

Validation pré-clinique du Lovo pour les applications de thérapie cellulaire post-décongélation

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

- Toute reproduction même partielle est interdite

Boris Calmels
Centre de Thérapie Cellulaire
CIC Biothérapie CBT-510
Institut Paoli-Calmettes
Marseille

manipulation de produits cellulaires décongelés

- pratiques très hétérogènes
- peu ou pas de recommandations, mais
 - QC sur produit injecté informatif
 - toxicité post-injection réduite
 - pour les produits cellulaires peu ou pas manipulés avant congélation
- objectifs de la manipulation
 1. éliminer les contaminants (débris cellulaires, dmsos)
 2. limiter la perte cellulaire
 3. réduire le volume

toxicité post-injection

- étiologie multi-factorielle
 - dmsos
 - induit la libération d'histamine
 - débris cellulaires
 - essentiellement contamination en granulocytes
 - médiateurs solubles issus de la lyse cellulaire
 - volume et température de la suspension cellulaire
 - susceptibilité individuelle
- peut être limitée
 - par la pré-médication du patient
 - par le « lavage » des produits cellulaires décongelés

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

- Toute reproduction même partielle est interdite

DMSO induced myocardial infarction during allogeneic cryopreserved bone marrow transplant

Mohamad Khawandanah · Sarah Hopps · Sobia Nabeel ·
Bilal Ahmad · Susan Weiss · Jennifer Holter Charkrabarty ·
Carrie Yuen · George Selby

Cell Tissue Bank
<https://doi.org/10.1007/s10561-018-9718-x>

SHORT COMMUNICATION

Dimethyl Sulfoxide-Induced Tonic-Clonic Seizure and Cardiac Arrest During Infusion of Autologous Peripheral Blood Stem Cells

Senem Maral · Murat Albayrak · Cigdem Pala · Abdulkadir Yildiz ·
Osman Sahin · Hacer Berna Ozturk

Received: 11 February 2018 / Accepted: 28 July 2018
© Springer Nature B.V. 2018



Neurotoxicity Associated With Dimethyl Sulfoxide Used in Allogeneic Stem Cell Transplantation

Ezra Ataseven, MD,* Özlem Tüfekçi, MD,* Şebnem Almaz, MD,*
Handan Güleriyüz, MD,† and Hale Öret, MD*

J Pediatr Hematol Oncol • Volume 39, Number 5, July 2017

Severe motor aphasia after reinfusion of cryopreserved autologous stem cells after myeloablative conditioning

Andreas Hausmann,¹ Norbert Fischer,¹ Stephan Breitkopf,¹ Franziska Menne,¹ Kerstin Jess,¹
Stefan Schmidmayr,² Clemens M. Wendtner,¹ and Marcus Hentrich³

Adverse events of cryopreserved hematopoietic stem cell infusions in adults: a single-center observational study

Zaher K. Otrock, Diane S. Sempek, Sherry Carey, and Brenda J. Grossman

TRANSFUSION Volume 57, June 2017

TABLE 2. Patients' and infusions' characteristics according to the occurrence of AEs in univariate analysis*

Variable	AEs (n = 483)	No AEs (n = 795)	p value
Age (years)	59.2 (19.3-77.3)	59 (20.7-78)	0.574†
Sex			
Male	248 (32.2)	521 (67.8)	<0.0001‡
Female	232 (46.4)	268 (53.6)	
Diagnosis			
Multiple myeloma	253 (33.3)	506 (66.7)	<0.0001‡
Other diagnoses	227 (46.5)	283 (55.5)	
Volume infused/BW (mL/kg)	2.94 (0.71-18.9)	2.27 (0.67-24.33)	<0.0001†
CD34+ cells infused/BW ($\times 10^6$ /kg)	3.16 (0.57-26.19)	3.66 (1.04-16.6)	0.218†
MNCs infused/BW ($\times 10^8$ /kg)	5.16 (0.58-26.47)	4.09 (0.16-26.02)	<0.0001†
Granulocytes infused/BW ($\times 10^8$ /kg)	3.95 (0.29-23.63)	3.01 (0.15-20.78)	<0.0001†

* Data are reported as median (range) or number (%).

† Mann-Whitney U test.

‡ Chi-square test.

BW = body weight.

- AEs were reported in 38% of infusions
- all patients receive preinfusion medications with diphenhydramine, hydrocortisone, and antiemetics
- "it might be warranted to consider implementing DMSO-reducing protocols before infusion"

réduction de la toxicité post-injection

- peu d'options disponibles
 - limitation du nombre de poches congelées et/ou injectées
 - réduction du % de dmso
 - pré-médication
 - optimisation qualitative de la collecte par aphérèse (Ht < 1-2%)
 - « lavage » post-décongélation
- manipulations post-injection
 - peu utilisées
 - craintes de perte cellulaire
 - charge de travail pour le laboratoire
 - mais très efficaces pour limiter la toxicité

Clinical experience with the delivery of thawed and washed autologous blood cells, with an automated closed fluid management device: CytoMate

Volume 45, May 2005 TRANSFUSION

Claude Lemarie, Boris Calmels, Carine Malenfant, Vérane Arneodo, Didier Blaise, Frédéric Viret, Réda Bouabdallah, Patrick Ladaïque, Patrice Viens, and Christian Chabannon



cytomate
+ CD-A / HSA / 0,9% NaCl



n=54 automated wash
n=250 no wash

TABLE 1. Patient and transplant characteristics

Variable	Test group (CytoMate)	Control group	Statistical analysis
Number of transplants	54	250	NA*
Age, years (mean ± SD)	48 ± 12	51 ± 13	p = 0.13
Sex ratio (female/male)	0.93	1.03	p = 0.77
Diagnosis†			
Non-Hodgkin's lymphoma	15 (15)	20 (49)	p = 0.03
Multiple myeloma	11 (6)	30 (76)	
Other hematological malignancies	28 (15)	20 (50)	
Solid tumors	33 (18)	30 (75)	
Number of bags to be thawed (mean ± SD)	4	2	
1	0 (0)	24 (59)	
2	4 (2)	44 (111)	
3	67 (36)	23 (57)	
4	15 (8)	7 (18)	p = 0.0002
5	6 (3)	2 (4)	
6	4 (2)	0 (1)	
7	6 (3)	0 (0)	
Number of CD34+ cells (×10 ⁶ /kg) before cryol preservation (mean ± SD)	6.81 ± 4.55	9.48 ± 2.61	p = 0.02
Number of CD34+ (×10 ⁶ /kg) cells following thawing and washing (mean ± SD)	4.84 ± 3.47	NA	NA
Days to PMNC count of > 0.5 × 10 ⁹ /L (mean ± SD)	12.3 ± 2.5	12.1 ± 6.9	p = 0.24
Days to PLT count > 20 × 10 ⁹ /L (mean ± SD)	11.9 ± 2.1	12.5 ± 10.3	p = 0.66
Questionnaire returned†	39 (21)	30 (74)	p = 0.2
Occurrence of side effects (INCI-CTC)†			
Grade 0 (no side effects)	17 (17)	54 (40)	p = 0.04
Grade 1	14 (3)	27 (20)	
Grade 2	5 (1)	12 (9)	
Grade 3	0 (0)	7 (5)	
Grade 4	0 (0)	0 (0)	

* NA = not applicable.

† Data are reported as percent (number).

residual fold reduction = 20

- similar hematopoietic reconstitution

• occurrence of AEs

- 19% in the cytomate group
- 46% in the control group

- median viable CD34 cells recovery : 70% (pre-freeze/ post-wash)

Hematopoietic engraftment of dimethyl sulfoxide–depleted autologous peripheral blood progenitor cells

TRANSFUSION Volume 49, February 2009

Çiğdem A. Akkök, Mette R. Holte, Jon M. Tangen, Bjørn Østenstad, and Øystein Bruserud

occurrence of AEs

- 16% in the wash group
- 47% in the no wash group



centrifugation
+ ACD-A / 0,9% NaCl



n=19 manual wash
n=34 no wash

An automatic wash method for dimethyl sulfoxide removal in autologous hematopoietic stem cell transplantation decreases the adverse effects related to infusion

TRANSFUSION Volume 52, November 2012

Andrés Sánchez-Salinas,* Valentín Cabañas-Perianes,* Miguel Blanquer, María Juliana Majado, Carmen Luisa Insausti, Jorge Monserrat, María Victoria Sánchez-Ibáñez, Pilar Menchón, Ana García-Hernández, Joaquín Gómez-Espu, Alfonso Morales, and José M. Moraleda

occurrence of AEs

- 2% in the wash group
- 26% in the no wash group



sepax 2
+ HSA / 0,9% NaCl



n=46 automated wash
n=53 no wash

absence d'effet délétère du lavage sur la récupération cellulaire

- la manipulation post-décongélation n'a pas d'impacts qualitatif ni quantitatif délétères sur le greffon
 - lorsque la technique est automatisée
- la mise en œuvre de techniques automatiques ne compromet pas la reconstitution hématopoïétique
 - Toute reproduction même partielle est interdite

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

- Toute reproduction même partielle est interdite

To Wash or Not to Wash? Comparison of Patient Outcome after Infusion of Cryopreserved Autologous Hematopoietic Stem Cells before and after the Replacement of Manual Washing by Bedside Thawing

Anna Margret Halldorsdottir^{a,b} Sveinlaug Atladottir^c
Margret A. Thorsteinsdottir^d Niels A. Arnason^a Gudmundur Runarsson^c
Torbjorn Jonsson^{a,b} Olafur E. Sigurjonsson^{a,d} Sigrun Reykdal^c



centrifugation
+ AGD-A / HSA 0.9% / NaCl



n=84 manual wash
n=83 no wash

no significant differences

- in the mean CD34 10e6/kg infused,
- in the number of days to neutrophils $>0.5 \cdot 10^9/L$,
to platelets $>20 \cdot 10^9/L$ and $>50 \cdot 10^9/L$

decision was made to eliminate the manual washing step for the following reasons

- minimize delays of infusions
- manual washing procedure is operator dependent
- manual methods may result in an unpredictable HPC loss
- manual washing procedures do not completely remove dms0 or abrogate side effects

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

Toute reproduction même partielle est interdite



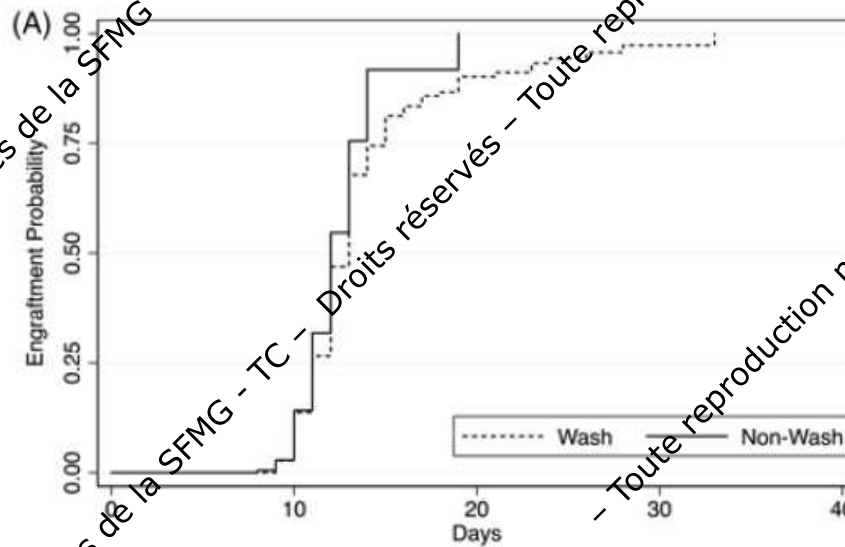
centrifugation
+ plasmalyte / ACD-A



n=201 manual wash
n=89 no wash

Comparison of time to engraftment between autologous patients receiving washed versus non-washed cryopreserved peripheral blood stem cell products

Ronit Reich-Slotky^a, Sarah S. Makhani^a, Ljiljana V. Vasovic^b, Roger N. Pearson^c, Adriana Rossi^c,
Adrienne Philips^c, Melissa M. Cushing^b, Amrita D. Singh^d and Kornel van-Besien^c



- direct thaw and infusion of non-washed products resulted in faster neutrophil and platelet engraftment
- "if done properly the washing procedure can reduce DMSO concentration while maintaining cell viability"

Automated washing of autologous hematopoietic stem cell grafts after thawing does not impair engraftment

B Calmels^{1,2,3,7}, A Drezet^{3,7}, C Huynh¹, A Autret⁴, A-M Stoppa⁵, R Bouabdallah⁵, D Coso⁵, C Malenfant¹, C Lemarié^{1,2} and C Chabannon^{1,2,3,6}



cytomate
+ CD-A / HSA 0,9% / NaCl



n=260 automated wash
n=65 no wash

Bone Marrow Transplantation (2014) 49, 1127–1128
© 2014 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0268-3369/14
www.nature.com/bmt

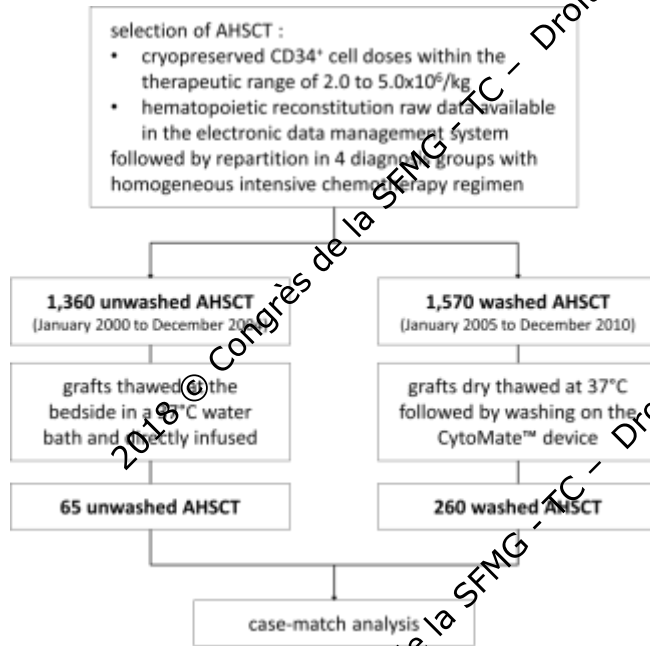


Table 1. Patient autografts and clinical characteristics

	Unwashed (n = 65)	Washed (n = 136)	P-value
Sex (M/F)	30/35	51/85	0.41
Age (median (range))	55.3 (17–71)	56.1 (23–71)	0.74
<i>Diagnosis/high-dose chemotherapy (n (%))</i>			
Plasma cell disorders/melphalan	48 (73.8)	97 (74.6)	0.15
Lymphoma/BEAM	8 (12.3)	23 (17.7)	
Acute leukemia/BU-MEL	2 (3.1)	2 (1.5)	
Solid tumors/CY-MEL	4 (6.2)	8 (6.2)	
Number of CD34 ⁺ cells cryopreserved (10 ⁶ /kg)	3.7	3.8	0.29
<i>Patients according to CD34⁺ cell dose (n)</i>			
(2; 3.5)	27	44	0.29
(3.5; 5)	38	86	
Days to neutrophils >0.5 g/L (median ± s.d. (range))	12.4 ± 1.4 (10–15)	12.5 ± 1.6 (8–17)	0.67

Abbreviations: F = female; M = male; MEL = melphalan.

case-match analysis using 4 matching factors with distincts relative weights (diagnosis 200, CD34 cell dose 10, age 2 and sex 1)

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite

Automated thawing increases recovery of colony-forming units from banked cord blood unit grafts

Saisha M. Muñiz Alers,¹ Kristin Page,^{1,2} Ryan Simmons,¹ Barbara Waters-Pick,³ Lynn Cheatham,^{1,2}
 Jesse D. Troy,^{1,2} and Joanne Kurtzberg^{1,2}

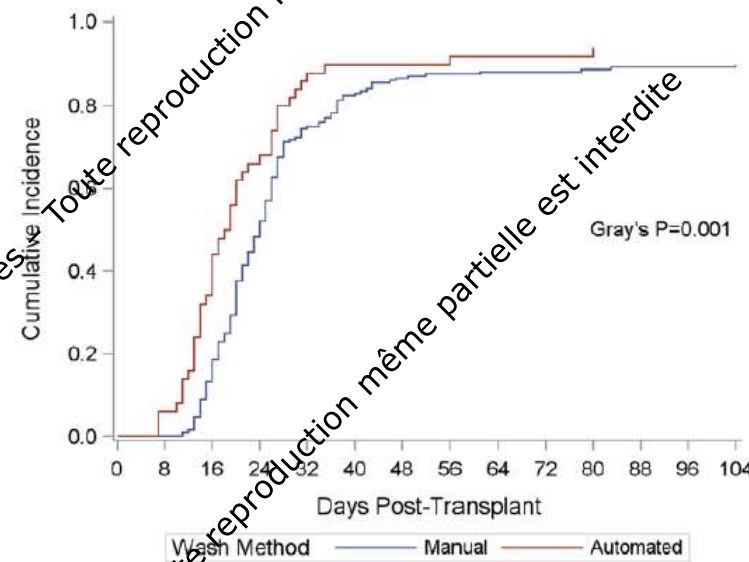
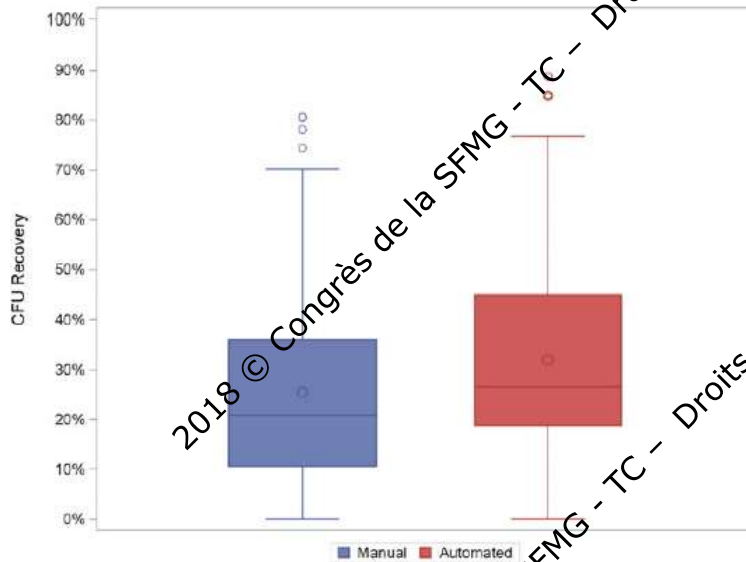


sepax 2
 + dextran 40



n=188 manual wash
 n=50 automated wash

TRANSFUSION 2018;99:999;1-7



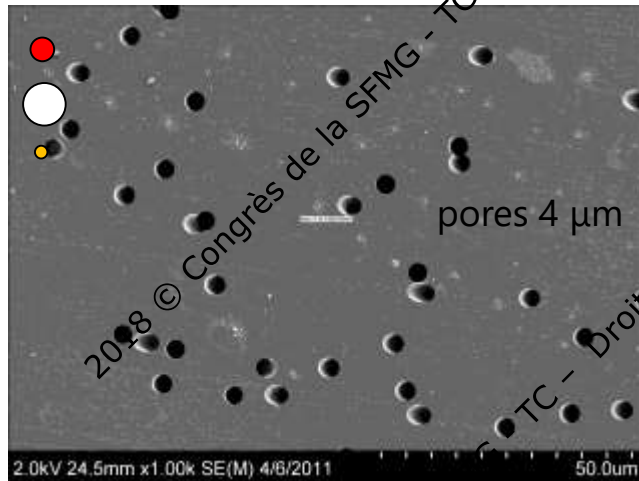
- automated washed CBUs demonstrated higher CFU recovery
- automated washing was associated with earlier neutrophil engraftment

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

techniques de lavage disponibles

- manuelle
 - dilution, centrifugation, élimination du surnageant
 - économique mais
 - peu efficace (déplétion dms0 < 1 log)
 - non standardisable (opérateur dépendante)
 - peu rapide
 - réduit peu la toxicité post-injection
- automatiques
 - centrifugation (sepax 2, cobe 2991) ou filtration (lovo)
 - coûteuses mais
 - efficaces (déplétion dms0 2 log)
 - standardisables
 - rapide
 - volume final ajustable
 - réduisent significativement la toxicité post-injection

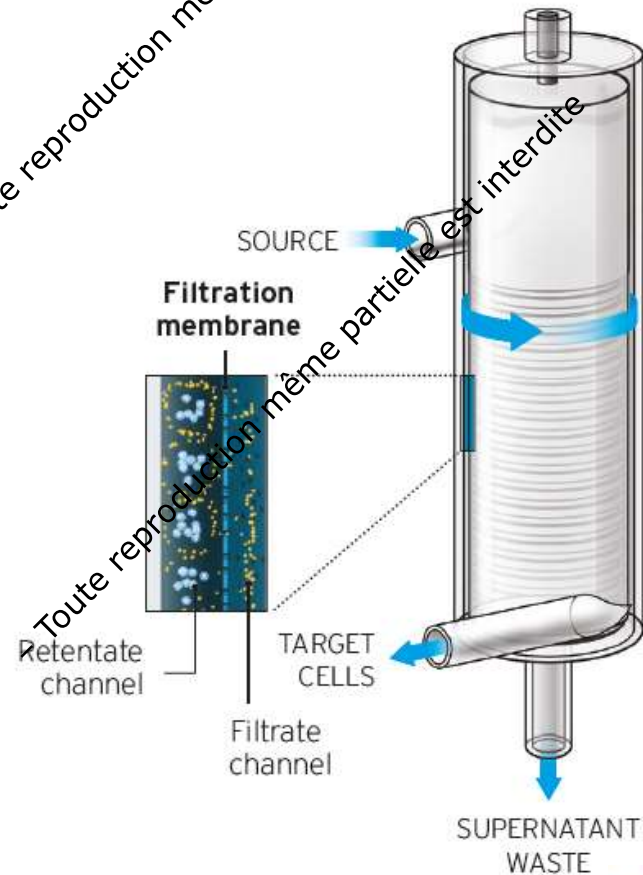
lavage post-décongélation sur membrane filtrante rotative



● = RBC

○ = WBC

● = PLT



2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

Toute reproduction même partielle est interdite

lavage post-décongélation sur membrane filtrante rotative

- technologie éprouvée
 - élimination du dms0 : 95%, rendement CD34 : 70% (Calmels et al, 2003)
 - 845 procédures, rendement CD34 : 70%, incidence : EI 5% (IPC, 2010)

Bone Marrow Transplantation (2003) 31, 823-828
© 2003 Nature Publishing Group. All rights reserved 0268-3369/03 \$25.00
www.nature.com/bmt

Technical Report

Preclinical evaluation of an automated closed fluid management device: Cytomate™, for washing out DMSO from hematopoietic stem cell grafts after thawing

B Calmels¹, P Houzé², J-C Hengesse³, T Ducrot³, C Malenfant¹ and C Chabannon¹

Cytotherapy, 2017; 19: 1471-1508



International Society for Cellular Therapy
ISCT

Pre-clinical assessment of the Lovo device for dimethyl sulfoxide removal and cell concentration in thawed hematopoietic progenitor cell grafts

BECHARA M FARREJ^{1,2}, GUILLAUME BOUCHET^{1,2}, JÉRÔME COUQUIAUD^{1,2}, LIONEL REGIMBAUD^{1,2}, STEVEN BINNINGER¹, MATHIEU MERCIER¹, CLAUDE LEMARIÉ^{1,2}, PASCAL HOUZÉ¹, CHRISTIAN CHABANNON^{1,2,3} & BORIS CALMELS^{1,2}

validation pré-clinique du Lovo pour le lavage post-décongélation

1. méthodologie



- 42 produits d'aphérèse congelés en deux poches (voluven 10% dms0)
- décongélation sur SmartMax (Biosafe/GE Healthcare)
- numération des CD34 sur FC500 (Stem-Kit, Beckman Coulter)
- quantification du dms0 par électrophorèse capillaire P/ACE (Sciex, Beckman Coulter)
- tampon de lavage : +4-10°C voluven (hydroxyéthyl amidon 6%)
- PCV* (packed cell volume) : range 3-22%
 - *PCV = [total volume of cellular material : RBCs + WBCs + PLTs]/[total source product volume]x100



validation pré-clinique du Lovo pour le lavage post-décongélation

2. procédure

Pre-Wash	Source Prime	Processing
1- Protocol selected 2- Source volume, %PCV and desired final volume entered 3- Kit installed and checked 4- Solutions installed 5- Kit primed and checked 6- Instrument ready for source Av. time: 9 min (18%)	7- Bag 1 thawed and attached to source line while kept on rocker 8- Bag 1 primed 8'- Bag 2 thawed 9- Bag 2 attached to source line 2 while kept on rocker, line 1 clamped 10- Bag 2 primed Av. time: 22 min (43%)	11- Primed bags 1 and 2 attached to pool (source) 12- Source collected, volume reduction and washing into in-process container 13- Final retentate collected Av. time: 20 min (39%)

2018 © Congrès de la SFMG - Droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite

validation pré-clinique du Lovo pour le lavage post-décongélation

3. résultats

Table I. Viable CD34⁺ cell recovery and viability from thawed products, PCV%, DMSO elimination and total processing time using Lovo 1.0 (2-cycle), Lovo 2.0 (2-cycle) and Lovo 2.0 (3-cycle).

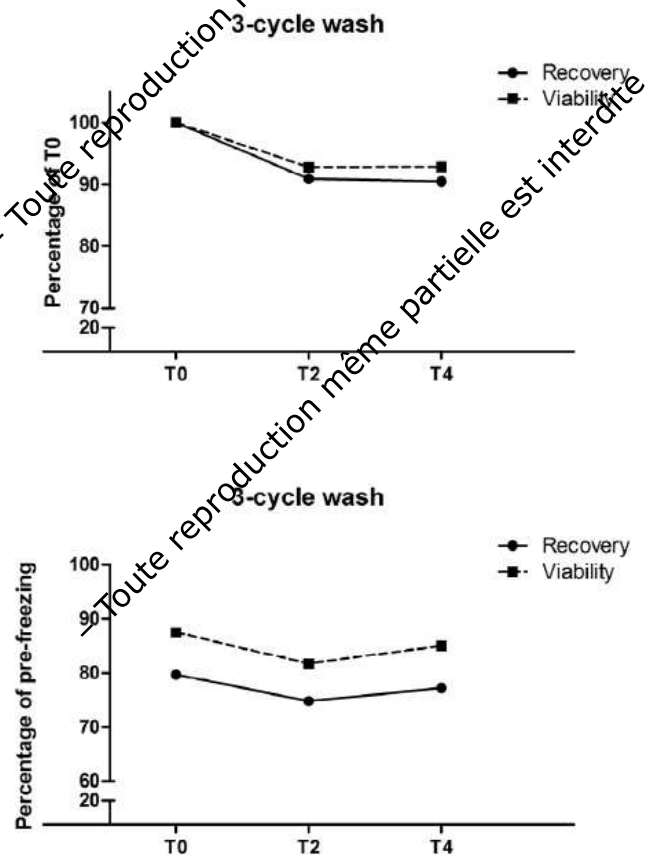
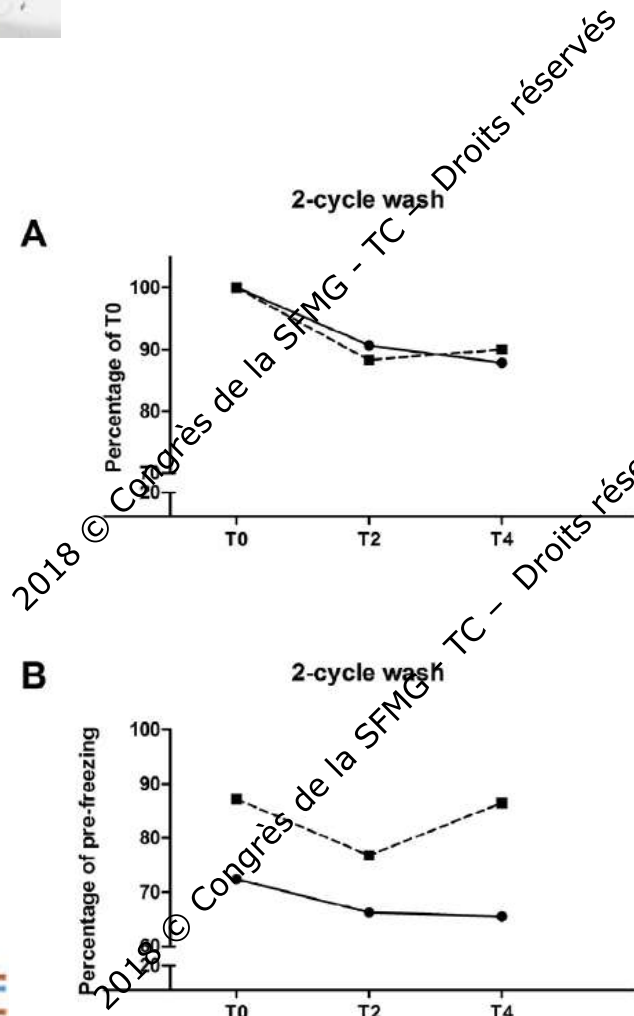
	Lovo 1.0 (two-cycle)	Lovo 2.0 (two-cycle)	Lovo 2.0 (three-cycle)
Number of runs	12	5	6
Number of bags per run	1	1-2	1-2
PCV% (median, IQR)	4.0% (3.9-6.85)	7.6% (3.9-17.8)	8.4% (6.9-11.4)
Viable CD34 + cell recovery (median, IQR)	81% (74-99)	72% (60-97)	84% (61-93)
CD34 + cell viability (median, IQR)	95% (95-96)	95% (74-97)	92% (81-94)
DMSO elimination (median, IQR)	96% (93-98)	98% (93-99)	97% (97-98)
Total processing time	15 min ^a	51 min	62 min

^aProcessing time excludes the instrument/kit preparation and bag thawing.



validation pré-clinique du Lovo pour le lavage post-décongélation

4. stabilité



en conclusion

- manipulation post-décongélation sur lovo
 - rendement CD34 et déplétion en dmso comparables aux autres techniques automatisées
 - volume final paramétrable (<100ml en pédiatrie)
 - gain de temps pour les produits cellulaires conditionnés en 3 poches, 4 poches ou plus (mauvais mobilisateurs)
 - stabilité du produit à température ambiante
- avantages annexes
 - automate versatile (concentration cultures cellulaires jusqu'à 21 litres)
 - paramétrage intuitif par l'utilisateur

en conclusion

- les technologies de manipulation post-décongélation
 - n'altèrent pas la fonctionnalité des greffons
 - n'affectent pas la reconstitution hématopoïétique
 - lorsqu'elles sont mises en œuvre sur des automates validés
 - manuelles (centrifugation) n'apportent que peu de bénéfices autres qu'économique
 - mise en œuvre fastidieuse et opérateur dépendante
 - faible élimination du dmsso et donc des débris cellulaires
 - automatiques permettent
 - une déplétion en dmsso >95%
 - une incidence d'effets indésirables <5% en l'absence de prémédication
 - une stabilité >4h du produit cellulaire
 - une standardisation du produit injecté

merci !

Bechara

Guillaume

Jérôme

Lionel



2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

- Toute reproduction même partielle est interdite