dosis BNT162b2 nachweisen. Alle Transplantierten wurden vor ihrer Infektion mindestens dreimal (n=10), viermal (n=5) oder fünfmal (n=1) geimpft. Alle Patienten und gesunden Studienteilnehmer die sich mit SARS-CoV-2 infizierten, zeigten milde Verläufe der Infektion. Von den infizierten

Studienteilnehmern wiesen zum Zeitpunkt der 3.BE, also vor der Infektion mit SARS-CoV-2, 4/7 (57 %) der LTX-Patienten keine T-Zell Reaktivität und 1/7 (14 %) gar keine SARS-CoV-2 spezifische Immunreaktion auf. Im Vergleich dazu bildeten 3/9 (33 %) der infizierten NTX-Patienten sowie alle 3 der infizierten gesunden Probanden sowohl eine B- als auch eine T-Zell Antwort auf die SARS-CoV-2 Impfung, bevor sie sich mit dem Virus infizierten. Zusammengefasst hatten somit 43 % der LTX-, 33 % der NTX-Patienten und 100 % der gesunden Kontrollen zum Zeitpunkt der letzten Messung vor der Infektion mit SARS-CoV-2 eine humorale und zelluläre Immunität gegen das Virus ausgebildet.

Da sich alle Patienten und auch eine Person der gesunden Vergleichskontrolle in der ersten Hälfte des Jahres 2022 infizierten, kann von einer Infektion mit den hoch infektiösen Omikron-Varianten ausgegangen werden, die in diesem Zeitraum laut des wöchentlichen Berichts des RKI überwiegend in Deutschland zirkulierten (140). Lediglich eine gesunde Kontrollperson infizierte sich im September 2021, während besonders die Delta Variante vorherrschte. Bis zur Kalenderwoche 46 des Jahres 2021 dominierte die Delta Variante und wurde in KW 47 von Omikron abgelöst. Im gesamten Jahr 2022 herrschten die Subvarianten von Omikron vor. Bis zur Kalenderwoche (KW) 7 traf dies auf die BA.1 Variante, bis KW 22 auf die BA.2 Variante und letztlich bis ins Jahr 2023 auf die BA.5 Variante zu (140). Der Großteil der hier erhobenen Infektionen dürfte demnach auf die Omikron Untervarianten BA.2 und BA.5 zurückzuführen sein. Generell wurde jedoch in der vorliegenden Studie keine Virus-Sequenzierung vorgenommen, sodass keine genaueren Aussagen zu den Virusvarianten getätigt werden können.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass sich von allen 59 untersuchten Studienteilnehmern 19 (32 %) mit SARS-CoV-2 infizierten. Von allen transplantierten Patienten infizierten sich 16/39 (41 %). Alle Infektionen verliefen mild oder symptomlos, keiner der Patienten wurde hospitalisiert oder beatmungspflichtig.

3.6 Individuelles Risikoverhalten

Anhand des parallel zur 4.BE ausgehändigten Fragebogens wurden neben den Booster-Impfungen und Infektionen mit SARS-CoV-2 auch Parameter zur Einschätzung des allgemeinen, individuellen Infektionsrisikos und dem persönlichen Schutzverhalten erhoben. Die folgenden Ergebnisse sind unter der subjektiven Beantwortung des Fragebogens zu betrachten.

Im Durchschnitt lebten 1,95 Personen im Haushalt aller befragten Lebertransplantierten, 2,35 Personen im Haushalt der Nierentransplantierten und 2,3 Personen im Haushalt der gesunden Probanden. Schulpflichtige Kinder lebten in 1/21 (5 %) der LTX-, 5/24 (21 %) der NTX- und 2/10 (10 %) der GP-Haushalte. Unterstützung im Alltag erhielt in allen drei Gruppen ein

geringer Teil von unter 40 %, in der Gruppe der NTX-Patienten waren es mit 3/24 (13 %) im Vergleich die wenigsten Haushalte. Während 13/21 (67 %) der LTX-Patienten angaben, ausschließlich FFP-2-Masken zu tragen, war der Anteil bei den NTX-Patienten mit 10/24 (42 %) und den gesunden Probanden mit 5/10 (50 %) etwas geringer. In allen drei Versuchsgruppen gab der Großteil an, private Termine wie gewohnt wahrzunehmen (LTX:62 %; NTX:79 %; GP:60 %), die Kontakte in der Freizeit jedoch einzuschränken (LTX:76 %; NTX:75 %; GP:70 %).

Werden die Infizierten einer jeden Versuchsgruppe separat betrachtet, so lebten bei den infizierten LTX-Patienten im Durchschnitt 2,29 Personen, bei den NTX-Patienten 2,56 Personen und bei den gesunden Probanden 1,67 Personen im Haushalt. Hierbei ließ sich im Vergleich zur gesamten Untersuchungsgruppe eine gering erhöhte Personenanzahl in den Haushalten der Patienten, die sich im Laufe der Studie infizierten, erkennen. Während in nur einem der sieben Haushalte mit infizierten Lebertransplantierten auch ein schulpflichtiges Kind lebte (14 %), war der Anteil der Kinder bei den NTX-Patienten mit 4/9 (44 %) deutlich höher. Keiner der gesunden Probanden mit einem Kind im Haushalt infizierte sich mit SARS-CoV-2. Der Anteil der Haushalte, die Unterstützung im Alltag erhielten war in der gesamten Gruppe der LTX-Patienten genauso hoch wie in der Gruppe der Infizierten (29 %). Bei den NTX-Patienten erhöhte sich der Anteil in der Gruppe der Infizierten gering (13 % im Vergleich zu 22 %). Keiner der gesunden Probanden, die Unterstützung im Alltag erhielten, infizierte sich mit SARS-CoV-2. Bezüglich des individuellen Schutzverhaltens gaben in der Gruppe der infizierten LTX-Patienten sechs von sieben (86 %) an, ausschließlich FFP-2-Masken zu tragen. Im Vergleich dazu gaben dies nur drei der neun infizierten NTX-Patienten (33 %) und zwei der drei infizierten Probanden (66 %) an. Prozentual gesehen gaben etwa gleichviele der infizierten Patienten an, private Termine wie gewohnt wahrzunehmen (LTX:71 %; NTX:78 %), die Freizeitkontakte jedoch einzuschränken (LTX:71 %; NTX:78 %). Bei den gesunden Kontrollpersonen, die sich infizierten, traf dies auf jeweils 2/3 (66 %) zu.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass die Unterschiede des allgemeinen Risikos durch verschiedene Lebensumstände scheinbar nicht ausreichend sind, um eine Aussage über die Personenanzahl, Kinder oder Hilfskräfte als Risikofaktoren für eine Infektion zu identifizieren. Lediglich für die Nierentransplantierten wiesen die Ergebnisse auf ein möglicherweise erhöhtes Infektionsrisiko für SARS-CoV-2 hin, wenn Kinder mit im Haushalt lebten und nicht ausschließlich FFP-2 Masken zum Infektionsschutz getragen wurden. Auch wenn einzelne prozentuale Unterschiede in den Vergleichsgruppen gefunden werden konnten, so infizierten sich insgesamt näherungsweise gleich viele Leber- (7/21= 33,3 %) und Nierentransplantierte (9/28= 32 %) sowie gesunde Probanden (3/10= 30 %). Dies passt zu den im Fragebogen gemachten Angaben, aus denen hervorgeht, dass die Untersuchungsgruppen ein sehr ähnliches Schutzverhalten ausübten und beispielsweise die Freizeitkontakte einschränkten.

4 Diskussion

Während die Wirksamkeit der Impfung gegen Covid-19 bei Gesunden mit über 90 % gut belegt ist (69, 70), berichten viele Studien von einer geringeren humoralen und zellulären Immunantwort bei Organtransplantierten im Vergleich zu den gesunden Vergleichspersonen nach Impfung mit einem mRNA-Impfstoff (141-144). Neben der generell erniedrigten Immunantwort transplantierte Patienten auf SARS-CoV-2 Impfungen wird von einigen Quellen gleichermaßen eine hohe Infektionsrate mit erhöhtem Risiko für schwere Verläufe vorhergesagt (145). Ziel der vorliegenden Studie ist es, eben diese Risiken für unsere Patienten zu bewerten und mit dem gesunder Kontrollpersonen zu vergleichen.

Bisher zeigten Studien nach zweimaliger Impfung bei 17-75 % der Nierentransplantierten und 47-83 % der Lebertransplantierten eine SARS-CoV-2 spezifische Antikörperproduktion (141, 142, 146-149). Neben der humoralen Immunantwort ist für eine lange Immunität jedoch auch eine adäquate T-Zell Reaktion notwendig (150). Zudem kommt der zellulären Immunantwort eine besondere Bedeutung zu, da einige SARS-CoV-2 Varianten der humoralen, jedoch nicht der zellulären Immunität entgehen konnten (151). Eine zelluläre Immunantwort konnte bei 35-58 % der NTX- und 63-75 % der LTX-Patienten nach doppelter SARS-CoV-2 Impfung detektiert werden (133, 149, 152, 153).

Aufgrund neuer Erkenntnisse und Entwicklungen im Verlauf der Pandemie, wurden auch die Empfehlungen zu den Impfungen immer wieder verändert. So wurde unter anderem ab Herbst 2021 eine Booster-Impfung empfohlen, mit der signifikant höhere Antikörpertiter bei Transplantierten erreicht werden konnten (154, 155).

4.1 Humorale und zelluläre Immunantwort nach zweimaliger Impfung mit BNT162b2

Der Großteil der Studien zur Untersuchung der Immunantwort von Transplantationspatienten auf die vollständige Impfung gegen SARS-CoV-2 fokussiert sich auf die humorale Immunität der Patienten und zeigt deutlich geringere Werte für die Transplantierten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (141, 143, 144). Die vorliegende Studie hat neben der humoralen auch die zelluläre Immunantwort untersucht, um ein umfängliches Bild des Immunstatus der Patienten zu generieren. Dazu wurden die zelluläre Antwort in Form von IFN- γ und IL-2 sezernierenden Immunzellen mithilfe eines ELiSpot Immunoassays bestimmt. Vergleichbare Studien, die ebenfalls die T-Zell Reaktivität untersuchten, legten häufig den Fokus auf IFN- γ , ohne dabei IL-2 zu bestimmen (133-135).

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass die humorale Immunantwort nach der ersten Impfung mit BNT162b2 bei allen Transplantierten gering ausfiel (LTX: 25 %, NTX: 15%), während 100% der gesunden Kontrollpersonen Antikörper bildeten. Auch die zelluläre Immunantwort war gering nach der ersten Impfung (LTX: 18 %, NTX: 11 %), obwohl alle gesunden Kontrollpersonen eine T-Zell Reaktivität zeigten.

Die Antikörperproduktion nach der ersten Impfung passt zu den Ergebnissen der Studie von Boyarsky et al., in der 32% der LTX und 11% der NTX-Patienten Antikörper gegen SARS-CoV-2 ausbildeten (156). Im Vergleich zu unserer Datenerhebung wurden dabei jedoch auch Patienten berücksichtigt, die mit mRNA-1273 geimpft worden waren. Zudem gab es keine Kontrollgruppe mit gesunden Probanden und keine Bestimmung des Anti-SARS-CoV-2-Nukleokapsid Proteins. Stumpf et al.(134) veröffentlichte ähnliche Werte für eine Kohorte von 368 NTX-Patienten im Vergleich zu 144 Kontrollpersonen, wobei nach der ersten Impfung nur 8 % der NTX-Patienten Antikörper bzw. eine T-Zell Aktivität in Form von IFN- γ zeigten, während bei den gesunden Kontrollpersonen 96 % Antikörper und 81 % IFN- γ bildeten. Die in dieser Studie untersuchten NTX-Patienten waren durchschnittlich 6,9 Jahre älter als die von uns untersuchten NTX-Patienten, was die deutlich geringeren Ergebnisse von Stumpf et al. erklären könnte. Viele Studien konnten zeigen, dass erhöhtes Alter ein wesentlicher Risikofaktor für das Nichtansprechen auf eine Covid-Impfung sein kann (133-135, 142, 146, 157).

Nach der zweiten Impfung stiegen die Impfantworten in allen Gruppen der von uns untersuchten Studienteilnehmern. Antikörper wurden bei 71 % der LTX- und 44 % der NTX-Patienten detektiert. Die deutlich reduzierte Immunantwort von Nierentransplantierten konnte bereits in anderen Studien gezeigt werden (134, 158). Ganz ähnlich waren auch die Ergebnisse der Studien von D'Offizi et al.(159) (LTX: 77 %) und Ruether et al. (133) (LTX: 73,9 %) bzw. von Stumpf et al.(134) (NTX: 42 %). Einige Studien zeigten generell deutlich geringere Serokonversionen für Transplantationspatienten, konnten jedoch hervorheben, dass LTX-Patienten mehr Antikörper ausbilden im Vergleich zu anderen Transplantierten (142, 144). Dies steht in Einklang mit der ausgeprägteren Immunantwort der Leber- im Vergleich zu den Nierentransplantierten aus unseren Untersuchungen. Des Weiteren konnten in unserer Studie deutlich höhere Antikörpertiter bei den Leber- im Vergleich zu den Nierentransplantierten festgestellt werden. Etwa $\frac{3}{4}$ aller untersuchten LTX- Patienten wiesen nach der zweiten Impfung Titer über 1000 AU/ml auf, während 56 % der NTX- Patienten nicht serokonvertiert waren. Dennoch konnten wir bei 24 % der seronegativen NTX- und 38 % der seronegativen LTX-Patienten eine T-Zell-Reaktivität nachweisen (1). Dies zeigt, dass die alleinige Bestimmung der Antikörpertiter nicht ausreichend zu sein scheint, um eine Aussage über die Immunantwort transplantierten Patienten treffen zu können.

In unserer Studie konnten bei 40% der Transplantierten IFN- γ und bei 89,5 % der LTX- bzw. bei 56 % der NTX-Patienten IL-2 produzierende T-Zellen detektiert werden. Dass deutlich mehr IL-2 sezernierende T-Zellen nachgewiesen werden konnten, ist ein wichtiger Punkt, da Fava et al.(160) in einer Studie zeigte, dass ein höheres IL-2 mit einem klinisch besseren Outcome nach Covid-19 assoziiert ist. In unserer Studie konnten überwiegend IFN- γ produzierende T-Zellen detektiert werden, die gleichzeitig auch IL-2 sezernierten. Diese könnten als Gedächtnis- bzw. Memory-T-Zellen für eine besonders langanhaltende Immunität stehen. Des Weiteren fanden sich auch ausschließlich IL-2, aber nie allein IFN- γ produzierende T-Zellen. Dies könnte erklären, weshalb wir eine deutlich höhere T-Zell Reaktivität im Vergleich zu anderen Studien feststellen konnten, die ausschließlich das IFN- γ untersucht haben (133, 135). Während 100 % der vorliegend untersuchten LTX-Patienten nach der zweiten Impfung eine humorale und/oder zelluläre Immunantwort aufwiesen, zeigten 28 % der LTX- Patienten in der Studie von Ruether et al. (133) weder das eine noch das andere nach zweimaliger Impfung. Grund dafür könnte die unterlassene Detektion IL-2 produzierender T-Zellen gewesen sein.

Durch die Beobachtung der Studienteilnehmer über einen langen Zeitraum von insgesamt einem Jahr konnte die Langzeitimmunität der Patienten nach doppelter Impfung mit BNT162b2 untersucht werden. Dafür wurden sechs Monate nach der Erstimpfung erneut die Antikörpertiter und T-Zell Reaktivität gemessen. Zu diesem Zeitpunkt hatten 3 LTX- (16 %) und 4 NTX-Patienten (24 %) bereits eine Booster-Impfung erhalten. Keiner der gesunden Kontrollpersonen war ein halbes Jahr nach der Erstimpfung bereits ein drittes Mal geimpft worden.

Eine humorale Immunantwort konnte ein halbes Jahr nach der ersten Impfung bei 79 % der LTX-, 43 % der NTX-Patienten und 100 % der gesunden Kontrollpersonen festgestellt werden. Zwar sanken die Antikörpertiter bei den Lebertransplantierten und den gesunden Kontrollen, prozentual gesehen zeigten sich im Vergleich zur zweiten Blutentnahme etwa einen Monat nach der zweiten Impfung aber kaum Unterschiede (LTX: 71 %, NTX. 44 %, GP: 100 %).

Boyarsky et al.(161) konnte in einer Langzeitmessung drei Monate nach der zweiten Impfung, entsprechend etwa vier Monaten nach der ersten Impfung, mit einem mRNA-Impfstoff in 67 % der untersuchten Transplantationspatienten anti-S IgG-Antikörper nachweisen. In diesem Fall handelte es sich um Organempfänger verschiedener Transplantationsorgane. Werden die Ergebnisse der von uns untersuchten NTX- und LTX-Patienten gemittelt betrachtet (61 %), passen sie näherungsweise zu denen von Boyarsky et al (67 %).

Zum Zeitpunkt der dritten Blutentnahme, etwa 6 Monate nach der ersten Impfung, konnte bei insgesamt 47 % unserer LTX-Patienten, 53 % der NTX-Patienten und 80 % der Kontrollpersonen eine zelluläre Immunantwort in Form von IFN- γ und/oder IL-2 festgestellt werden. In der Studie von Hamm et al.(135) wurde die T-Zell Reaktivität ausschließlich anhand

eines IFN- γ Releasing Assays gemessen. Hierbei zeigten 13 % der Transplantationspatienten (Leber-, Nieren- und Lungentransplantierte) und etwa 59 % der gesunden Kontrollpersonen sechs Monate nach der ersten Impfung eine positive T-Zell Reaktion. Dass in der Studie deutlich weniger Patienten eine zelluläre Immunität aufwiesen, könnte am ehesten an der alleinigen Untersuchung des IFN- γ liegen. Der Anteil von TX-Patienten, die ein halbes Jahr nach der ersten Impfung keine humorale Immunantwort aufwiesen, betrug 10 % und ist damit wiederum vergleichbar mit den Ergebnissen unserer Untersuchungen (LTX: 12 %, NTX: 13 %).

Insgesamt konnte in allen Untersuchungsgruppen ein halbes Jahr nach der ersten Impfung ein Rückgang sowohl der humoralen als auch der zellulären Immunantwort festgestellt werden. Die Studien von Bertrand et al.(162) sowie Goldberg et al.(163) konnten ebenfalls die Minderung der B- und T-Zell Reaktivität in gesunden und transplantierten Personen einige Monate nach doppelter Impfung gegen SARS-CoV-2 feststellen. Aufgrund eben dieses Verlustes der Immunantwort in immunsupprimierten und gesunden Versuchsgruppen wurden von der STIKO weitere Booster- Impfungen zunächst nach Ablauf der ersten sechs Monate und im Verlauf dann nach Ablauf der ersten drei Monate nach der zweiten Impfung empfohlen (164, 165).

Der insgesamt hohe Anteil IL-2 positiver T-Zellen nach der 2.BE (LTX: etwa 90 %, NTX: 56 %) und auch nach der 3.BE (LTX: 56 %, NTX: 44 %) weist auf eine gut ausgeprägte Immunantwort der Transplantationspatienten hin, die teils besser ausfällt als in der Literatur beschrieben. Grund dafür könnte die isolierte Betrachtung der Serokonversion und von IFN- γ produzierenden Zellen in anderen Studien gewesen sein. Folglich lässt unser Ergebnis auch auf einen guten und langanhaltenden Infektionsschutz der in dieser Studie untersuchten Patienten hoffen.

Insgesamt lassen diese Erkenntnisse auf eine ausgeprägtere Immunantwort Transplantierte nach vollständiger SARS-CoV-2 Impfung schließen, als ursprünglich angenommen wurde. Dies stimmt mit unseren Erkenntnissen aus den Fragebögen überein. Hieraus ging hervor, dass keiner der Studienteilnehmer, die sich innerhalb des Beobachtungszeitraumes mit Covid-19 infizierten, einen schweren oder protrahierten und behandlungsbedürftigen Verlauf erlitt. Dies lässt auf eine gute Wirksamkeit der Impfung schließen.

4.2 Einflussfaktoren auf die Immunantwort

Die vorliegende Studie hat Unterschiede der humoralen und zellulären Immunantwort zwischen den Leber- und Nierentransplantierten festgestellt. Insgesamt zeigten die LTX-Patienten eine bessere humorale und zelluläre Immunantwort im Vergleich zu den NTX-Patienten. In der Literatur gibt es zahlreiche Einflussfaktoren, die eine Einschränkung der

Immunantwort transplantierte Patienten bedingen können. Dazu zählen neben Unterschieden in der immunsuppressiven Therapie das höhere Alter, insbesondere über 65 Jahre, weibliches Geschlecht, ein früher Untersuchungszeitpunkt nach Transplantation, eine eingeschränkte Nierenfunktion mit einer eGFR unter 45ml/min sowie weitere Komorbiditäten wie etwa eine arterielle Hypertonie oder ein Diabetes mellitus (133, 134, 142).

Das mittlere Alter von Transplantationspatienten in anderen Studien wird meist als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben und lag im Durchschnitt häufig über 60 Jahren (144, 146). Das Alter unserer Studienteilnehmer wurde aufgrund einer großen Standardabweichung als Median mit Interquartilsabständen angegeben, weshalb die Vergleichbarkeit des Alters mit anderen Studien eingeschränkt ist. Werden für einen näherungsweisen Vergleich jedoch die Mittelwerte anstelle des Medians des Alters unserer Patienten herangezogen (NTX-Patienten 50,4 Jahre und LTX-Patienten 56,7 Jahre), so fällt auf, dass unsere Patienten durchschnittlich deutlich unter 60 Jahre alt waren (53,5 Jahre). Das jüngere Alter könnte demnach die Immunisierung unserer Patienten im Vergleich zu anderen Studien positiv beeinflusst haben. Innerhalb der von uns untersuchten Patientengruppen war das mediane Alter der teilnehmenden NTX-Patienten 5 Jahre geringer und es nahmen mehr männliche Patienten an der Studie teil als in der Vergleichsgruppe der LTX-Patienten. Unter alleiniger Betrachtung des Alters und Geschlechts im Hinblick auf die positive Beeinflussung der Immunisierung wäre demnach ein Vorteil für die NTX-Patienten zu erwarten gewesen. In unseren Untersuchungen konnte dies jedoch nicht bestätigt werden, sodass der Einfluss dieser beiden Faktoren eher gering gewesen zu sein scheint.

Der Untersuchungszeitpunkt nach Transplantation war bei den Leber- im Vergleich zu den Nierentransplantierten etwas später (im Median 4 Jahre im Vergleich zu 3 Jahren), was eine bessere Immunantwort begünstigt haben könnte. Zusätzlich entwickelten vier von sechs NTX-Patienten, die innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation geimpft wurden weder eine humorale noch eine zelluläre Immunantwort. Die Annahme, dass Organtransplantierte kurze Zeit nach Transplantation aufgrund einer hohen Immunsuppression eine geringere Immunantwort auf Impfungen ausbilden bzw. schneller Auffrischimpfungen benötigen, um ihre Immunität aufrecht erhalten zu können, ist daher naheliegend und in Bezug auf andere Impfungen, wie beispielsweise gegen Pneumokokken, bereits bekannt (166, 167).

Den größten Einfluss auf die Differenzen in den Untersuchungsgruppen scheint jedoch die Immunsuppression genommen zu haben. Im Allgemeinen fällt die immunsuppressive Medikation bei LTX-Patienten aufgrund einer höheren Immuntoleranz nach Transplantation geringer aus als bei NTX- oder anderen Transplantationspatienten. Mehrere Studien konnten belegen, dass eine dreifache Immunsuppression, Hochdosis-Corticosteroide sowie MMF- oder MPA-enthaltende Therapiekonzepte Risikofaktoren für ein geringes Ansprechen nach doppelter SARS-CoV-2 Impfung darstellen (133, 146, 168). mTOR-Inhibitoren hingegen

könnten sogar als protektiver Faktor gegen eine geringe humorale Immunantwort fungieren (168).

Fast 90 % der teilnehmenden Nierenpatienten erhielt zum Beginn der Datenerhebung eine dreifach immunsuppressive Therapie. Darunter war bei 76 % unter anderem MMF im Therapieschema enthalten. Im Vergleich dazu erhielten nur 14 % der Leberpatienten eine Dreifachtherapie und davon wiederum 66 % MMF. Insgesamt war MMF bei 71 % aller NTX- und bei 33 % aller LTX-Patienten im Therapieschema enthalten. Hieraus geht hervor, dass Nierentransplantierte höchst wahrscheinlich bereits durch die standardmäßige Medikation ein stark erhöhtes Risiko für eine geringere Immunantwort auf Impfungen im Vergleich zu Lebertransplantierten haben.

Aufgrund der geringen Anzahl von Studienteilnehmenden und den vielen variablen Therapieschemata der untersuchten Patienten, ist eine eindeutige Schlussfolgerung über die Immunsuppression als Ursache der geringeren Immunantwort bei den NTX-Patienten zwar nicht möglich, dennoch konnten unsere Untersuchungen Hinweise dafür aufzeigen. Insbesondere ist hierbei zu erwähnen, dass die immunsuppressive Therapie eines jeden Transplantationspatienten ständiger Kontrollen und Anpassungen unterliegt. Ein Einfluss der Immunsuppression lässt sich jedoch in jedem Fall erkennen und ist durch die Kongruenz zu den Erkenntnissen aus anderen Studien anzunehmen.

4.3 Infektionen mit SARS-CoV-2

Insgesamt haben sich während des Beobachtungszeitraumes 41 % (16/39) der Transplantierten und 30 % der gesunden Kontrollpersonen nach einer Grundimmunisierung mit BNT162b2 und weiteren Booster-Impfungen mit SARS-CoV-2 infiziert. Der zuletzt gemessene Zeitpunkt ohne Infektionen war die 3.BE. Von den infizierten Transplantierten hatten 56 % bis dahin keine adäquate Immunität gegen das Virus entwickelt. Darunter befand sich auch ein NTX-Patient, der bereits eine Booster-Impfung erhalten hatte. Im Laufe der darauffolgenden sechs Monate erhielten mit einer einzigen Ausnahme alle Studienteilnehmer mindestens eine Booster-Impfung, bevor sie sich mit dem Virus infizierten. 25 % hatten sogar bereits eine zweite Booster-Impfung erhalten. Aufgrund der geringen Fallzahlen konnten keine Schlüsse aus den verschiedenen Booster-Impfungen in Bezug auf eine bessere oder schlechtere Immunantwort gezogen werden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass ein Großteil der NTX-Patienten (71 %), die nach der zweiten Impfung mit BNT162b2 keine Immunantwort gegen SARS-CoV-2 gebildet hatten, auch nach einer weiteren dritten oder sogar vierten Impfung keine verbesserte B-Zell oder T-Zell Reaktion aufwiesen. Daten von Fallberichten stützen diesen Punkt und prognostizieren nach einer vierten Impfung nur eine gering oder nicht

verbesserte Serokonversion bei vorbestehend niedriger humoraler Immunantwort nach drei Impfungen (169, 170).

Zu erklären ist die hohe Infektionsrate am ehesten mit den zu dieser Zeit dominierenden, stark infektiösen Omikron Virusvarianten BA.2 und BA.5., die mit einer erhöhten Immunevasion assoziiert sind. Studien belegen, dass die Immunisierung transplantierten Patienten und insbesondere die Durchführung von Booster- Impfungen schwere Verläufe verhindern können und daher stark empfohlen werden sollten (171, 172). Dies steht in Einklang zu den Ergebnissen unserer Studie. Hieraus ließ sich ableiten, dass sich Studienteilnehmer gleichermaßen mit SARS-CoV-2 infizierten, unabhängig davon, ob sie eine adäquate Immunreaktion auf die doppelte SARS-CoV-2 Impfung im Vorhinein gebildet hatten oder nicht. Obwohl viele der Studienteilnehmenden keine vollständige Immunantwort ausgebildet hatten, zeigte der allergrößte Teil zumindest eine humorale oder zelluläre Immunität. Mithilfe der Bestimmung von Antikörpern, IL-2 und IFN- γ konnten wir somit bei 91 % aller immunisierten Studienteilnehmern auch 6 Monate nach der Erstimpfung noch eine Immunantwort feststellen. Bisher konnten keine spezifischen Schwellenwerte für Antikörper oder T-Zell Reaktivität festgelegt werden, die einen effektiven Schutz vor einer schweren Infektion mit SARS-CoV-2 garantieren können. Der entscheidende Punkt in Hinsicht auf die Infektionen im Rahmen unserer Studie scheint aus Patientensicht in jedem Fall der Verlauf der Erkrankung zu sein. So verliefen alle Infektionen mit leichten Symptomen und ohne Notwendigkeit einer medikamentösen Therapie oder eines stationären Aufenthalts. Zurückzuführen scheint dies einerseits auf die gut ausgeprägten Immunantworten nach den verschiedenen SARS-CoV-2 Impfungen und Boostern. Die Auswertung unseres Fragebogens konnte jedoch zusätzlich zeigen, dass sich der Großteil der drei Untersuchungsgruppen an hohe Hygienestandards während der Pandemie gehalten hat und demnach insbesondere das Bewusstsein zur Vorbeugung möglicher Infektionsrisiken zum Schutz vor Infektionen beigetragen haben könnte.

4.4 Grenzen der Studie

Die Untersuchungen konnten zeigen, dass transplantierte Patienten besser vor der Infektion mit SARS-CoV-2 und schweren Verläufen geschützt sind als ursprünglich angenommen wurde. Die Übertragbarkeit auf allgemeingültige Aussagen ist jedoch aufgrund der geringen Studienteilnehmeranzahl eingeschränkt. Des Weiteren wurden Komorbiditäten und eventuelle Risikofaktoren für ein geringeres Impfansprechen wie etwa ein erhöhter BMI, eine erniedrigte eGFR, arterielle Hypertension oder ein Diabetes mellitus nicht erhoben oder berücksichtigt. Aus diesem Grund ist die Aussagekraft innerhalb der Patientengruppen und im Vergleich zu

den nicht transplantierten Vergleichspersonen verringert, da diese Kriterien die vorliegenden Ergebnisse unwissentlich beeinflusst haben könnten.

Als problematisch hat sich außerdem die Auswertung des Fragebogens erwiesen. Hierbei war ein Vergleich zwischen den Aussagen der Studienteilnehmer in Hinsicht auf das persönliche Risikoverhalten nur sehr eingeschränkt möglich, da die Angaben zu Kontaktbeschränkungen, individuellem Schutzverhalten und Freizeitgestaltung nicht objektivierbar waren. Sie geben vielmehr einen richtungsweisenden Überblick zum Verhalten der transplantierten Patienten, um sich inmitten der Pandemie bestmöglich vor einer Infektion mit SARS-CoV-2 zu schützen. Dass hierbei kein direkter Zusammenhang zwischen der Personenanzahl, Kindern oder Haushaltshilfen und dem Infektionsrisiko dargestellt werden konnte, verdeutlicht die Relevanz der allgemein empfohlenen Hygienemaßnahmen und der AHA-Regel (Abstand, Hygiene, Alltagsmaske) während der Pandemie. Zur Konkretisierung einzelner Risikofaktoren sind weitere Untersuchungen notwendig. Es würde sich hierzu beispielsweise ein prospektives Studiendesign anbieten, bei dem die einzelnen Faktoren im Vorhinein erhoben und festgelegt werden.

5 Zusammenfassung

Mit dem Beginn der weltweiten SARS-CoV-2 Pandemie im Frühjahr 2020 wurden organtransplantierte Patienten aufgrund ihrer Immunsuppression als besonders gefährdet für Covid-19-Infektionen mit schweren Verläufen angesehen. Mit der Entwicklung der ersten Impfstoffe gegen das Virus im Winter 2020 wurde außerdem auf Basis bisheriger Erfahrungen mit anderen Impfungen nach Transplantation ein verringertes Impfansprechen auf die SARS-CoV-2 Impfung für diese Patienten prognostiziert. Damit zählen Transplantierte bis heute zu den gefährdeten Risikogruppen.

In der vorliegenden Studie wurden 21 Leber-, 28 Nierentransplantierte und zehn gesunde Probanden über den Zeitraum von einem Jahr in Bezug auf ihre Immunantwort nach zweimaliger Impfung mit dem SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff BNT162b2 beobachtet. Dazu wurden die humorale Immunität in Form von Antikörperbestimmungen und die zelluläre Immunantwort mithilfe eines IL-2 und IFN- γ detektierenden ELISpot Immunoassays bestimmt. Die Untersuchungen fanden jeweils etwa vier Wochen nach der ersten (1.BE) und zweiten Impfung (2.BE), sowie etwa sechs (3.BE) und zwölf Monate (4.BE) nach der ersten Impfung statt. Zu Beginn der Datenerhebung konnte eine durchgemachte Infektion mit SARS-CoV-2 ausgeschlossen werden. Parallel zu den Messungen ein Jahr nach der ersten Impfung erfolgte die retrospektive Erhebung aller weiteren Booster-Impfungen, der durchgemachten Infektionen und des individuellen Schutz- und Risikoverhaltens der Studienteilnehmenden mithilfe eines Fragebogens.

Die Messungen ergaben signifikant höhere Antikörpertiter und reaktive T-Zellen bei den gesunden Kontrollpersonen im Vergleich zu den transplantierten Patienten nach der ersten Impfung. Zum Zeitpunkt der 2.BE und 3.BE konnten höhere Antikörpertiter bei den Probanden und den LTX-Patienten im Vergleich zu den NTX-Patienten festgestellt werden. Des Weiteren wurden bei der 2.BE mehr reaktive T-Zellen bei den Leber- als bei den Nierentransplantierten detektiert, dieser Unterschied erreichte jedoch nicht das Signifikanzniveau. Ein halbes Jahr nach der Erstimpfung konnte ein starker Rückgang der humoralen und zellulären Immunantwort im Vergleich zur 2.BE in allen Teilnehmergruppen festgestellt werden. Die Minderung der Antikörpertiter der Kontrollgruppe und der LTX-Patienten, sowie die der IL-2 reaktiven T-Zellen aller Gruppen und der IFN- γ reaktiven T-Zellen der Transplantationspatienten waren dabei signifikant.

Während den Untersuchungen fiel auf, dass IFN- γ produzierende T-Zellen in aller Regel auch IL-2 produzierten. Diese Zellen könnten auf eine besonders langanhaltende Immunität hinweisen.

Insgesamt hatten alle LTX-Patienten nach der zweimaligen Impfung mit BNT162b2 zum Zeitpunkt der 2.BE eine humorale oder zelluläre Immunantwort gegen SARS-CoV-2

ausgebildet. Davon zeigten 60 % beides, während dies im Vergleich auf nur 32 % der NTX-Patienten zutraf. Weitere 32 % der Nierentransplantierten hatten bis zu diesem Zeitpunkt weder Antikörper noch reaktive T-Zellen ausgebildet.

91 % aller Patienten, die bei der 2.BE eine Immunantwort aufwiesen, zeigten auch ein halbes Jahr nach der Erstimpfung zum Zeitpunkt der 3.BE noch eine, wenn auch verminderte Immunität in Form von IL-2 reaktiven T-Zellen oder Antikörpern. Der größte Abfall konnte hierbei in der Gruppe der Lebertransplantierten verzeichnet werden.

Als Grund für die geringere Immunantwort der NTX- im Vergleich zu den LTX-Patienten konnte in erster Linie die erhöhte Immunsuppression identifiziert werden. Während 89 % der Nierentransplantierten eine dreifache Immunsuppression erhielten, wurden 86 % der Lebertransplantierten mit einer einfachen oder doppelten Immunsuppression therapiert. Dabei scheint besonders die Einnahme von MMF ein entscheidender Faktor zu sein. Der genaue Einfluss unterschiedlicher Therapieregimente auf die Immunantwort nach SARS-CoV-2 konnte in unserer Studie nicht erhoben werden und bleibt Gegenstand zukünftiger Untersuchungen.

Insgesamt infizierten sich im Laufe des Beobachtungszeitraums 32 % aller Studienteilnehmenden. Darunter befanden sich 33 % der LTX-, 32 % der NTX-Patienten und 30 % der gesunden Kontrollen. 71 % der Infektionen der Lebertransplantierten und 33 % der gesunden Probanden verliefen asymptomatisch, ohne dass die Studienteilnehmenden dies bemerkten. Alle Infizierten hatten mindestens eine Booster-Impfung vor ihrer Infektion erhalten. Die Infektionen verliefen alle mild und ohne Komplikationen.

Um neben der Immunsuppression weitere mögliche Risikofaktoren für Infektionen feststellen zu können, wurde ein Fragebogen zum Verhalten aller Studienteilnehmenden erhoben. Insgesamt verhielten sich die untersuchten Patienten- und Kontrollgruppen ähnlich, um sich bestmöglich vor einer Infektion mit SARS-CoV-2 zu schützen. Es konnten zwar keine erheblichen Unterschiede in den jeweiligen Untersuchungsgruppen festgestellt werden, dennoch ergaben sich Hinweise auf ein möglicherweise erhöhtes Infektionsrisiko für Nierentransplantierte durch Kinder im Haushalt und den Verzicht auf das ausschließliche Tragen von FFP-2 Masken. Für die Konkretisierung dieser Hinweise sind weitere Untersuchungen notwendig.

Abschließend lässt sich festhalten, dass die Untersuchungen eine bessere Impfantwort und Immunität der Transplantationspatienten nach doppelter SARS-CoV-2 Impfung ergeben haben, als ursprünglich angenommen wurde. Nierentransplantierte scheinen aufgrund der erhöhten Immunsuppression eine geringere Impfantwort im Vergleich zu Lebertransplantierten ausgebildet zu haben, infizierten sich jedoch gleichermaßen mit dem Virus wie auch die Vergleichsgruppen. Es konnte ein ähnliches Schutzverhalten in allen Untersuchungsgruppen

festgestellt werden, das erheblich zur Vorbeugung von Infektionen beigetragen zu haben scheint, da sich im Verhältnis etwa gleich viele Immunsupprimierte wie gesunde Vergleichspersonen infizierten. Insgesamt verliefen alle Infektionen leicht, sodass von einer guten Wirksamkeit der Impfung und einer adäquaten Immunität aller Studienteilnehmenden ausgegangen werden kann. Zukünftige Studien werden helfen können, weitere Risikofaktoren für SARS-CoV-2 Infektionen zu ermitteln und die Patienten noch besser vor Infektionen schützen zu können.

6 Literaturverzeichnis

1. Lautem A, Boedecker-Lips SC, Schneider E, Runkel S, Feist C, Lang H, et al. The Cellular and Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 Messenger RNA Vaccines Is Significantly Better in Liver Transplant Patients Compared with Kidney Transplant Patients. *Pathogens*. 2023;12(7).
2. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-9.
3. Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):221-36.
4. Ravi V, Saxena S, Panda PS. Basic virology of SARS-CoV 2. *Indian J Med Microbiol*. 2022;40(2):182-6.
5. Abdelrahman Z, Li M, Wang X. Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses. *Front Immunol*. 2020;11:552909.
6. Samudrala PK, Kumar P, Choudhary K, Thakur N, Wadekar GS, Dayaramani R, et al. Virology, pathogenesis, diagnosis and in-line treatment of COVID-19. *Eur J Pharmacol*. 2020;883:173375.
7. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med*. 2020;28(2):174-84.
8. Mesel-Lemoine M, Millet J, Vidalain PO, Law H, Vabret A, Lorin V, et al. A human coronavirus responsible for the common cold massively kills dendritic cells but not monocytes. *J Virol*. 2012;86(14):7577-87.
9. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015;1282:1-23.
10. Jartti L, Langen H, Söderlund-Venermo M, Vuorinen T, Ruuskanen O, Jartti T. New respiratory viruses and the elderly. *Open Respir Med J*. 2011;5:61-9.
11. Sharma A, Ahmad Farouk I, Lal SK. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. *Viruses*. 2021;13(2).
12. Benvenuto D, Giovanetti M, Ciccozzi A, Spoto S, Angeletti S, Ciccozzi M. The 2019-new coronavirus epidemic: Evidence for virus evolution. *J Med Virol*. 2020;92(4):455-9.
13. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(3):141-54.
14. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *Jama*. 2020;323(13):1239-42.
15. WHO Coronavirus (Covid- 19) Dashboard 2023 [updated 21.03.2023 22.03.2023]. Available from: <https://covid19.who.int/>.
16. Chilamakuri R, Agarwal S. COVID-19: Characteristics and Therapeutics. *Cells*. 2021;10(2).
17. Zhang J, Xiao T, Cai Y, Chen B. Structure of SARS-CoV-2 spike protein. *Curr Opin Virol*. 2021;50:173-82.
18. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M, et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med*. 2020;26(5):681-7.
19. Mohamadian M, Chiti H, Shoghli A, Biglari S, Parsamanesh N, Esmaeilzadeh A. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *J Gene Med*. 2021;23(2):e3303.
20. Ashraf UM, Abokor AA, Edwards JM, Waigi EW, Royfman RS, Hasan SA, et al. SARS-CoV-2, ACE2 expression, and systemic organ invasion. *Physiol Genomics*. 2021;53(2):51-60.
21. Harmer D, Gilbert M, Borman R, Clark KL. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Lett*. 2002;532(1-2):107-10.

22. Papanikolaou V, Chrysovergis A, Ragos V, Tsiambas E, Katsinis S, Manoli A, et al. From delta to Omicron: S1-RBD/S2 mutation/deletion equilibrium in SARS-CoV-2 defined variants. *Gene*. 2022;814:146134.
23. Domingo E, Holland JJ. RNA virus mutations and fitness for survival. *Annu Rev Microbiol*. 1997;51:151-78.
24. Zhang Y, Zhang H, Zhang W. SARS-CoV-2 variants, immune escape, and countermeasures. *Front Med*. 2022;16(2):196-207.
25. Wang C, Zheng Y, Niu Z, Jiang X, Sun Q. The virological impacts of SARS-CoV-2 D614G mutation. *J Mol Cell Biol*. 2021;13(10):712-20.
26. Bhattacharya M, Chatterjee S, Sharma AR, Agoramoorthy G, Chakraborty C. D614G mutation and SARS-CoV-2: impact on S-protein structure, function, infectivity, and immunity. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021;105(24):9035-45.
27. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020;182(4):812-27.e19.
28. Áine O'Toole ES, and Andrew Rambaut. © SARS-CoV-2 lineages 2023 [14.04.2023]. Available from: <https://cov-lineages.org/index.html>Pango
29. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol*. 2020;5(11):1403-7.
30. Robert Koch Institut: Anwendung der SARS-CoV-2 Varianten Nomenklatur der WHO durch das RKI 2021 [updated 07.12.2021]. Available from: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Virologische_Basisdaten_Varianten_Nomenklatur.html.
31. Araf Y, Akter F, Tang YD, Fatemi R, Parvez MSA, Zheng C, et al. Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *J Med Virol*. 2022;94(5):1825-32.
32. Menni C, Valdes AM, Polidori L, Antonelli M, Penamakuri S, Nogal A, et al. Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: a prospective observational study from the ZOE COVID Study. *Lancet*. 2022;399(10335):1618-24.
33. Statement on the update of WHO's working definitions and tracking system for SARS-CoV-2 variants of concern and variants of interest 2023 [updated 16.03.2023]. Available from: <https://www.who.int/news/item/16-03-2023-statement-on-the-update-of-who-s-working-definitions-and-tracking-system-for-sars-cov-2-variants-of-concern-and-variants-of-interest>.
34. Chan JF, Yuan S, Kok KH, To KK, Chu H, Yang J, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*. 2020;395(10223):514-23.
35. Wu Y, Kang L, Guo Z, Liu J, Liu M, Liang W. Incubation Period of COVID-19 Caused by Unique SARS-CoV-2 Strains: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2022;5(8):e2228008.
36. Rahman S, Montero MTV, Rowe K, Kirton R, Kunik F, Jr. Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2021;14(5):601-21.
37. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun*. 2020;109:102433.
38. Ren LL, Wang YM, Wu ZQ, Xiang ZC, Guo L, Xu T, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chin Med J (Engl)*. 2020;133(9):1015-24.
39. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
40. Khan M, Khan H, Khan S, Nawaz M. Epidemiological and clinical characteristics of coronavirus disease (COVID-19) cases at a screening clinic during the early outbreak period: a single-centre study. *J Med Microbiol*. 2020;69(8):1114-23.

41. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507-13.
42. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1177-9.
43. Gao YD, Ding M, Dong X, Zhang JJ, Kursat Azkur A, Azkur D, et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy*. 2021;76(2):428-55.
44. Umakanthan S, Sahu P, Ranade AV, Bukelo MM, Rao JS, Abrahao-Machado LF, et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgrad Med J*. 2020;96(1142):753-8.
45. Jin JM, Bai P, He W, Wu F, Liu XF, Han DM, et al. Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. *Front Public Health*. 2020;8:152.
46. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *Jama*. 2020;323(11):1061-9.
47. Kates OS, Haydel BM, Florman SS, Rana MM, Chaudhry ZS, Ramesh MS, et al. Coronavirus Disease 2019 in Solid Organ Transplant: A Multicenter Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2021;73(11):e4090-e9.
48. Coll E, Fernández-Ruiz M, Sánchez-Álvarez JE, Martínez-Fernández JR, Crespo M, Gayoso J, et al. COVID-19 in transplant recipients: The Spanish experience. *Am J Transplant*. 2021;21(5):1825-37.
49. Gatti M, Rinaldi M, Bussini L, Bonazzetti C, Pascale R, Pasquini Z, et al. Clinical outcome in solid organ transplant recipients affected by COVID-19 compared to general population: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(8):1057-65.
50. Veronese N, Bonica R, Cotugno S, Tulone O, Camporeale M, Smith L, et al. Interventions for Improving Long COVID-19 Symptomatology: A Systematic Review. *Viruses*. 2022;14(9).
51. Lechner-Scott J, Levy M, Hawkes C, Yeh A, Giovannoni G. Long COVID or post COVID-19 syndrome. *Mult Scler Relat Disord*. 2021;55:103268.
52. Post COVID-19 condition (Long COVID): World Health Organization; 2023 [updated 07.12.2022. Available from: <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/post-covid-19-condition>.
53. Paxlovid. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012.
54. Najjar-Debbiny R, Gronich N, Weber G, Khoury J, Amar M, Stein N, et al. Effectiveness of Paxlovid in Reducing Severe Coronavirus Disease 2019 and Mortality in High-Risk Patients. *Clin Infect Dis*. 2023;76(3):e342-e9.
55. Wen W, Chen C, Tang J, Wang C, Zhou M, Cheng Y, et al. Efficacy and safety of three new oral antiviral treatment (molnupiravir, fluvoxamine and Paxlovid) for COVID-19 : a meta-analysis. *Ann Med*. 2022;54(1):516-23.
56. Kabinger F, Stiller C, Schmitzová J, Dienemann C, Kokic G, Hillen HS, et al. Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. *Nat Struct Mol Biol*. 2021;28(9):740-6.
57. Saravolatz LD, Depcinski S, Sharma M. Molnupiravir and Nirmatrelvir-Ritonavir: Oral Coronavirus Disease 2019 Antiviral Drugs. *Clin Infect Dis*. 2023;76(1):165-71.
58. Lamb YN. Remdesivir: First Approval. *Drugs*. 2020;80(13):1355-63.
59. Lee TC, Murthy S, Del Corpo O, Senécal J, Butler-Laporte G, Sohani ZN, et al. Remdesivir for the treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(9):1203-10.
60. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med*. 2020;383(19):1813-26.
61. Freund W. SARS-CoV-2-Antikörper bei fehlender Impfantwort durch Immunsuppression. 2022;33(1-2):36-7.
62. Deeks ED. Casirivimab/Imdevimab: First Approval. *Drugs*. 2021;81(17):2047-55.

63. Paul Ehrlich Institut- ZEPAI 2023 [updated 22.02.2023/22.03.2023]. Available from: <https://www.pei.de/DE/institut/zepai/zentrum-pandemie-impfstoffe-therapeutika-node.html>.
64. European Medicines Agency 2023 [23.03.2023]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-development-evaluation-approval-monitoring>.
65. Ständige Impfkommission: Beschluss der STIKO zur 25. Aktualisierung der COVID-19-Impfempfehlung. *Epid Bull* 2023;8:3-21 [Internet]. 2023:[4-11 pp.].
66. Wang Y, Zhang Z, Luo J, Han X, Wei Y, Wei X. mRNA vaccine: a potential therapeutic strategy. *Mol Cancer*. 2021;20(1):33.
67. Pollard C, De Koker S, Saelens X, Vanham G, Grooten J. Challenges and advances towards the rational design of mRNA vaccines. *Trends Mol Med*. 2013;19(12):705-13.
68. Greinacher A, Selleng K, Palankar R, Wesche J, Handtke S, Wolff M, et al. Insights in ChAdOx1 nCoV-19 vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. *Blood*. 2021;138(22):2256-68.
69. Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, Ghosh J, Peiffer-Smadja N. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(2):202-21.
70. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2020;383(27):2603-15.
71. Andrews N, Stowe J, Kirsebom F, Toffa S, Rickeard T, Gallagher E, et al. Covid-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. *N Engl J Med*. 2022;386(16):1532-46.
72. Stufenplan der STIKO zur Priorisierung der COVID-19-Impfung: Robert Koch Institut; 2021 [updated Februar 2021. Available from: <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Impfen/ImpfungenAZ/COVID-19/Stufenplan.pdf?blob=publicationFile>.
73. DSO. Deutsche Stiftung Organtransplantation 2025 [Available from: <https://dso.de/dso/%C3%BCber-die-dso>].
74. DSO. Deutsche Stiftung Organtransplantation 2025 [Available from: <https://dso.de/organspende/statistiken-berichte/organtransplantation>].
75. Eurotransplant Statistics Report Library 2025 [Available from: https://statistics.eurotransplant.org/index.php?search_type=overview&search_text=9023].
76. DSO. Deutsche Stiftung Organtransplantation [Available from: https://www.dso.de/SiteCollectionDocuments/News/DSO-Newsletter_Mitte_08_2023.pdf#search=durchschnittliche%20wartezeit%20niere].
77. Michaels MG, La Hoz RM, Danziger-Isakov L, Blumberg EA, Kumar D, Green M, et al. Coronavirus disease 2019: Implications of emerging infections for transplantation. *Am J Transplant*. 2020;20(7):1768-72.
78. Kniepeiss D, Jantscher L, Al-Sharafy S, Sendlhofer G, Schemmer P. Framework for Solid-Organ Transplantation During COVID-19 Pandemic in Europe. *Risk Manag Healthc Policy*. 2021;14:2421-33.
79. Ahn C, Amer H, Anglicheau D, Ascher NL, Baan CC, Battsetset G, et al. Global Transplantation COVID Report March 2020. *Transplantation*. 2020;104(10):1974-83.
80. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016;42(1):15-31, vii.
81. Kumar R, Thompson EB. Gene regulation by the glucocorticoid receptor: structure: function relationship. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;94(5):383-94.
82. Cain DW, Cidlowski JA. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(4):233-47.
83. Duchini A, Goss JA, Karpen S, Pockros PJ. Vaccinations for adult solid-organ transplant recipients: current recommendations and protocols. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(3):357-64.
84. Forsythe P, Paterson S. Ciclosporin 10 years on: indications and efficacy. *Vet Rec*. 2014;174 Suppl 2(Suppl 2):13-21.

85. Karolin A, Genitsch V, Sidler D. Calcineurin Inhibitor Toxicity in Solid Organ Transplantation. *Pharmacology*. 2021;106(7-8):347-55.
86. Mao B, Zhang Q, Ma L, Zhao DS, Zhao P, Yan P. Overview of Research into mTOR Inhibitors. *Molecules*. 2022;27(16).
87. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*. 2012;149(2):274-93.
88. Nashan B, Citterio F. Wound healing complications and the use of mammalian target of rapamycin inhibitors in kidney transplantation: a critical review of the literature. *Transplantation*. 2012;94(6):547-61.
89. Nguyen LS, Vautier M, Allenbach Y, Zahr N, Benveniste O, Funck-Brentano C, et al. Sirolimus and mTOR Inhibitors: A Review of Side Effects and Specific Management in Solid Organ Transplantation. *Drug Saf*. 2019;42(7):813-25.
90. Donovan R, Eisen H, Ali O. Antiproliferatives and Transplantation. *Handb Exp Pharmacol*. 2022;272:39-52.
91. Bunea MC, Diculescu VC, Enculescu M, Iovu H, Enache TA. Redox Mechanism of Azathioprine and Its Interaction with DNA. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13).
92. Allison AC. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil. *Lupus*. 2005;14 Suppl 1:s2-8.
93. Kopic E, Becic F, Kusturica J. Basiliximab, mechanism of action and pharmacological properties. *Med Arh*. 2004;58(6):373-6.
94. Ponticelli C. Basiliximab: efficacy and safety evaluation in kidney transplantation. *Expert Opin Drug Saf*. 2014;13(3):373-81.
95. Lance EM. The mechanism of action of anti-lymphocyte serum. *Studies of antibody eluate*. *J Exp Med*. 1969;130(1):49-76.
96. Marsh JC, Gordon-Smith EC. The role of antilymphocyte globulin in the treatment of chronic acquired bone marrow failure. *Blood Rev*. 1988;2(3):141-8.
97. Hartono C, Muthukumar T, Suthanthiran M. Immunosuppressive drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(9):a015487.
98. Szumilas K, Wilk A, Wiśniewski P, Gimpel A, Dziedziejko V, Kipp M, et al. Current Status Regarding Immunosuppressive Treatment in Patients after Renal Transplantation. *Int J Mol Sci*. 2023;24(12).
99. Zeier2 TRTOWM, 1 Klinik für Nephrologie UE, Universität Duisburg-Essen, Heidelberg N. KDIGO-Leitlinien zur Betreuung von Nierentransplantatempfängern Deutsche Übersetzung. 2010.
100. Thomas Berg 1 * NFA, Tony Bruns 2 *, Martin-Walter Welker 3 , Tobias Weismüller 4 , Jonel Trebicka 5 ,, Frank Tacke 6 PS, Martina Sterneck 7 , Utz Settmacher 8 , Daniel Seehofer 9 , Eckart Schott 10 ,, Andreas Anton Schnitzbauer 11 HHS, Hans J. Schlitt 13 , Johann Pratschke 14 , Andreas Pascher 15 ,, Ulf Neumann 16 SM, Frank Lammert 18 , Ingo Klein 19 , Gabriele Kirchner 20 , Markus Guba 21 ,, Matthias Glanemann 22 CE, Ali E. Canbay 23 , Felix Braun 24 , Christoph P. Berg 25 , Wolf O. Bechstein 11 *, Thomas Becker 26 * CT. S2k-Leitlinie Lebertransplantation der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und der Deutschen Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie (DGAV). 2024;Version 1.0 – Dezember 2023 – AWMF-Registernummer: 021 – 029.
101. De Martin E, Londoño MC, Emamaullee J, Lerut J, Potts J, Aluvihare V, et al. The optimal immunosuppression management to prevent early rejection after liver transplantation: A systematic review of the literature and expert panel recommendations. *Clin Transplant*. 2022;36(10):e14614.
102. Doherty DG. Immunity, tolerance and autoimmunity in the liver: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2016;66:60-75.
103. Ebrahimi A, Hosseini SA, Rahim F. Immunosuppressive therapy in allograft transplantation: from novel insights and strategies to tolerance and challenges. *Cent Eur J Immunol*. 2014;39(3):400-9.
104. Eckerle I, Rosenberger KD, Zwahlen M, Junghanss T. Serologic vaccination response after solid organ transplantation: a systematic review. *PLoS One*. 2013;8(2):e56974.

105. Agrawal A, Ison MG, Danziger-Isakov L. Long-Term Infectious Complications of Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2022;17(2):286-95.
106. Le J, Durand CM, Agha I, Brennan DC. Epstein-Barr virus and renal transplantation. *Transplant Rev (Orlando)*. 2017;31(1):55-60.
107. Hemmersbach-Miller M, Alexander BD, Sudan DL, Pieper C, Schmader KE. Infections after kidney transplantation. Does age matter? *Clin Transplant*. 2019;33(4):e13516.
108. van Hoek B, de Rooij BJ, Verspaget HW. Risk factors for infection after liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2012;26(1):61-72.
109. Plotkin SL PS. A short history of vaccination. *Vaccines (Basel)*. 2008.
110. Zimmermann P, Curtis N. Factors That Influence the Immune Response to Vaccination. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(2).
111. Bosaeed M, Kumar D. Seasonal influenza vaccine in immunocompromised persons. *Hum Vaccin Immunother*. 2018;14(6):1311-22.
112. Schreiner D, Zepp F. [General principles of vaccination under immunosuppression]. *Z Rheumatol*. 2020;79(9):848-54.
113. Croce E, Hatz C, Jonker EF, Visser LG, Jaeger VK, Bühler S. Safety of live vaccinations on immunosuppressive therapy in patients with immune-mediated inflammatory diseases, solid organ transplantation or after bone-marrow transplantation - A systematic review of randomized trials, observational studies and case reports. *Vaccine*. 2017;35(9):1216-26.
114. Soesman NM, Rimmelzwaan GF, Nieuwkoop NJ, Beyer WE, Tilanus HW, Kemmeren MH, et al. Efficacy of influenza vaccination in adult liver transplant recipients. *J Med Virol*. 2000;61(1):85-93.
115. Karbasi-Afshar R, Izadi M, Fazel M, Khedmat H. Response of transplant recipients to influenza vaccination based on type of immunosuppression: A meta-analysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2015;26(5):877-83.
116. Birdwell KA, Ikizler MR, Sannella EC, Wang L, Byrne DW, Ikizler TA, et al. Decreased antibody response to influenza vaccination in kidney transplant recipients: a prospective cohort study. *Am J Kidney Dis*. 2009;54(1):112-21.
117. Ettinger R, Sims GP, Fairhurst AM, Robbins R, da Silva YS, Spolski R, et al. IL-21 induces differentiation of human naive and memory B cells into antibody-secreting plasma cells. *J Immunol*. 2005;175(12):7867-79.
118. *Endspurt Vorklinik Biochemie 3 Germany*: Georg Thieme Verlag KG; 2015.
119. Marsman C, Verhoeven D, Koers J, Rispen T, Ten Brinke A, van Ham SM, et al. Optimized Protocols for In-Vitro T-Cell-Dependent and T-Cell-Independent Activation for B-Cell Differentiation Studies Using Limited Cells. *Front Immunol*. 2022;13:815449.
120. Filippelli M, Lionetti E, Gennaro A, Lanzafame A, Arrigo T, Salpietro C, et al. Hepatitis B vaccine by intradermal route in non responder patients: an update. *World J Gastroenterol*. 2014;20(30):10383-94.
121. Carollo M, Palazzo R, Bianco M, Pandolfi E, Chionne P, Fedele G, et al. Hepatitis B specific T cell immunity induced by primary vaccination persists independently of the protective serum antibody level. *Vaccine*. 2013;31(3):506-13.
122. Awad G, Roch T, Stervbo U, Kaliszczyk S, Stittrich A, Hörstrup J, et al. Robust hepatitis B vaccine-reactive T cell responses in failed humoral immunity. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2021;21:288-98.
123. Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life. *Immunity*. 2018;48(2):202-13.
124. Guerder S, Flavell RA. T-cell activation. Two for T. *Curr Biol*. 1995;5(8):866-8.
125. Zhu J. T Helper Cell Differentiation, Heterogeneity, and Plasticity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(10).
126. Szabo SJ, Sullivan BM, Peng SL, Glimcher LH. Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:713-58.
127. Coffman RL, Seymour BW, Hudak S, Jackson J, Rennick D. Antibody to interleukin-5 inhibits helminth-induced eosinophilia in mice. *Science*. 1989;245(4915):308-10.

128. Slota M, Lim JB, Dang Y, Disis ML. ELISpot for measuring human immune responses to vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2011;10(3):299-306.
129. Damoiseaux J. The IL-2 - IL-2 receptor pathway in health and disease: The role of the soluble IL-2 receptor. *Clin Immunol*. 2020;218:108515.
130. Kahan SM, Bakshi RK, Ingram JT, Hendrickson RC, Lefkowitz EJ, Crossman DK, et al. Intrinsic IL-2 production by effector CD8 T cells affects IL-2 signaling and promotes fate decisions, stemness, and protection. *Sci Immunol*. 2022;7(68):eabl6322.
131. Kak G, Raza M, Tiwari BK. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. *Biomol Concepts*. 2018;9(1):64-79.
132. Bremer S, Vethe NT, Skauby M, Kasbo M, Johansson ED, Midtvedt K, et al. NFAT-regulated cytokine gene expression during tacrolimus therapy early after renal transplantation. *Br J Clin Pharmacol*. 2017;83(11):2494-502.
133. Ruether DF, Schaub GM, Duengelhoefer PM, Haag F, Brehm TT, Fathi A, et al. SARS-CoV2-specific Humoral and T-cell Immune Response After Second Vaccination in Liver Cirrhosis and Transplant Patients. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2022;20(1):162-72.e9.
134. Stumpf J, Siepmann T, Lindner T, Karger C, Schwöbel J, Anders L, et al. Humoral and cellular immunity to SARS-CoV-2 vaccination in renal transplant versus dialysis patients: A prospective, multicenter observational study using mRNA-1273 or BNT162b2 mRNA vaccine. *Lancet Reg Health Eur*. 2021;9:100178.
135. Hamm SR, Møller DL, Pérez-Alós L, Hansen CB, Pries-Heje MM, Heftdal LD, et al. Decline in Antibody Concentration 6 Months After Two Doses of SARS-CoV-2 BNT162b2 Vaccine in Solid Organ Transplant Recipients and Healthy Controls. *Front Immunol*. 2022;13:832501.
136. Manenti A, Giancetti E, Dapporto F, Leonardi M, Cantaloni P, Fattorini F, et al. Evaluation and correlation between SARS-CoV-2 neutralizing and binding antibodies in convalescent and vaccinated subjects. *J Immunol Methods*. 2022;500:113197.
137. Claudio Galli MP, David Dagfal, MS MBA, Francisco Averhoff MD PhD. Core Diagnostics: Antibody testing for SARS-CoV-2 infection, quantitative determination, response to vaccines and viral variability [white paper]. CORELABORATORY.ABBOTT; 2021 [updated 07/2021. Available from: https://cdn.pepperapps.io/diagnostics-cms/public/60dcbcd551c1ff090981ed95?signature=eyJhbGciOiJkaXIiLCJlbmMiOiJBMTI4Q0JDLUUhTMjU2In0.9nFGX43vdCD-Qd2XE-NzdA.e5mqnWdULSy2PGkSwfQ10kEG1UQzLUxlzkdUvU7F1xv06WNo-c47joEI46OqfiQdEoako-TvRI4CwkLYtVIVYRR7v2jcnkqBx9SFQIzwnqvFqHkx_WlydBACl4ZA_wEKCPydlqBtvFu7API9pVFVDt-WE7028r1nMWpvAe5CiYb2tzNgCGivM09-oxpfdY.vWBKI-boWE1UxgZgSc1K6Q.
138. Racine R, Winslow GM. IgM in microbial infections: taken for granted? *Immunol Lett*. 2009;125(2):79-85.
139. SARS- CoV- IgG for use with ARCHITECT [Gebrauchsanweisung]. Abbott Ireland Diagnostics Division; 2020 [updated 06/2020. Available from: https://assets.website-files.com/60093bc549e2af73ba5de7fa/614c91ddb950c64bad4cd3b9_G92793R04.pdf.
140. Robert Koch Institut: Wochenberichte zu COVID-19 (bis 8.6.2023) [08.02.2024]. Available from: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/Wochenbericht/Wochenberichte_Tab.html?nn=13490888.
141. Crane C, Phebus E, Ingulli E. Immunologic response of mRNA SARS-CoV-2 vaccination in adolescent kidney transplant recipients. *Pediatr Nephrol*. 2022;37(2):449-53.
142. Marion O, Del Bello A, Abravanel F, Faguer S, Esposito L, Laure Hebral A, et al. Predictive Factors for Humoral Response After 2-dose SARS-CoV-2 Vaccine in Solid Organ Transplant Patients. *Transplant Direct*. 2022;8(1):e1248.
143. Sakuraba A, Luna A, Micic D. A Systematic Review and Meta-Analysis of Serologic Response following Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccination in Solid Organ Transplant Recipients. *Viruses*. 2022;14(8).
144. Yanis A, Haddadin Z, Spieker AJ, Waqfi D, Rankin DA, Talj R, et al. Humoral and cellular immune responses to the SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine among a cohort of solid organ transplant recipients and healthy controls. *Transpl Infect Dis*. 2022;24(1):e13772.

145. Reischig T, Kacer M, Vlas T, Drenko P, Kielberger L, Machova J, et al. Insufficient response to mRNA SARS-CoV-2 vaccine and high incidence of severe COVID-19 in kidney transplant recipients during pandemic. *Am J Transplant*. 2022;22(3):801-12.
146. Rabinowich L, Grupper A, Baruch R, Ben-Yehoyada M, Halperin T, Turner D, et al. Low immunogenicity to SARS-CoV-2 vaccination among liver transplant recipients. *J Hepatol*. 2021;75(2):435-8.
147. Cheng CH, Hung HC, Lee JC, Huang PW, Gu PW, Lai Y, et al. Determinants of Antibody Response to SARS-CoV-2 Vaccines in Liver Transplant Recipients: The Role of Immunosuppression Reduction. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(11).
148. Sattler A, Thumfart J, Tóth L, Schrezenmeier E, Proß V, Stahl C, et al. SARS-CoV2 mRNA Vaccine-Specific B-, T- and Humoral Responses in Adolescents After Kidney Transplantation. *Transpl Int*. 2022;35:10677.
149. Bertrand D, Hamzaoui M, Lemée V, Lamulle J, Hanoy M, Laurent C, et al. Antibody and T Cell Response to SARS-CoV-2 Messenger RNA BNT162b2 Vaccine in Kidney Transplant Recipients and Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol*. 2021;32(9):2147-52.
150. Amanna IJ, Slifka MK. Contributions of humoral and cellular immunity to vaccine-induced protection in humans. *Virology*. 2011;411(2):206-15.
151. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci Immunol*. 2021;6(59).
152. Guarino M, Esposito I, Portella G, Cossiga V, Loperto I, Tortora R, et al. Humoral Response to 2-dose BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccination in Liver Transplant Recipients. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2022;20(7):1534-41.e4.
153. Cucchiari D, Egri N, Bodro M, Herrera S, Del Risco-Zevallos J, Casals-Urquiza J, et al. Cellular and humoral response after MRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2021;21(8):2727-39.
154. Dib M, Le Corre N, Ortiz C, García D, Ferrés M, Martínez-Valdebenito C, et al. SARS-CoV-2 vaccine booster in solid organ transplant recipients previously immunised with inactivated versus mRNA vaccines: A prospective cohort study. *Lancet Reg Health Am*. 2022;16:100371.
155. Saiag E, Grupper A, Avivi I, Elkayam O, Ram R, Herishanu Y, et al. The effect of a third-dose BNT162b2 vaccine on anti-SARS-CoV-2 antibody levels in immunosuppressed patients. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(5):735.e5-.e8.
156. Boyarsky BJ, Werbel WA, Avery RK, Tobian AAR, Massie AB, Segev DL, et al. Antibody Response to 2-Dose SARS-CoV-2 mRNA Vaccine Series in Solid Organ Transplant Recipients. *Jama*. 2021;325(21):2204-6.
157. Rozen-Zvi B, Yahav D, Agur T, Zingerman B, Ben-Zvi H, Atamna A, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 mRNA vaccine among kidney transplant recipients: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(8):1173.e1-.e4.
158. Rincon-Arevalo H, Choi M, Stefanski AL, Halleck F, Weber U, Szelinski F, et al. Impaired humoral immunity to SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine in kidney transplant recipients and dialysis patients. *Sci Immunol*. 2021;6(60).
159. D'Offizi G, Agrati C, Visco-Comandini U, Castilletti C, Puro V, Piccolo P, et al. Coordinated cellular and humoral immune responses after two-dose SARS-CoV2 mRNA vaccination in liver transplant recipients. *Liver Int*. 2022;42(1):180-6.
160. Favà A, Donadeu L, Sabé N, Pernin V, González-Costello J, Lladó L, et al. SARS-CoV-2-specific serological and functional T cell immune responses during acute and early COVID-19 convalescence in solid organ transplant patients. *Am J Transplant*. 2021;21(8):2749-61.
161. Boyarsky BJ, Chiang TP, Teles AT, Greenberg RS, Krach MR, Ou MT, et al. Antibody Kinetics and Durability in SARS-CoV-2 mRNA Vaccinated Solid Organ Transplant Recipients. *Transplantation*. 2021;105(10):e137-e8.
162. Bertrand D, Lemée V, Laurent C, Lemoine M, Hanoy M, Le Roy F, et al. Waning antibody response and cellular immunity 6 months after third dose SARS-Cov-2 mRNA BNT162b2 vaccine in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2022;22(5):1498-500.

163. Goldberg Y, Mandel M, Bar-On YM, Bodenheimer O, Freedman L, Haas EJ, et al. Waning Immunity after the BNT162b2 Vaccine in Israel. *N Engl J Med*. 2021;385(24):e85.
164. Qin CX, Moore LW, Anjan S, Rahamimov R, Sifri CD, Ali NM, et al. Risk of Breakthrough SARS-CoV-2 Infections in Adult Transplant Recipients. *Transplantation*. 2021;105(11):e265-e6.
165. Pressemitteilung der STIKO zur Verkürzung des Impfabstands bei der COVID-19-Auffrischimpfempfehlung Robert Koch- Institut; 2021 [cited 2024 15.09.2024]. Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/STIKO/Empfehlungen/PM_2021-12-21.html.
166. Linnemann CC, Jr., First MR, Schiffman G. Revaccination of renal transplant and hemodialysis recipients with pneumococcal vaccine. *Arch Intern Med*. 1986;146(8):1554-6.
167. Babu TM, Kotton CN. Immunizations in Chronic Kidney Disease and Kidney Transplantation. *Curr Treat Options Infect Dis*. 2021;13(2):47-65.
168. Zong K, Peng D, Yang H, Huang Z, Luo Y, Wang Y, et al. Risk Factors for Weak Antibody Response of SARS-CoV-2 Vaccine in Adult Solid Organ Transplant Recipients: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol*. 2022;13:888385.
169. Kamar N, Abravanel F, Marion O, Romieu-Mourez R, Couat C, Del Bello A, et al. Assessment of 4 Doses of SARS-CoV-2 Messenger RNA-Based Vaccine in Recipients of a Solid Organ Transplant. *JAMA Netw Open*. 2021;4(11):e2136030.
170. Caillard S, Thaunat O, Benotmane I, Masset C, Blancho G. Antibody Response to a Fourth Messenger RNA COVID-19 Vaccine Dose in Kidney Transplant Recipients: A Case Series. *Ann Intern Med*. 2022;175(3):455-6.
171. Udomkarnjananun S, Kerr SJ, Banjongjit A, Phonphok K, Larpparisuth N, Vongwiwatana A, et al. Outcomes of COVID-19 in kidney transplant recipients in the vaccination Era: A national multicenter cohort from Thailand. *Heliyon*. 2023;9(12):e22811.
172. Taheri S. Efficacy and safety of booster vaccination against SARS-CoV-2 in dialysis and renal transplant patients: systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol*. 2023;55(4):791-802.

7 Anhang

7.1 Fragebogen

Name, Vorname (oder Patientenpseudonym): _____

- LTX
- NTX
- Prob
- DIAL

Anzahl der bisher insgesamt erhaltenen Covid-Impfdosen (mind. 2x BioNtech): _____

Datum 1. Booster- Impfung: _____ Impfstoff: _____

Datum 2. Booster- Impfung: _____ Impfstoff: _____

Datum 3. Booster- Impfung: _____ Impfstoff: _____

1. Hatten Sie jemals nach einer Impfung Komplikationen, die ärztlich behandelt werden mussten?

- Nein
- Ja - wann? _____ - welche Impfung? _____

2. Hatten Sie jemals Kontakt (länger als 10 min ohne Mund-/ Nasenschutz) zu einer nachweislich mit SARS-CoV-2 infizierten Person?

- Nein
- Ja - wann? _____

3. Waren Sie in Quarantäne?

- Nein
- Ja - wann? _____

4. Wurden Sie selbst jemals positiv auf das SARS-CoV-2 Virus getestet?

- Nein
- Ja, positives Schnelltest Ergebnis am: _____
- Ja, positives PCR Testergebnis am: _____

Sind Sie klinisch krank geworden?

- Nein
- Ja, leicht
- Ja, mit stationärer Behandlung
- Ja, mit intensivmedizinischer Behandlung

5. Wie haben Sie sich vor Infektionen (insbesondere dem SARS- CoV2- Virus) geschützt?

-Mund-/Nasenschutz

- ausschließlich FFP2- Maske
- ausschließlich OP- Maske
- mal so, mal so

- Kontaktbeschränkungen

- Wieviele Personen leben in Ihrem Haushalt? _____

- Leben schulpflichtige Kinder in Ihrem Haushalt?

- Nein
- Ja

- Werden Sie durch Bekannte/ Verwandte/ Putz- oder Haushaltshilfen bei Alltagsaufgaben unterstützt?

- Nein
- Ja, im Alltag Zuhause
- Ja, Alltagsaufgaben im öffentlichen Raum (z.B. Einkaufen) werden für mich von anderen übernommen
- Ja: _____

- Haben Sie private Termine (z.B. Friseur, Fußpflege,...) wie üblich wahrgenommen?

- Nein, ich habe versucht sie zu meiden/ auf das Nötigste zu beschränken
- Ja

- Sonstiges: _____

6. Haben Sie wie gewohnt Besuch empfangen, Freunde und Familie getroffen?

- Nein
- Ja
- Ja, unter folgenden Sicherheitsmaßnahmen: (bitte ankreuzen)
 - Mund- und Nasenschutz
 - Im Freien
 - nur mit aktuellem Schnelltest
 - Sonstiges: _____

7. Haben Sie Ihre persönlichen Sicherheitsmaßnahmen gelockert, nachdem Sie vollständig geimpft waren? Wenn ja, welche?

- Nein
- Ja, _____

Article

The Cellular and Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 Messenger RNA Vaccines Is Significantly Better in Liver Transplant Patients Compared with Kidney Transplant Patients

Anja Lautem ^{1,*}, Simone Cosima Boedecker-Lips ², Elisa Schneider ¹, Stefan Runkel ³, Christina Feist ⁴, Hauke Lang ¹, Julia Weinmann-Menke ^{2,†} and Martina Koch ^{1,†}

¹ Department of General, Visceral and Transplantation Surgery, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg University, D 55131 Mainz, Germany; eschne02@students.uni-mainz.de (E.S.); hauke.lang@unimedizin-mainz.de (H.L.); martina.koch@unimedizin-mainz.de (M.K.)

² Department of Nephrology, I. Department of Medicine, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg University, D 55131 Mainz, Germany; simonecosima.boedecker-lips@unimedizin-mainz.de (S.C.B.-L.); julia.weinmann-menke@unimedizin-mainz.de (J.W.-M.)

³ Blood Transfusion Center, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg University, D 55131 Mainz, Germany; stefan.runkel@unimedizin-mainz.de

⁴ Department of Internal Medicine, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg University, D 55131 Mainz, Germany; christina.feist@unimedizin-mainz.de

* Correspondence: anja.lautem@unimedizin-mainz.de

† These authors contributed equally to this work.



Citation: Lautem, A.; Boedecker-Lips, S.C.; Schneider, E.; Runkel, S.; Feist, C.; Lang, H.; Weinmann-Menke, J.; Koch, M. The Cellular and Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 Messenger RNA Vaccines Is Significantly Better in Liver Transplant Patients Compared with Kidney Transplant Patients. *Pathogens* **2023**, *12*, 910. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070910>

Academic Editors: Franco Pandolfi and Qiang Liu

Received: 10 March 2023

Revised: 9 June 2023

Accepted: 30 June 2023

Published: 5 July 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Patients after organ transplantation have impaired immune response after vaccination against the SARS-CoV-2 virus. So far, published studies have reported quite different response rates to SARS-CoV-2 vaccination, ranging from 15–79% in liver and kidney transplant recipients. Up to one year after the first vaccine dose, we analyzed the humoral and cellular immune response of 21 liver transplant (LTX) patients after vaccination with mRNA vaccines compared with 28 kidney transplant (KTX) patients. We evaluated IgG against the SARS-CoV-2 spike protein as well as SARS-CoV-2 specific T cells using an ELISpot assay that detected IFN- γ - and/or IL-2-expressing T cells. We found a cellular and/or humoral immune response in 100% of the LTX patients compared with 68% of the KTX patients. Antibody titers against the spike protein of SARS-CoV-2 were significantly higher in the LTX group, and significantly more LTX patients had detectable specific IL-2-producing T cells. The immunosuppression applied in our LTX cohort was lower compared with the KTX cohort (14% triple therapy in LTX patients vs. 79% in KTX patients). One year after the first vaccination, breakthrough infections could be detected in 41% of all organ transplant patients. None of those patients suffered from a severe course of COVID-19 disease, indicating that a partial vaccination response seemed to offer protection to immunosuppressed patients. The better immune response of LTX patients after SARS-CoV-2 vaccination might be due to less intense immunosuppressive therapy compared with KTX patients.

Keywords: SARS-CoV-2; transplantation; immunosuppression; immune response; vaccination

1. Introduction

Solid organ transplantation (SOT) was regarded as a risk for severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) infections as immune responses might be impaired in immunosuppressed patients. Therefore, SOT patients were prioritized in Germany for SARS-CoV-2 vaccination and received vaccination with mRNA vaccines since spring 2021 [1]. Several reports suggest a reduced antibody response in patients after SOT after two doses of a SARS-CoV-2 specific mRNA vaccine [2–8]. Humoral response was observed in 15–57% of KTX and in 38–89% of LTX patients [4,9–15] after the second vaccination.

However, long-term vaccine-mediated immunity does not solely rely on a pronounced humoral response but also on the development of memory T cells [16,17]. SARS-CoV-2 antigen-specific T effector cell response in healthy individuals is well documented after vaccination [18]. The importance of the cellular immune response to vaccination has been demonstrated, as SARS-CoV-2 variants could escape the humoral but not the cellular response to vaccination [19]. However, data on T cell responses in the setting of immunosuppression suggest a reduced response, e.g., in interferon- γ (IFN- γ) release assays in SOT patients [6,20]. In those studies, 30–51% of all KTX patients examined showed cellular immune responses to a SARS-CoV-2-specific mRNA vaccine [21,22]. As has been shown in KTX patients, LTX patients might also develop a weaker immune response to SARS-CoV-2 vaccination [11,23]. Therefore, a substantial proportion of transplant recipients are likely to remain at risk for COVID-19 after two vaccine doses [7]. Moreover, as the occurrence of severe breakthrough infection after vaccination had been rarely reported in KTX patients [24], a third mRNA vaccine dose was recommended early in autumn 2021 [25]. The booster vaccination in SOT patients clearly improved SARS-CoV-2 specific antibody expression in SOT [26–28].

Nevertheless, the question of how long vaccine protection against breakthrough infections lasts in SOT patients and in the general population remains of interest, especially regarding the possible immune escape capacities of new virus variants. The waning of the antibody response and cellular immunity over time has already been demonstrated for the general population [29] as well as for KTX patients [30].

It is most likely that different immunosuppressive regimens have an impact on the immune response in SOT patients, and liver transplant (LTX) patients usually receive less immunosuppression compared with kidney or thoracic transplant patients. Data exist that show that LTX patients with mycophenolate mofetil (MMF) had an increased risk for humoral nonresponse after SARS-CoV-2 vaccination [10,23]. Other data have shown that vaccination failure was less likely with calcineurin inhibitor monotherapy than with other immunosuppressive regimens [11]. In our center, all KTX patients usually received induction therapy with basiliximab followed by triple immunosuppressive therapy consisting of a calcineurin inhibitor (CNI) (tacrolimus (Tac)/cyclosporine A (CyA)), an antiproliferative drug (mycophenolic mofetil (MMF) or everolimus (Eve)), and steroids. Induction therapy is not standard in LTX in our center and most patients are treated with a dual immunosuppressive regimen.

The aim of our study was to elucidate whether the immune response to SARS-CoV-2 mRNA vaccines in LTX patients might be more favorable than the unsatisfactory results in KTX patients. In this prospective study, we present the results of the humoral and cellular immune response in kidney and liver transplant patients after two vaccine doses of BNT162b2 (Comirnaty[®], Pfizer/BioNTech, New York, NY, USA/Mainz, Germany). The long follow-up period of one year after the first vaccination enabled us to observe the persistence of the humoral and cellular vaccination response as well as the influence of booster vaccinations, and how SOT patients coped with SARS-CoV-2 infection despite full vaccination.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

The study was initiated to investigate the SARS-CoV-2 specific humoral and cellular vaccination response in liver and kidney transplant recipients in comparison to a healthy control group. The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association. The study protocol was approved by the local ethics committee of the University Medical Center Mainz, Rhineland Palatine, Germany (Approval No. 2021-15786). All participants gave informed written consent.

The patients were recruited from the transplant program of the University Medical Center Mainz between February 2021 and July 2022. All patients were initially vaccinated twice with BNT162b2 (Comirnaty[®], Pfizer/BioNTech, Mainz, Germany) within an interval

of four weeks. Blood samples were taken 3–4 weeks after the first (BW1) and the second (BW2) vaccination dose as well as 5–7 months (BW3) and 10–14 months (BW4) after the first vaccination. During the study, further booster vaccinations were recommended and the patients received further vaccine doses of the mRNA vaccines BNT162b (Comirnaty[®], Pfizer/Biontech, Mainz, Germany) or mRNA-1273 (Spikevax[®], Moderna, Cambridge, MA, USA) or AZD1222 (Vaxzevria[®], AstraZeneca, Oxford University, Great Britain), as indicated in the study flow chart (Figure 1). In total, 3 out of 21 LTX patients received a 3rd vaccine dose before BW3 as well as 4 out of 28 KTX patients. None of the participants included had a previous SARS-CoV-2 infection, which was excluded by the determination of antibodies against the nucleocapsid protein of the SARS-CoV-2 virus.

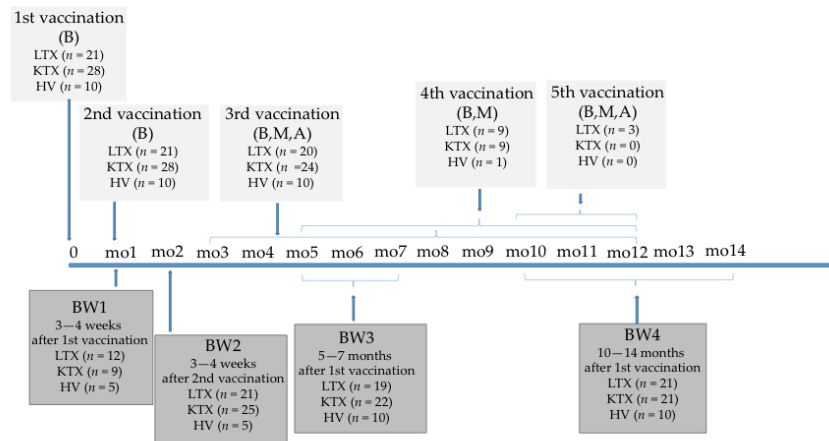


Figure 1. Study flow chart. Shown is the study design with the vaccination times and the measurement times of the humoral and cellular vaccination response. The number of patients examined at each time point (BW1–BW4) is indicated. It is also shown how many and in which period after the first vaccination study participants received further booster vaccinations. BW: blood withdrawal; mo: month; LTX: liver transplant patients; KTX: kidney transplant patients, HV: healthy volunteer; B: Biontech/Pfizer vaccine BNT162b2 (Comirnaty[®]); M: Moderna vaccine mRNA-1273 (Spikevax[®]); A: AstraZeneca vaccine AZD1222 (Vaxzevria[®]).

2.2. Isolation of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs)

PBMCs were freshly isolated from 20 mL heparinized blood by density gradient centrifugation using Pancoll human solution (PAN-Biotech GmbH, Aidenbach, Germany). First, the blood was diluted to half volume with phosphate-buffered saline (PBS). This mixture was pipetted gently onto the Pancoll solution using half the volume of the PBS-diluted blood solution. The gradient was immediately centrifuged for 30 min with $100\times g$ without a break. The plasma was discarded and the mononuclear cell layer was transferred into a new 50 mL tube, washed twice with PBS and finally once with AIM-V medium (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) for 10 min at $700\times g$, respectively. Then, cells were counted and adjusted to a concentration of 2×10^6 cells/mL in AIM-V medium.

2.3. ELISpot Assay

To detect SARS-CoV-2-specific T cells, we performed an IFN- γ /IL-2-ELISpot assay using the CoV-iSpot Interferon- γ + Interleukin-2 assay in strip format from AID Autoimmun Diagnostika GmbH (AID), Straßberg, Germany. Briefly, each strip of the 96-well plate was precoated with a mononuclear antibody against the cytokines interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-2 (IL-2). A total of 100 μ L of AIM-V medium (negative control), pokeweed mitogen (PWM) (positive control), or SARS-CoV-2 antigen solution was added in duplicate

to the respective wells. The PBMC cell suspension (2×10^6 cells/mL) was mixed with anti-human CD28 antibody (1:1000), and 100 μ L of the prepared cell suspension was added to each well. The plate was incubated for 20–24 h at 37 °C and 5% CO₂. After the cells had been removed and washing steps had been applied, a biotin-conjugated antibody against IL-2 together with a FITC-labeled antibody against IFN- γ was added. After two hours of incubation and further washing steps, streptavidin RED-Cy3 and anti-FITC green were added for one hour. After further washing steps, a proprietary enhancer solution was finally added and poured off after an incubation of 15 min. The plate was dried overnight and protected from light. Spot enumeration was performed with the AID iSpot Reader System (AID Autoimmun Diagnostika GmbH, Straßberg, Germany). For interpretation of the results, a stimulation index (SI) was used. Then, the mean number of spots in the antigen-containing well was divided by the mean number of spots in the negative control. Stimulated spot numbers > 7-fold higher (if the negative control was 0–1 spot) or >3-fold higher (if the negative control was 2–10 spots) than the negative control, were considered positive. Either a positive IFN- γ or a positive IL-2 result was considered indicative of a T-cell-specific immune response to vaccination.

2.4. Detection of SARS-CoV-2 Specific Antibodies

A qualitative chemiluminescence microparticle assay was used for detection of IgG antibodies against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (Architect SARS-CoV-2 IgG, Abbott GmbH, Wiesbaden, Germany) to detect previously unknown infection.

Quantitative IgG antibodies against the receptor-binding domain (RBD) of the SARS-CoV-2 spike protein were measured by chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA) (Architect SARS-CoV-2-IgG II Quant, Abbott GmbH, Wiesbaden, Germany) to detect vaccination response. A serological response was considered to be present at a titer >50 AU/mL, the threshold specified by the manufacturer.

2.5. Statistics

Data management and all statistical analyses were performed with the SPSS program (version 29.0.0.0; IBM Corp., Armonk, NY, USA). Patients' characteristics and demographic data were displayed as mean and standard deviation (SD), if they were normally distributed and sample sizes were found to be sufficient. Non-normally distributed continuous variables were expressed as median and range, and categorical variables as number of patients and percentage. Between-group differences were analyzed by the Pearson χ^2 test or the Fisher's exact test, if test assumptions were not fulfilled. Normally distributed continuous data were compared using the paired *t* test, abnormally distributed data were compared by the Mann–Whitney *U* test. Differences of dependent variables were evaluated by the Wilcoxon rank sum nonparametric test. A *p* value below 0.05 was considered to indicate statistical significance.

3. Results

3.1. Patients' Characteristics

In total, 49 SOT patients were included in our prospective study; 21 patients had a previous liver transplantation (LTX) and 28 patients had a kidney transplantation (KTX). Ten healthy volunteers (HV) served as a control group. In order to preclude prior exposure to SARS-CoV-2 virus, only participants with negative serology to SARS-CoV-2 nucleocapsid were included. All subjects received a SARS-CoV-2 vaccination with the BNT162b2 vaccine (Comirnaty[®], BionTech/Pfizer) with an interval of 4 weeks between the first and the second dose. None of the patients reported severe side effects from the vaccination. Patients' characteristics and demographic data are shown in Table 1.

Table 1. Patients' characteristics and demographic data.

	LTX (n = 21)	KTX (n = 28)	Control (n = 10)
Gender (male/female)	10/11	19/9 *	4/6
Age at first vaccination, years median (IQR 25–75)	59 (53–67)	54 (37–61) *	54 (43–58)
Years since transplantation median (IQR 25–75)	4 (1.5–11)	3 (1–11)	
Immunosuppression regimen, n (%)			
triple therapy	3 (14.0)	25 (89.0)	
Tac ¹ , MMF ² , prednisone	2	17	
CyA ³ , MMF, prednisone	0	1	
Tac, mTORinhibitor, prednisone	1	6	
mTORinhibitor, MMF, prednisone	0	1	
dual therapy	9 (43.0)	3 (11.0)	
Tac, MMF	3	1	
Tac, mTOR inhibitor	4	0	
CyA, MMF	1	0	
CyA, prednisone	0	1	
mTOR inhibitor, MMF	1	0	
mTOR inhibitor, prednisone	0	1	
mono therapy	9 (43.0)	0 (0.0)	
Tac	7	0	
CyA	2	0	

¹ Tac: tacrolimus; ² MMF: mycophenolic mofetil; ³ CyA: cyclosporine A. * age and gender differences between LTX and KTX group were not statistically different.

We included 21 LTX patients, and the LTX group were compared with 28 KTX patients. The median age of the control group was comparable in both patient groups. Regarding the median, LTX patients had received transplants 4 years ago and KTX patients 3 years ago. Most LTX patients (86%) had received mono or dual maintenance immunosuppressive therapy, while most kidney patients (89%) received triple drug therapy. The ten healthy volunteers did not receive immunosuppressive medication.

None of the patients or controls acquired a SARS-CoV2 infection during the first six months of the study, up to November 2021.

3.2. SARS-CoV-2 Antigen-Specific Cellular Immune Response after Vaccination

To consider the SARS-CoV-2-specific immune response of LTX and KTX patients after vaccination, IFN- γ - and IL-2-producing T cells were analyzed via an ELISpot assay. The percentage of detectable IFN- γ - and IL-2-producing T cells in KTX and LTX patients, as well as in healthy controls, is shown in Figure 2.

After the first vaccination (mean 27 days (range 19 to 34 days) T-cell activity against SARS-CoV-2 was detectable but low. All of the patients were negative for INF- γ -reactive cells. Results showed that 2 out of 11 LTX samples (18%) were positive for IL-2-producing T-cells whereas 1 out of 9 KTX samples (11%) was positive for IL-2-producing T-cells. Of the healthy controls, all samples were positive for IL-2-producing T-cells and two out of five (40%) additionally for INF- γ . A markedly higher abundance of reactive T cells could be shown in healthy controls compared with LTX and KTX patients.

After the second vaccination (mean 29 days (range 19 to 62 days)), an obvious increase in the SARS-CoV-2 antigen-specific cellular response was found in LTX and KTX patients. It was found that 17/20 LTX patients (85%) were rated positive for IL-2-producing T-cells and 9 of these patients showed additional IFN- γ production (45%).

In comparison, in the KTX group only 14/25 patients (56%) had an IL-2 T-cell response. Of those patients, 11/25 (44%) had an additional IFN- γ response. After the second vaccine dose, all control samples were positive for IFN- γ - and IL-2-producing T cells.

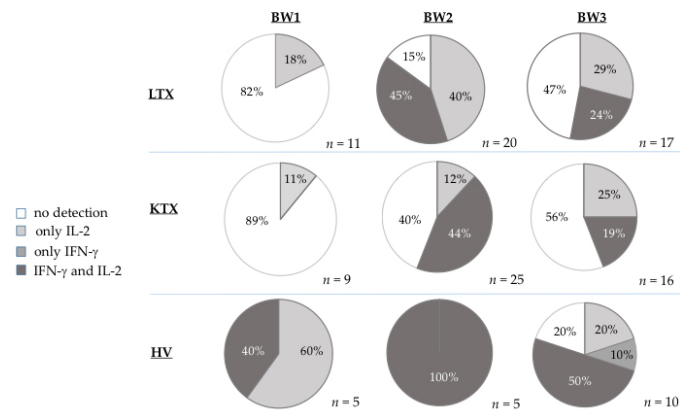


Figure 2. SARS-CoV-2 antigen-specific cellular response after two doses of BNT162b2 vaccine. The cellular vaccination response was measured by IL-2 and/or IFN- γ producing cells in each of the study groups four weeks after the first vaccination (BW1), four weeks after the second vaccination (BW2), and six months after the first vaccination (BW3) and is indicated as percentage of only IL-2, only IFN- γ , or IL-2- and IFN- γ -producing T cells.

Six months after the first vaccination (mean 177 days (range 116–206 days)), the SARS-CoV-2-specific cellular response was markedly reduced but still detectable (Figure 3). IL-2-producing cells were detectable in 9/17 LTX samples (53%), 7/16 KTX samples (44%), and 7/10 control samples (70%) but considerably reduced in all participant groups compared with BW2 (Figure 2).

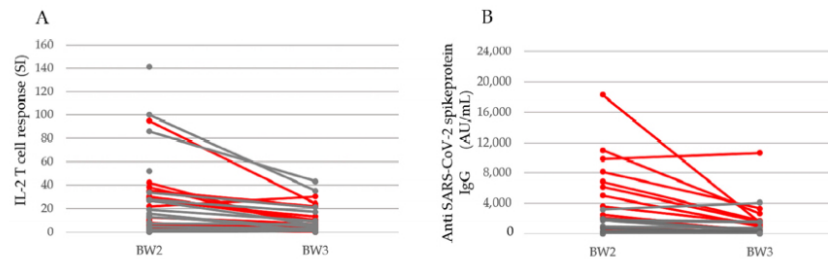


Figure 3. Waning of the cellular immune response in SOT patients between 4 weeks after the second vaccine dose (BW2) and 6 months following the first vaccine dose (BW3). For all solid organ transplant recipients, the stimulation index (SI) of IL-2-producing T cells (A) and antibody titers against the SARS-CoV-2 spike protein (AU/mL) (B) are indicated. The red lines represent the LTX patients, the grey lines the KTX patients.

Only 4/17 (24%) LTX patients and 3/16 KTX (19%) still had detectable IFN- γ -producing T cells at BW3, while these cells were found in 6/10 (60%) healthy controls.

In comparison to the KTX group, a higher number of reactive T cells could be detected in the LTX group, especially four weeks after the second vaccination.

3.3. Humoral Immune Response after Vaccination with BNT162b2

After the first vaccination, most patients did not have SARS-CoV-2 IgG antibodies against the S-protein detectable above 50 AU/mL. Only 3/12 available samples from LTX patients (25%) had an IgG titer above 50 AU/mL, as well as 4/26 KTX samples (15%) (Figure 4). The titers were low, in a range from 56.3 to 112.4 AU/mL. The healthy control

group had elevated IgG antibody levels against the S-protein, in a range from 410 to 1637 AU/mL (Figure 4).

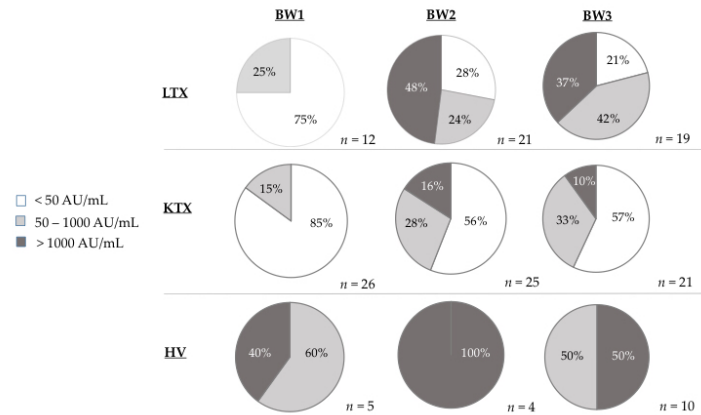


Figure 4. SARS-CoV-2 antigen humoral response after two doses of BNT162b2 vaccine. The humoral vaccination response was measured by IgG antibodies against the RBD of the SARS-CoV-2 spike protein four weeks after the first vaccination (BW1), four weeks after the second vaccination (BW2), and six months after the first vaccination (BW3) in each study group. Vaccination response was divided into groups of titer <50 AU/mL (negative), 50–1000 AU/mL (low/moderate), and >1000 AU/mL (high) and indicated as percentages.

After the second vaccination, 15/21 LTX patients (72%) developed IgG detectable against SARS-CoV-2 S-protein, all with titers above 100 AU/mL (median: 3603 AU/mL; range: 142–18273 AU/mL). Only 11/25 KTX samples (44%) had antibodies >50 AU/mL against SARS-CoV-2 spike protein (median 688 AU/mL; range: 64–3156 AU/mL). Antibody titers against SARS-CoV-2 S-protein were markedly higher in LTX vs. KTX patients (Figure 4). All control samples contained antibodies against the SARS-CoV-2 S-protein >1000 AU/mL (median: 5913 AU/mL; range: 2049–23717 AU/mL).

Six months after the first vaccination, antibodies against the S-protein were still detectable in 15/19 LTX patients (79%) with an AU/mL >100 (median 937 AU/mL; range: 146–10629 AU/mL). Four patients (21%) had IgG titers between 0 and 41 AU/mL. Median antibody titers of seropositive LTX patients significantly decreased from BW2 (four weeks after the second vaccination) to BW3 (six months after the first vaccination) from 3603 AU/mL to 937 AU/mL (Figure 3B). Only 9/21 available KTX patients (43%) had antibodies against the S-protein >50 AU/mL (median: 317.1 AU/mL; range 73.5–4043.7 AU/mL). In 12 patients (57%), no antibodies (<50 AU/mL) were detectable. As was shown for the LTX group, antibody titers of the KTX patients decreased from BW2 (four weeks after the second vaccination) to BW3 (six months after the first vaccination) from 688 AU/mL to 317.1 AU/mL.

In the healthy control group, all 10 samples revealed IgG against the S-protein of the SARS-CoV-2 virus (median 1122 AU/mL; range 535 and 2522 AU/mL) six months after the first vaccine dose. The antibody titers against SARS-CoV-2 were lower in KTX patients compared with LTX patients and the healthy controls. Median antibody titers also decreased in the healthy control group from BW2 to BW3, from 5913 AU/mL to 949 AU/mL.

Taking humoral and cellular immune response together, all LTX patients showed a SARS-CoV-2-specific immune response after the second vaccination (Table 2), and 60% of LTX patients had both a detectable cellular and humoral immune response. Although 25% of the LTX patients had antibody titers below 45 AU/mL, these patients showed

detectable specific cellular immune responses. Furthermore, 15% of the LTX patients did not show a cellular response but had detectable antibody levels above 50 AU/mL. After KTX, only 32% had both a cellular and humoral immune response detectable. In 32% of the KTX patients, no immune response to the second vaccination was detectable. All healthy controls tested showed humoral and cellular response to SARS-CoV-2 four weeks after the second vaccination.

Table 2. Measurements of SARS-CoV-2 antigen-specific humoral and cellular response. Shown is the humoral and cellular vaccination response, measured by anti SARS-CoV-2 specific antibodies against the spike protein and by IL-2- and/or IFN- γ -producing cells four weeks after the first vaccination (BW1), four weeks after the second vaccination (BW2), and six months after the first vaccination (BW3).

		BW1	BW2	BW3
LTX	Neither T-cell nor IgG response, <i>n</i> (%)	6/11 (55%)	0/20 (0%)	2/18 (11%)
	T-cell response only, <i>n</i> (%)	2/11 (18%)	5/20 (25%)	1/18 (6%)
	IgG response only, <i>n</i> (%)	3/11 (27%)	3/20 (15%)	7/18 (39%)
	IgG and T-cell response, <i>n</i> (%)	0/11 (0%)	12/20 (60%)	8/18 (44%)
KTX	Neither T-cell nor IgG response, <i>n</i> (%)	8/9 (89%)	8/25 (32%)	6/16 (37%)
	T-cell response only, <i>n</i> (%)	1/9 (11%)	6/25 (24%)	2/16 (13%)
	IgG response only, <i>n</i> (%)	0/9 (0%)	3/25 (12%)	3/16 (19%)
	IgG and T-cell response, <i>n</i> (%)	0/9 (0%)	8/25 (32%)	5/16 (31%)
HV	Neither T-cell nor IgG response, <i>n</i> (%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/10 (0%)
	T-cell response only, <i>n</i> (%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
	IgG response only, <i>n</i> (%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	2/10 (20%)
	IgG and T-cell response, <i>n</i> (%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	8/10 (80%)

In most patients with an immune response four weeks after second vaccination (BW2), IL-2-secreting cells and/or S-protein-specific antibodies could still be detected after 6 months (BW3), although in a lower manner. The decrease in the immune response was most striking concerning the LTX patient group (Figure 3).

3.4. Immunosuppression and Immune Response

In the LTX group, all five patients with no antibody response four weeks after the second vaccination were on dual immunosuppression (Tac/MMF (*n* = 2), CyA/MMF (*n* = 1), Eve/MMF (*n* = 1)); one patient received mono immunosuppression with Tac. However, all those patients who did not show humoral response had detectable levels of SARS-CoV-2-specific T cells. Nevertheless, four weeks after the second vaccination, all LTX patients showed at least either humoral or cellular immune response independent of the immunosuppressive regimen.

KTX patients were treated more frequently with a triple immunosuppression regimen than LTX patients. All eight KTX patients without T- or B-cell response four weeks after the second vaccination received triple immunosuppression (Tac/Eve/steroids (*n* = 4), Tac/MMF/steroids (*n* = 3), and Eve/MMF/steroids (*n* = 1)).

3.5. SARS-CoV-2 Specific Immune Response One Year after the First Vaccine Dose

As many patients showed a rapid decline of humoral as well as the cellular immune response six months after the first vaccine dose (Figure 3), further booster vaccinations were recommended. Regarding the LTX patients, 20 out of 21 patients received a 3rd dose (95%), 9 a 4th dose (43%), and 3 a 5th dose (14%) of an mRNA vaccine or, in a single case, of the adenoviral vaccine AZD1222 (Vaxzevria[®], AstraZeneca, Oxford University) at BW4 (1 year after the 1st vaccine dose) (Figure 1). In total, 24 out of 28 KTX patients received a 3rd dose (86%) and 9 a 4th dose (32%) of an mRNA vaccine. None of the patients reported severe side effects from the vaccination.

The humoral and cellular Immune responses were examined one year after the first vaccine dose (BW4). Moreover, one year after the first vaccination, all transplanted patients and healthy volunteers filled out a questionnaire in which they were asked whether they

had experienced a proven SARS-CoV-2 virus infection. Due to anti-spike protein antibody titers beyond 40,000 AU/mL as well as anti-SARS-CoV-2 nucleocapsid-specific IgG, IgM, or IgG/IgM/IgA titers, further patients and healthy volunteers were detected that had had an asymptomatic infection. All patients and healthy volunteers developed a significant SARS-CoV-2 specific antibody response after infection.

Altogether, 7 out of 21 LTX patients (33%), 9 out of 28 KTX patients (32%), and 3 out of 10 healthy volunteers (30%) had a SARS-CoV-2 infection despite full vaccination. Five out of seven infected LTX patients and one out of ten healthy volunteers were asymptomatic and did not realize that they had a SARS-CoV-2 infection. All nine infected KTX patients showed mild symptoms of COVID-19 disease. In summary, 16 out of 39 transplant patients were infected with SARS-CoV-2 virus (41%) despite full vaccination.

Although, all infected patients were vaccinated three times ($n = 10$), four times ($n = 5$) or five times ($n = 1$), not all of them developed a full immune response (SARS-CoV-2 specific T cells and antibodies) after vaccination and before infection. Namely, 3/7 patients (43%) in the LTX group and 1/9 in the KTX group (11%) did not show SARS-CoV-2 specific T cells, 1/7 in the LTX group (14%) and 2/9 patients in the KTX group (22%) did not develop neither T cells or antibodies. One patient in the KTX group did not develop antibodies before infection. All infected healthy volunteers had a T-cell response as well as antibodies before infection.

Nevertheless, all transplant patients and all healthy volunteers had mild or asymptomatic courses of COVID-19 disease. None of the patients were hospitalized and none needed ventilation with oxygen or treatment with extracorporeal membrane oxygenation (ECMO).

4. Discussion

In our study, we analyzed not only the humoral but also the cellular immune response of LTX and KTX patients in comparison to a healthy control group. Therefore, we used an ELISpot assay displaying not only IFN- γ but also IL-2-producing SARS-CoV-2-specific T cells. We observed a lower humoral and cellular response in KTX compared with LTX patients, which might be due to a higher degree of immunosuppression in KTX patients. After the first vaccine dose, we observed a poor immune response in SOT patients in terms of the antibody (LTX 25%; KTX 15%) as well as the cellular response (LTX 18%; KTX 11%). The situation changed after the second vaccination. Then, we detected an IL-2 response in 85% of the LTX patients and in 56% of our KTX patients. An IFN- γ response could only be detected in 45% of the LTX and in 44% of the KTX patients. It is of interest that IL-2-producing T cells were more common than IFN- γ -producing cells in our patients after vaccination, since Fava et al. [31] showed that a higher number of IL-2-producing T cells after SARS-CoV-2 infection correlates with a better clinical outcome. Most of the IFN- γ -producing T cells in our patients also secreted IL-2, but we also detected several IL-2-producing T cells without IFN- γ production and we could not detect T cells that secreted IFN- γ but no IL-2. The detected T cells might contribute to a long-lasting immune response.

Several studies on the immune response to SARS-CoV-2 vaccination after solid organ transplantation are available showing a deprived humoral and cellular immune response. Our data are in accordance with data from Boyarsky et al. [32] and Benotmane et al. [33] who have already shown that after the first vaccination no adequate response can be expected in immunosuppressed patients. Most published studies predominantly include kidney transplant patients [6–8,20,34,35], but also thoracic transplant patients [5] and liver transplant patients [4,36]. Most data focus on the examination of the antibody response to SARS-CoV-2 vaccination [3,4,9,10]. Although it has been suggested that T-cell immunity plays an important role after SARS-CoV-2 infection [17,19], the investigation of the cellular immune response is rather scarce and is often limited to the measurement of IFN- γ -producing T cells [11]. Our results demonstrate a much better outcome in terms of SARS-CoV-2 spike protein-specific T-cell response than other data that solely measured IFN- γ -producing T cells to characterize the immune response to vaccination [11].

Furthermore, we were able to demonstrate a significant difference in antibody response between LTX and KTX patients after the second vaccination. While the majority of the LTX patients (72%) had antibody titers after the second vaccination, only 44% of the KTX patients had an antibody response >50 AU/mL against the SARS-CoV-2 spike protein, which is in accordance with previously published data [6,32]. Also, significantly higher antibody levels were found in our study for LTX patients compared with KTX patients. We would like to point out that almost three quarters of the LTX patients developed antibody titers above 1000 AU/mL. Furthermore, 56% of all KTX patients did not show seroconversion, but 24% of those patients without antibody response had detectable specific T cells. This phenomenon was even more pronounced in the LTX group; 38% of the LTX patients did not show antibodies after the second vaccination but all of them revealed specific T cells. All the LTX patients in this study revealed some kind of immune response; all of them showed at least antibody or T-cell response if not both. The immune response of our KTX cohort was lower, as 32% did not show any response to the second vaccination. These findings give an optimistic outlook on the outcome of SARS-CoV-2 vaccination, especially for LTX patients. Our data reveal that vaccinated transplant patients under immunosuppression might have more protection against severe courses of COVID-19 disease than they were initially supposed to have. This is in accordance with the clinical courses of our patients, showing no severe COVID-19 disease in transplant patients.

In our study, because of the long-term follow-up of one year after the first vaccine dose, we were able to regard the persistence of the immune response over a long time period. Moreover, we could observe the clinical outcomes after breakthrough infections. Six months after the first vaccination, we detected reduced humoral response and less T-cell response compared with the second blood withdrawal four weeks after the second vaccination. Our findings are in accordance with the studies by Bertrand et al. [30] who also showed the waning of humoral and cellular immune response at a later time point, namely, six months after the third dose of BNT162b2 vaccine. A study by Goldberg et al. [29] also indicated that immunity against SARS-CoV-2 waned a few months after receipt of the second vaccine dose. Due to the reduced cellular and humoral immune response detected after six months both in patients and healthy volunteers, booster vaccinations were recommended as early as three months after the second vaccination [37]. Hence, our study patients received quite different booster vaccination regimens concerning the number of booster vaccinations and the applied type of mRNA vaccine, leading to cross-vaccination in many cases. Because of the relatively small patient numbers in our cohort, we could not draw any conclusion concerning the influence of booster or cross-vaccinations on the SARS-CoV-2 specific immune response. However, it was evident that patients that did not develop any immune response after the second vaccination generally did not even show seroconversion or specific T cells after the third vaccination, independently of the applied booster vaccine. Data from case series support this and seem to indicate that there might still be no better or only slightly better seroconversion after a fourth compared to a third vaccination [38,39].

Nevertheless, we assume that the high rate of IL-2-producing cells detectable in our patients after the second vaccination (LTX 85%; KTX 56%) and even after six months (LTX 53%; KTX 44%) might be good news, especially for LTX patients, since the immune response to vaccination might be underestimated when looking only at antibody expression or IFN- γ -producing T cells.

The different immune response of LTX and KTX patients is most likely to be explained by the difference in immunosuppressive regimens. As the liver shows higher immune tolerance after transplantation, a lower dosage of immunosuppression is needed compared with other transplanted organs such as the kidney. It has been shown that MMF and triple drug immunosuppression are risk factors for an inferior immune response to SARS-CoV-2 vaccination [4]. While 25 out of 28 KTX patients received standard triple drug therapy consisting of CNI, steroids, and an anti-proliferative drug, only 3 of 21 LTX patients received triple drug therapy. Due to the low numbers of patients and several different drug

combinations included, we cannot draw conclusions about the effects of specific drugs. The result that four of six patients vaccinated within the first year after kidney transplantation developed neither T-cell nor humoral immune response leads to the assumption that the total burden of immunosuppression negatively influences the immune response. This is an expected result, since other vaccines also show an inferior immune response within the first year post transplantation [40]. The different immunosuppressive regimen together with the later time point of blood sampling in the study by Rabinowich et al. [4] (mean 31 days after the second vaccination compared with 10–20 in the study by Rabinowich et al.) might explain the clearly higher immune reactivity in our LTX patients. The difference in the response rates to SARS-CoV-2 vaccination in addition to the immunosuppressive regimen was also reported to be dependent on age or time after transplantation [4,7,9]. In comparison to other studies [4,9,13] where the mean age of transplant patients was >60 years, our cohort was younger, as the mean age of our LTX patients was 57 years and that of the KTX patients was 50 years.

Although it is not clear whether the T-cell and/or antibody response correlates with protection against severe SARS-CoV-2 infection, our data provide evidence that the effect of two doses of SARS-CoV-2 mRNA vaccine BNT163b2 after liver transplantation is more effective than vaccination after kidney transplantation. However, until now, no antibody or specific T-cell threshold has been established for protective immunity. The high amount of IL-2 as well as IL-2/IFN- γ -producing T cells detected in LTX patients may lead to the assumption that these patients might have adequate long-term protection against severe SARS-CoV-2 infections. Although we included only a small number of patients in our study, it is encouraging that none of the studies' patients developed a SARS-CoV-2 infection in the first six months after initial vaccination. It remains a matter of debate whether this was due to the vaccination alone or also to the high hygienic standards applied to transplant patients. According to the current knowledge, it should be remembered that the aim of the vaccine is not that the patient does not acquire the infection but that it prevents patients from progressing and developing respiratory failure.

In our cohort, in 16 of 39 SOT patients a breakthrough infection was determined at the fourth blood withdrawal one year after the first vaccination (BW4). Seven patients with breakthrough infections did not show a cellular immune response before infection, four did not have detectable antibodies, and three developed neither T cells nor antibodies six months after the first vaccination independent of further booster vaccinations. Thus, 86% of the LTX and 89% of the KTX patients with breakthrough infection showed either no immune response or an incomplete immune response with a lack of antibody response in the presence of T cells or, vice versa, with a lack of T cells in the presence of seroconversion. Interestingly, the breakthrough infections with SARS-CoV-2 virus occurred in LTX and KTX study patients between six (BW3) and twelve months (BW4) after the first vaccination despite further booster vaccinations. This could most probably be explained by the upcoming new virus variants BA.4 and BA.5 in this period that revealed higher immune escape capability and the minor immune response in transplant patients. Nevertheless, none of these patients with breakthrough infections suffered from severe COVID-19 disease. Beyond that, five of seven LTX patients had an unknown and asymptomatic infection. This might be due to infection with less aggressive virus variants, but it could also provide evidence that even immunosuppressed patients were sufficiently protected from at least severe SARS-CoV-2 infection even though they might develop an incomplete immune response to vaccination.

The limitations of our work include the rather small cohort of only 39 LTX and KTX patients, but the rather long examination period of one year post vaccination enabled us to examine the persistence of the immune response over a long follow-up time in transplant patients and to observe how immunosuppressed patients cope with SARS-CoV-2 breakthrough infections.

5. Conclusions

LTX patients developed a better immune response after vaccination with BNT162b2 than KTX patients, which might be due to different immunosuppressive therapy. LTX and KTX patients seemed to be sufficiently protected against severe COVID-19 by vaccination with mRNA vaccines, as none of the patients developed respiratory failure after SARS-CoV-2 infection.

Author Contributions: Conceptualization: A.L., J.W.-M. and M.K.; methodology: A.L., E.S. and S.R.; investigation: A.L., S.C.B.-L., E.S. and C.F.; writing—original draft preparation: A.L.; writing—review and editing: A.L., M.K., S.R. and J.W.-M.; visualization: A.L.; supervision, M.K. and J.W.-M.; and H.L.; project administration, M.K. and J.W.-M.; funding acquisition, S.C.B.-L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by EUR 10,000 from the research award of the Deutsche Transplantationsgesellschaft (DTG) conferred to Simone Cosima Boedecker in 2021.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the University Medical Center Mainz, Germany, of the medical association of the state of Rhineland Palatinate, Germany (approval No. 2021-15786).

Informed Consent Statement: All subjects gave their informed consent.

Data Availability Statement: All data are provided by the corresponding author.

Acknowledgments: The authors would like to thank the Nierenzentrum am Brand (Dres. Westphalen, Sollinger, Sajthy) for their outstanding cooperation and support. Furthermore, we would like to thank the study office of the Department of Nephrology, I. Department of Medicine (Carina Krieger and Anne Schreiber), and the transplantation ambulance office (Martina Großmann and Astrid Zillich) of the Department of General, Visceral and Transplantation Surgery of the University Medical Center of the Johannes Gutenberg University Mainz, Germany.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Disclosure: Parts of this study are part of the medical thesis of Elisa Schneider.

References

1. Comberg, M.; Buti, M.; Eberhardt, C.S.; Grossi, P.A.; Shouval, D. EASL position paper on the use of COVID-19 vaccines in patients with chronic liver diseases, hepatobiliary cancer and liver transplant recipients. *J. Hepatol.* **2021**, *74*, 944–951. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Grupper, A.; Katchman, H. Reduced humoral response to mRNA SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine in kidney transplant recipients without prior exposure to the virus: Not alarming, but should be taken gravely. *Am. J. Transplant.* **2021**, *21*, 2909. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Benotmane, I.; Gautier-Vargas, G.; Cognard, N.; Olagne, J.; Heibel, F.; Braun-Parvez, L.; Martzloff, J.; Perrin, P.; Moulin, B.; Fafi-Kremer, S.; et al. Low immunization rates among kidney transplant recipients who received 2 doses of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *Kidney Int.* **2021**, *99*, 1498–1500. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Rabinowich, L.; Grupper, A.; Baruch, R.; Ben-Yehoyada, M.; Halperin, T.; Turner, D.; Katchman, E.; Levi, S.; Houry, I.; Lubezky, N.; et al. Low immunogenicity to SARS-CoV-2 vaccination among liver transplant recipients. *J. Hepatol.* **2021**, *75*, 435–438. [[CrossRef](#)]
5. Schramm, R.; Costard-Jackle, A.; Rivinius, R.; Fischer, B.; Muller, B.; Boeken, U.; Haneya, A.; Provaznik, Z.; Knabbe, C.; Gummert, J. Poor humoral and T-cell response to two-dose SARS-CoV-2 messenger RNA vaccine BNT162b2 in cardiothoracic transplant recipients. *Clin. Res. Cardiol.* **2021**, *110*, 1142–1149. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Stumpf, J.; Siepmann, T.; Lindner, T.; Karger, C.; Schwobel, J.; Anders, L.; Faulhaber-Walter, R.; Schewe, J.; Martin, H.; Schirutschke, H.; et al. Humoral and cellular immunity to SARS-CoV-2 vaccination in renal transplant versus dialysis patients: A prospective, multicenter observational study using mRNA-1273 or BNT162b2 mRNA vaccine. *Lancet Reg. Health Eur.* **2021**, *9*, 100178. [[CrossRef](#)]
7. Boyarsky, B.J.; Werbel, W.A.; Avery, R.K.; Tobian, A.A.R.; Massie, A.B.; Segev, D.L.; Garonzik-Wang, J.M. Antibody Response to 2-Dose SARS-CoV-2 mRNA Vaccine Series in Solid Organ Transplant Recipients. *JAMA* **2021**, *325*, 2204–2206. [[CrossRef](#)]
8. Boedecker, S.C.; Klimpke, P.; Kraus, D.; Runkel, S.; Galle, P.R.; Koch, M.; Weinmann-Menke, J. COVID-19-Importance for Patients on the Waiting List and after Kidney Transplantation—A Single Center Evaluation in 2020–2021. *Pathogens* **2021**, *10*, 429. [[CrossRef](#)]
9. Guarino, M.; Cossiga, V.; Esposito, I.; Furno, A.; Morisco, F. Effectiveness of SARS-CoV-2 vaccination in liver transplanted patients: The debate is open! *J. Hepatol.* **2022**, *76*, 237–239. [[CrossRef](#)]

10. Rashidi-Alavijeh, J.; Frey, A.; Passenberg, M.; Korth, J.; Zmudzinski, J.; Anastasiou, O.E.; Saner, F.H.; Jahn, M.; Lange, C.M.; Willuweit, K. Humoral Response to SARS-CoV-2 Vaccination in Liver Transplant Recipients—A Single-Center Experience. *Vaccines* **2021**, *9*, 738. [[CrossRef](#)]
11. Ruether, D.F.; Schaub, G.M.; Duengelhof, P.M.; Haag, F.; Brehm, T.T.; Fathi, A.; Wehmeyer, M.; Jahnke-Triankowski, J.; Mayer, L.; Hoffmann, A.; et al. SARS-CoV2-specific Humoral and T-cell Immune Response After Second Vaccination in Liver Cirrhosis and Transplant Patients. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2022**, *20*, 162–172.e9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Marion, O.; Del Bello, A.; Abravanel, F.; Couat, C.; Faguer, S.; Esposito, L.; Hebral, A.L.; Izopet, J.; Kamar, N. Safety and Immunogenicity of Anti-SARS-CoV-2 Messenger RNA Vaccines in Recipients of Solid Organ Transplants. *Ann. Intern. Med.* **2021**, *174*, 1336–1338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Mazzola, A.; Todesco, E.; Drouin, S.; Hazan, F.; Marot, S.; Thabut, D.; Varnous, S.; Soulie, C.; Barrou, B.; Marcelin, A.G.; et al. Poor Antibody Response After Two Doses of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Vaccine in Transplant Recipients. *Clin. Infect. Dis.* **2022**, *74*, 1093–1096. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Strauss, A.T.; Hallett, A.M.; Boyarsky, B.J.; Ou, M.T.; Werbel, W.A.; Avery, R.K.; Tobian, A.A.R.; Massie, A.B.; Hamilton, J.P.A.; Garonzik-Wang, J.M.; et al. Antibody Response to Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 Messenger RNA Vaccines in Liver Transplant Recipients. *Liver Transpl.* **2021**, *27*, 1852–1856. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Nazaruk, P.; Monticolo, M.; Jedrzejczak, A.M.; Krata, N.; Moszczuk, B.; Sanko-Resmer, J.; Pilecki, T.; Urbanowicz, A.; Florczak, M.; Paczek, L.; et al. Unexpectedly High Efficacy of SARS-CoV-2 BNT162b2 Vaccine in Liver versus Kidney Transplant Recipients—Is It Related to Immunosuppression Only? *Vaccines* **2021**, *9*, 1454. [[CrossRef](#)]
16. Amanna, I.J.; Slifka, M.K. Contributions of humoral and cellular immunity to vaccine-induced protection in humans. *Virology* **2011**, *411*, 206–215. [[CrossRef](#)]
17. DiPiazza, A.T.; Graham, B.S.; Ruckwardt, T.J. T cell immunity to SARS-CoV-2 following natural infection and vaccination. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2021**, *538*, 211–217. [[CrossRef](#)]
18. Sahin, U.; Muik, A.; Vogler, I.; Derhovanessian, E.; Kranz, L.M.; Vormehr, M.; Quandt, J.; Bidmon, N.; Ulges, A.; Baum, A.; et al. BNT162b2 vaccine induces neutralizing antibodies and poly-specific T cells in humans. *Nature* **2021**, *595*, 572–577. [[CrossRef](#)]
19. Geers, D.; Shamier, M.C.; Bogers, S.; den Hartog, G.; Gommers, L.; Nieuwkoop, N.N.; Schmitz, K.S.; Rijsbergen, L.C.; van Osch, J.A.T.; Dijkhuizen, E.; et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci. Immunol.* **2021**, *6*, eabj1750. [[CrossRef](#)]
20. Miele, M.; Busa, R.; Russelli, G.; Sorrentino, M.C.; Di Bella, M.; Timoneri, F.; Mularoni, A.; Panarello, G.; Vitulo, P.; Conaldi, P.G.; et al. Impaired anti-SARS-CoV-2 humoral and cellular immune response induced by Pfizer-BioNTech BNT162b2 mRNA vaccine in solid organ transplanted patients. *Am. J. Transplant.* **2021**, *21*, 2919–2921. [[CrossRef](#)]
21. Bertrand, D.; Hamzaoui, M.; Lemee, V.; Lamulle, J.; Hanoy, M.; Laurent, C.; Lebourg, L.; Etienne, I.; Lemoine, M.; Le Roy, F.; et al. Antibody and T Cell Response to SARS-CoV-2 Messenger RNA BNT162b2 Vaccine in Kidney Transplant Recipients and Hemodialysis Patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2021**, *32*, 2147–2152. [[CrossRef](#)]
22. Cucchiari, D.; Egri, N.; Bodro, M.; Herrera, S.; Del Risco-Zevallos, J.; Casals-Urquiza, J.; Cofan, F.; Moreno, A.; Rovira, J.; Banon-Maneus, E.; et al. Cellular and humoral response after mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine in kidney transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **2021**, *21*, 2727–2739. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Raszeja-Wyszomirska, J.; Janik, M.K.; Wojcicki, M.; Milkiewicz, P. SARS-CoV2 vaccination in liver transplant recipients: Factors affecting immune response and refusal to vaccine. *Pol. Arch. Intern. Med.* **2022**, *132*, 16274. [[PubMed](#)]
24. Caillard, S.; Chavarot, N.; Bertrand, D.; Kamar, N.; Thauinat, O.; Moal, V.; Masset, C.; Hazzan, M.; Gatault, P.; Sicard, A.; et al. Occurrence of severe COVID-19 in vaccinated transplant patients. *Kidney Int.* **2021**, *100*, 477–479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Kamar, N.; Abravanel, F.; Marion, O.; Couat, C.; Izopet, J.; Del Bello, A. Three Doses of an mRNA COVID-19 Vaccine in Solid-Organ Transplant Recipients. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *385*, 661–662. [[CrossRef](#)]
26. Saiag, E.; Grupper, A.; Avivi, I.; Elkayam, O.; Ram, R.; Herishanu, Y.; Cohen, Y.; Perry, C.; Furer, V.; Katchman, H.; et al. The effect of a third-dose BNT162b2 vaccine on anti-SARS-CoV-2 antibody levels in immunosuppressed patients. *Clin. Microbiol. Infect.* **2022**, *28*, 735.e5–735.e8. [[CrossRef](#)]
27. Stumpf, J.; Tonnus, W.; Paliege, A.; Rettig, R.; Steglich, A.; Gembardt, F.; Kessel, E.; Kroger, H.; Arndt, P.; Sradnick, J.; et al. Cellular and Humoral Immune Responses After 3 Doses of BNT162b2 mRNA SARS-CoV-2 Vaccine in Kidney Transplant. *Transplantation* **2021**, *105*, e267–e269. [[CrossRef](#)]
28. Hall, V.G.; Ferreira, V.H.; Ku, T.; Ierullo, M.; Majchrzak-Kita, B.; Chaparro, C.; Selzner, N.; Schiff, J.; McDonald, M.; Tomlinson, G.; et al. Randomized Trial of a Third Dose of mRNA-1273 Vaccine in Transplant Recipients. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *385*, 1244–1246. [[CrossRef](#)]
29. Goldberg, Y.; Mandel, M.; Bar-On, Y.M.; Bodenheimer, O.; Freedman, L.; Haas, E.J.; Milo, R.; Alroy-Preis, S.; Ash, N.; Huppert, A. Waning Immunity after the BNT162b2 Vaccine in Israel. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *385*, e85. [[CrossRef](#)]
30. Bertrand, D.; Lemee, V.; Laurent, C.; Lemoine, M.; Hanoy, M.; Le Roy, F.; Nezam, D.; Pruteanu, D.; Lebourg, L.; Grange, S.; et al. Waning antibody response and cellular immunity 6 months after third dose SARS-CoV-2 mRNA BNT162b2 vaccine in kidney transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **2022**, *22*, 1498–1500. [[CrossRef](#)]
31. Fava, A.; Donadeu, L.; Sabe, N.; Pernin, V.; Gonzalez-Costello, J.; Llado, L.; Meneghini, M.; Charmetant, X.; Garcia-Romero, E.; Cacherio, A.; et al. SARS-CoV-2-specific serological and functional T cell immune responses during acute and early COVID-19 convalescence in solid organ transplant patients. *Am. J. Transplant.* **2021**, *21*, 2749–2761. [[CrossRef](#)]

32. Boyarsky, B.J.; Werbel, W.A.; Avery, R.K.; Tobian, A.A.R.; Massie, A.B.; Segev, D.L.; Garonzik-Wang, J.M. Immunogenicity of a Single Dose of SARS-CoV-2 Messenger RNA Vaccine in Solid Organ Transplant Recipients. *JAMA* **2021**, *325*, 1784–1786. [[CrossRef](#)]
33. Benotmane, I.; Gautier-Vargas, G.; Cognard, N.; Olagne, J.; Heibel, F.; Braun-Parvez, L.; Martzloff, J.; Perrin, P.; Moulin, B.; Fafi-Kremer, S.; et al. Weak anti-SARS-CoV-2 antibody response after the first injection of an mRNA COVID-19 vaccine in kidney transplant recipients. *Kidney Int.* **2021**, *99*, 1487–1489. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Korth, J.; Jahn, M.; Dorsch, O.; Anastasiou, O.E.; Sorge-Hadicke, B.; Eisenberger, U.; Gackler, A.; Dittmer, U.; Witzke, O.; Wilde, B.; et al. Impaired Humoral Response in Renal Transplant Recipients to SARS-CoV-2 Vaccination with BNT162b2 (Pfizer-BioNTech). *Viruses* **2021**, *13*, 756. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Rincon-Arevalo, H.; Choi, M.; Stefanski, A.L.; Halleck, F.; Weber, U.; Szelinski, F.; Jahrsdorfer, B.; Schrezenmeier, H.; Ludwig, C.; Sattler, A.; et al. Impaired humoral immunity to SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine in kidney transplant recipients and dialysis patients. *Sci. Immunol.* **2021**, *6*, eabj1031. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Furian, L.; Russo, F.P.; Zaza, G.; Burra, P.; Hartzell, S.; Bizzaro, D.; Di Bello, M.; Di Bella, C.; Nuzzolese, E.; Agnolon, C.; et al. Differences in Humoral and Cellular Vaccine Responses to SARS-CoV-2 in Kidney and Liver Transplant Recipients. *Front. Immunol.* **2022**, *13*, 853682. [[CrossRef](#)]
37. Qin, C.X.; Moore, L.W.; Anjan, S.; Rahamimov, R.; Sifri, C.D.; Ali, N.M.; Morales, M.K.; Tsapepas, D.S.; Basic-Jukic, N.; Miller, R.A.; et al. Risk of Breakthrough SARS-CoV-2 Infections in Adult Transplant Recipients. *Transplantation* **2021**, *105*, e265–e266. [[CrossRef](#)]
38. Caillard, S.; Thauinat, O.; Benotmane, I.; Masset, C.; Blanche, G. Antibody Response to a Fourth Messenger RNA COVID-19 Vaccine Dose in Kidney Transplant Recipients: A Case Series. *Ann. Intern. Med.* **2022**, *175*, 455–456. [[CrossRef](#)]
39. Kamar, N.; Abravanel, F.; Marion, O.; Romieu-Mourez, R.; Couat, C.; Del Bello, A.; Izopet, J. Assessment of 4 Doses of SARS-CoV-2 Messenger RNA-Based Vaccine in Recipients of a Solid Organ Transplant. *JAMA Netw. Open* **2021**, *4*, e2136030. [[CrossRef](#)]
40. Babu, T.M.; Kotton, C.N. Immunizations in Chronic Kidney Disease and Kidney Transplantation. *Curr. Treat. Options Infect. Dis.* **2021**, *13*, 47–65. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich für die allzeit freundliche Unterstützung und die stetige Hilfsbereitschaft bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

