

Autologe Immuntherapie der feline chronischen Gingivostomatitis (FCGS) durch toleranzinduzierende dendritische Zellen

Thomas Grammel¹, Barbara Möhnle², Claudia Dettmer-Richardt¹, Dierk E. Rebeski¹

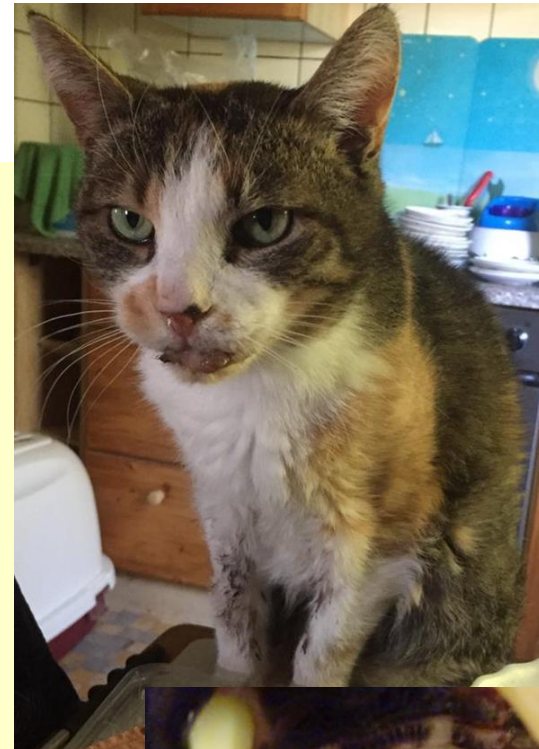
Tierarztpraxis PetBioCell GmbH, Schillerstr. 17, 37520 Osterode am Harz, Tel.: 05522 918 2581, E-Mail: info@petbiocell.de

Fachtierärztliches Zentrum für Kleintiere Kehl-Hanauerland, Hautstraße 186, 77694 Kehl, Tel.: 07851 76278, E-Mail: info@tierarzt-kehl.de

Toleranz-induzierte Zelltherapie bei Gingivostomatitis

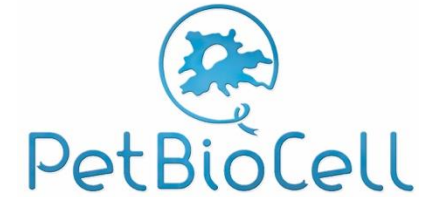
Dr. B. Möhnle, S. Grammel, Dr. T. Grammel, Dr. U. Möhnle

Dr. Barbara Möhnle
Tierärztliches Kleintierzentrum Hanauerland / Tierarzt Plus Kehl GmbH
Kehl



18. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für
Tierärztliche Zahnmedizin (DGT) vom 13.10.2022

Studienprotokoll



- 9 Katzen, 1-14 Jahre, 6 w, 3 m, alle kastriert
- 1 x Siam, 8 x Europ. Kurzhaar, Gruppenhaltung
- Herpesvirus und Calicivirus ggf. positiv, FIV negativ, FELV negativ
- Mycoplasmen negativ
- Vor der Studie: röntgenol. Befundung, Zahnextraktion bei Zahnresorptionen und Wurzelresten
- Während der Studie: keine Zahnbehandlung
- Blutbild, Organwerte (Niere!)
- SDAI
- Keine Kortikoide, Cyclosporin, Interferon und immunsuppressive Medikation
- Erlaubt Schmerzmittel (NSAID), Laktoferin, L-Lysin, Antibiose
- Untersuchungsdauer 60 Wochen, 10.12.2019 – 20.06.2022

fad 54980



PetBioCell

Behandlung mit autologen dendritischen
Zellen für Katzen

Studie zur Behandlung der
Gingivostomatitis

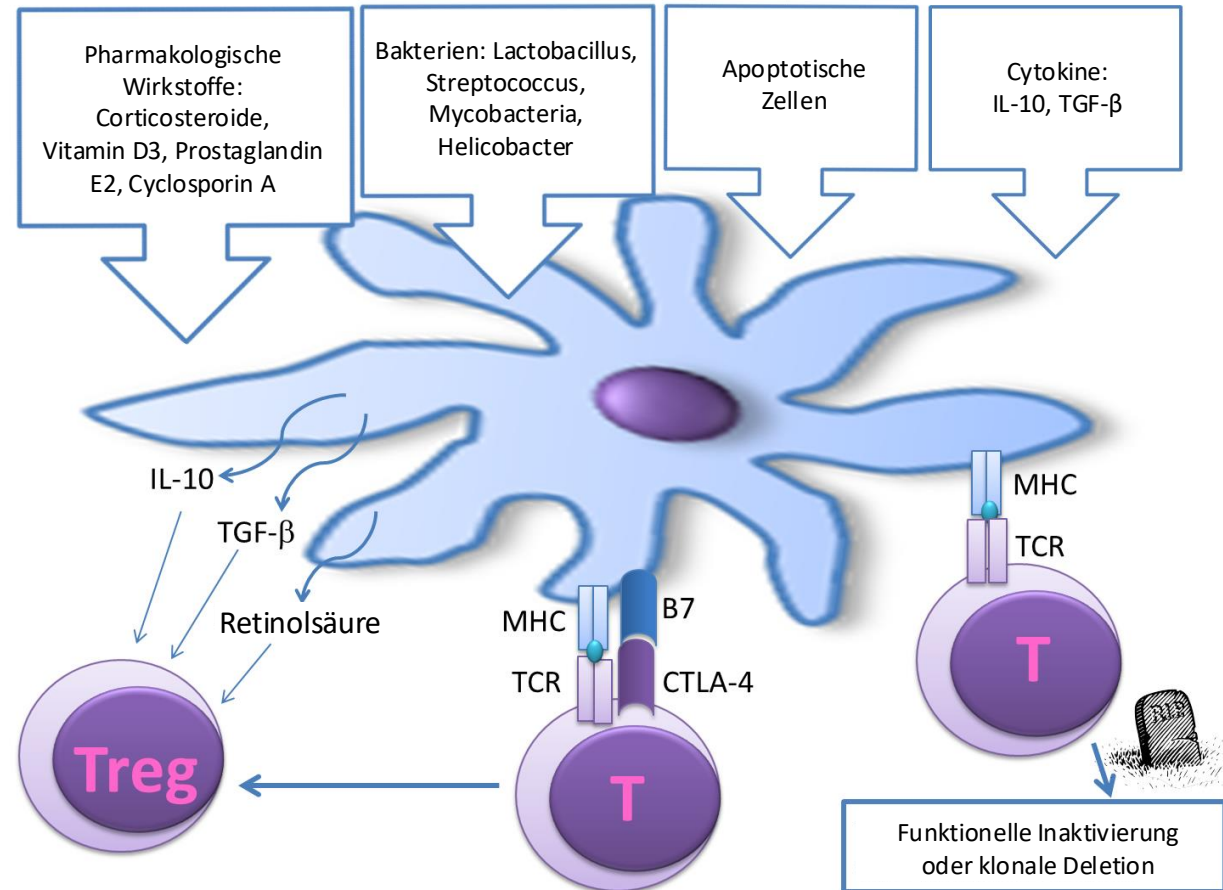


Schillerstr. 17
37520 Osterode am Harz
Deutschland

Web: www.petbiocell.de
Mail: info@petbiocell.de
Tel: +49-5522-9182581

Nummer Studienbogen: _____

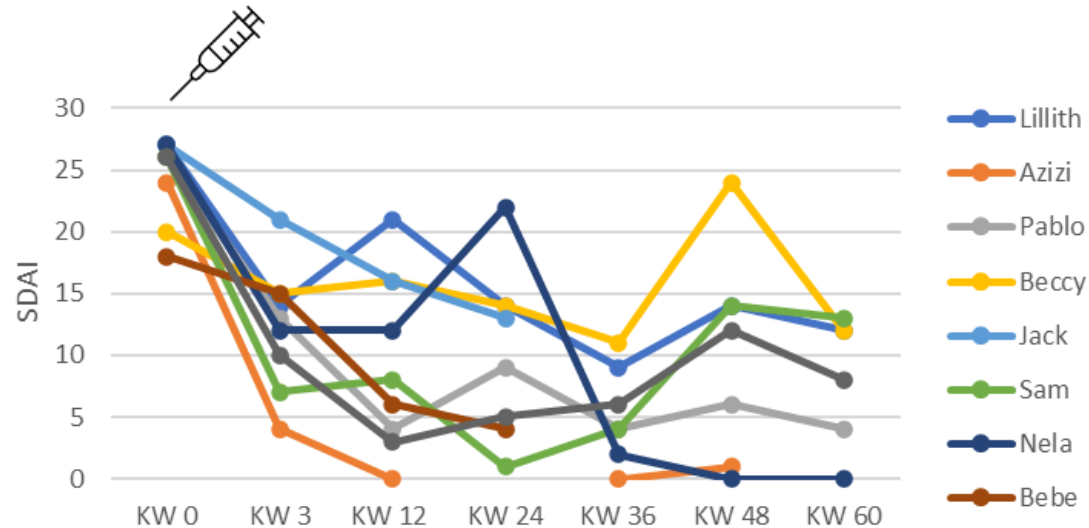
Dendritische Zelltherapie



Selbsttoleranz-vermittelnde dendritische Zellen.
Grammel, T., Dettmer-Richardt, C., Grammel, M., 2015.
Immuntherapie bei einer Perianalfistel – Ein Fallbericht,
Kleintierpraxis 60, Heft 8, Seiten 414 - 423

Stomatitis Disease Activity Index (SDAI)

Trend des Heilungsverlaufs der FCGS nach Applikation autologer dendritischer Zellen



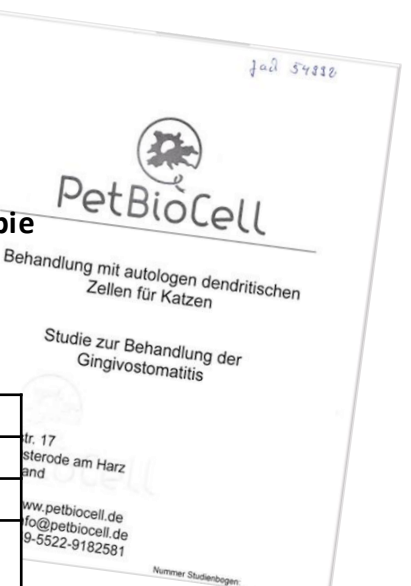
	KW 0	KW 3	KW 12	KW 24	KW 36	KW 48	KW 60
Lillith	27	14	21	14	9	14	12
Azizi	24	4	0		0	1	
Pablo	26	13	4	9	4	6	4
Beccy	20	15	16	14	11	24	12
Jack	27	21	16	13			
Sam	26	7	8	1	4	14	13
Nela	27	12	12	22	2	0	0
Bebe	18	15	6	4			
Leo	26	10	3	5	6	12	8

3.2. 12 Wochen nach der Applikation der Zelltherapie

Datum: _____

3.2.1. Ergebnis

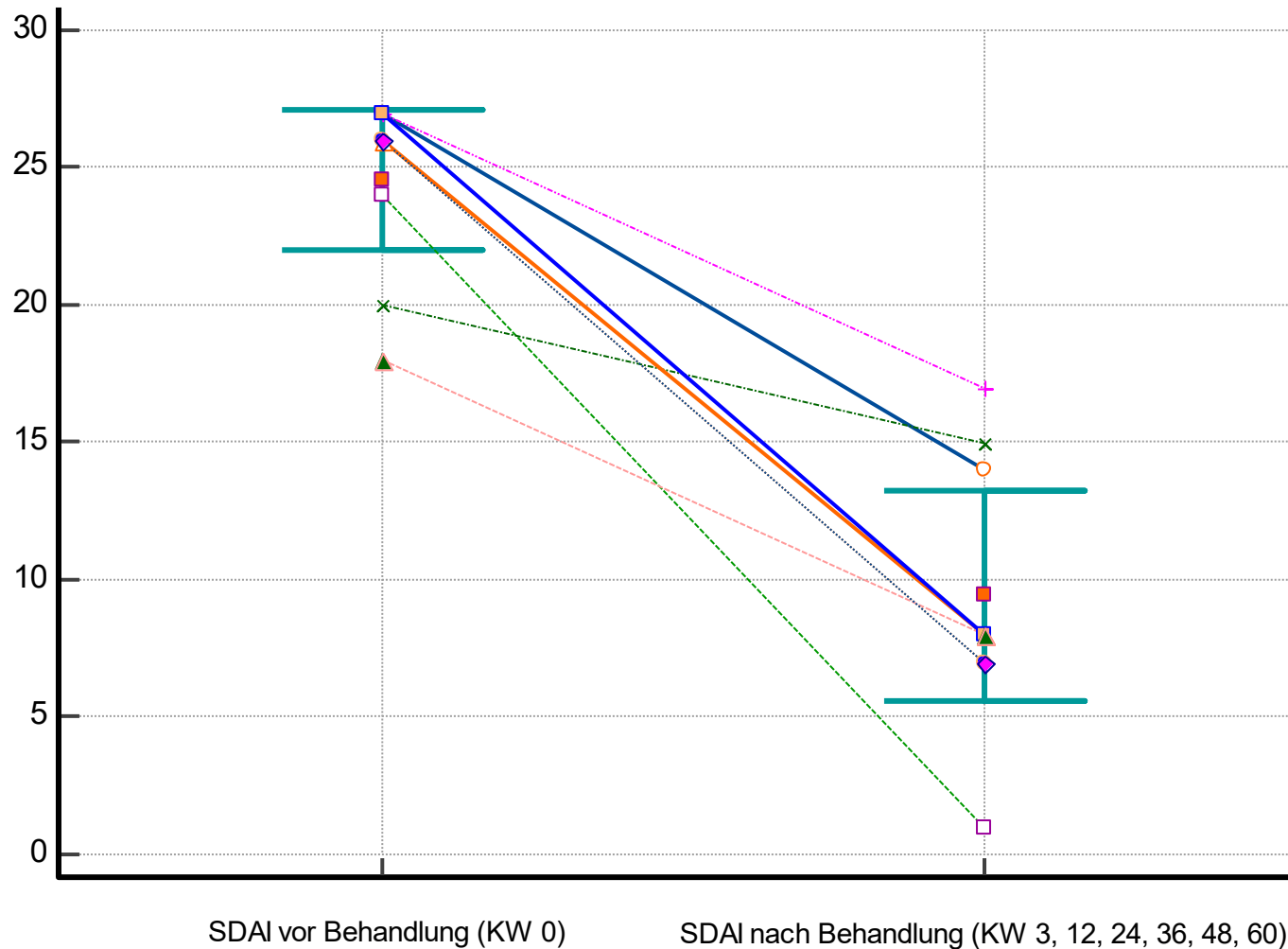
	0	1	2	3
Beurteilung des Besitzers				
Gewicht				
Bukkale Mukosalentzündung Unterkiefer / Oberkiefer				
Bukkale Mukosalentzündung Unterkiefer				
Zahnfleischentzündung Oberkiefer				
Zahnfleischentzündung Unterkiefer				
Entzündung der Speicheldrüse				
Entzündung der Bereiche seitlich der Gaumenglanzalten				
Oropharyngeale Entzündung				
Linguale und / oder sublinguale Entzündungen				



Beurteilung des Besitzers:
0 = signifikante Verbesserung
1 = leichte Verbesserung
2 = keine Verbesserung
3 = Verschlechterung
Gewicht:
0 = Zuwachs > 0,5 kg
1 = Zuwachs > 0,25 kg
2 = < 0,25 kg Zuwachs
3 = Gewichtsverlust
Entzündungen:
0 = keine
1 = mild
2 = moderat
3 = schwer

SDAI – t-Test für gepaarte Stichproben

Heilungsverlauf der FCGS nach Applikation dendritischer Zellen
(t-Test für gepaarte Stichproben)



Sample 1	K_0
Sample 2	K_1_6

	Sample 1	Sample 2
Sample size	9	9
Arithmetic mean	24,5556	9,4444
95% CI for the mean	22,0030 to 27,1082	5,6182 to 13,2707
Variance	11,0278	24,7778
Standard deviation	3,3208	4,9777
Standard error of the mean	1,1069	1,6592

Paired samples t-test

Mean difference	-15,1111
Standard deviation of differences	5,8618
Standard error of mean difference	1,9539
95% CI of difference	-19,6169 to -10,6053
Test statistic t	-7,734
Degrees of Freedom (DF)	8
Two-tailed probability	P = 0,0001

Differences

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution of differences	accept Normality (P=0,6786)
--	-----------------------------

MedCalc® version 23.3.7

SDAI – ANOVA mit wiederholten Messungen (1)

Number of subjects	7
--------------------	---

Sphericity

Method	Epsilon
Greenhouse-Geisser	0,409
Huynh-Feldt	0,623

Test of Within-Subjects Effects

Source of variation		Sum of Squares	DF	Mean Square	F	P
Factor	Sphericity assumed	319,071	5	63,814	2,36	0,064
	Greenhouse-Geisser	319,071	2,046	155,931	2,36	0,135
	Huynh-Feldt	319,071	3,117	102,367	2,36	0,102
Residual	Sphericity assumed	811,429	30	27,048		
	Greenhouse-Geisser	811,429	12,277	66,091		
	Huynh-Feldt	811,429	18,702	43,388		

Trend analysis

Trend	t	DF	Significance
Linear	-3,5101	6	P = 0,0127
Quadratic	0,5371	6	P = 0,6105
Cubic	-0,6450	6	P = 0,5428

Within-subjects factors

Factor	Mean	Std. Error	95% CI	
Lillith	15,8571	2,3035	10,2207 to 21,4936	
Pablo	9,4286	3,0383	1,9941 to 16,8630	
Beccy	16,0000	1,7321	11,7618 to 20,2382	
Sam	10,4286	3,1233	2,7861 to 18,0711	
Nela	10,7143	4,0866	0,7146 to 20,7139	
Leo	10,0000	2,9032	2,8961 to 17,1039	

...vergleicht die SADI-Mittelwerte von 6 Probanden über 7 Messzeitpunkte (KW 0 bis KW 60) hinweg. Es wird geprüft, ob die Unterschiede der Mittelwerte innerhalb und zwischen den Probanden statistisch signifikant sind oder nur auf zufälligen Schwankungen beruhen.

...,„breiter Test“ innerhalb der Gesamtanalyse, prüft den Haupteffekt der Zeit/Messwiederholung, verneint die unspezifischere Hypothese, dass es über alle Messzeitpunkte innerhalb und zwischen den Probanden hinweg irgendein Unterschied in den SDAI-Mittelwerten gibt ($p = 0,064$).

...,„fokussierter Test“ mit höherer statistischer Power, bestätigt spezifische Hypothese, dass die Daten durch stetige Abnahme der Mittelwerte über die Zeit einem spezifischen linearen Muster folgen ($p = 0,0127$).

SDAI – ANOVA mit wiederholten Messungen (2)

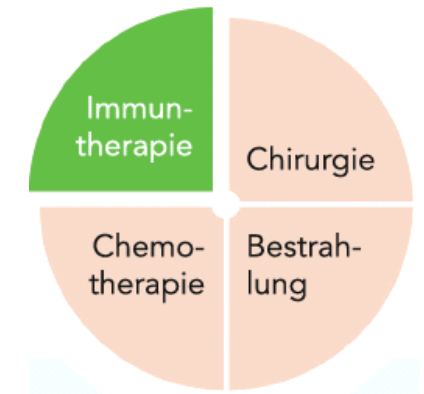
Pairwise comparisons

Factors			Mean difference	Std. Error	P ^a	95% CI ^a
Lillith	-	Pablo	6,429	2,069	0,3136	-3,289 to 16,146
	-	Beccy	-0,143	2,064	1,0000	-9,838 to 9,552
	-	Sam	5,429	2,224	0,7560	-5,019 to 15,876
	-	Nela	5,143	2,899	1,0000	-8,474 to 18,760
	-	Leo	5,857	2,241	0,5985	-4,669 to 16,383
Pablo	-	Lillith	-6,429	2,069	0,3136	-16,146 to 3,289
	-	Beccy	-6,571	2,861	0,9201	-20,011 to 6,868
	-	Sam	-1,000	2,459	1,0000	-12,553 to 10,553
	-	Nela	-1,286	2,579	1,0000	-13,403 to 10,832
	-	Leo	-0,571	1,378	1,0000	-7,044 to 5,901
Beccy	-	Lillith	0,143	2,064	1,0000	-9,552 to 9,838
	-	Pablo	6,571	2,861	0,9201	-6,868 to 20,011
	-	Sam	5,571	2,515	1,0000	-6,245 to 17,388
	-	Nela	5,286	4,207	1,0000	-14,479 to 25,051
	-	Leo	6,000	2,410	0,7081	-5,323 to 17,323
Sam	-	Lillith	-5,429	2,224	0,7560	-15,876 to 5,019
	-	Pablo	1,000	2,459	1,0000	-10,553 to 12,553
	-	Beccy	-5,571	2,515	1,0000	-17,388 to 6,245
	-	Nela	-0,286	4,502	1,0000	-21,438 to 20,866
	-	Leo	0,429	1,395	1,0000	-6,124 to 6,981
Nela	-	Lillith	-5,143	2,899	1,0000	-18,760 to 8,474
	-	Pablo	1,286	2,579	1,0000	-10,832 to 13,403
	-	Beccy	-5,286	4,207	1,0000	-25,051 to 14,479
	-	Sam	0,286	4,502	1,0000	-20,866 to 21,438
	-	Leo	0,714	3,765	1,0000	-16,974 to 18,403
Leo	-	Lillith	-5,857	2,241	0,5985	-16,383 to 4,669
	-	Pablo	0,571	1,378	1,0000	-5,901 to 7,044
	-	Beccy	-6,000	2,410	0,7081	-17,323 to 5,323
	-	Sam	-0,429	1,395	1,0000	-6,981 to 6,124
	-	Nela	-0,714	3,765	1,0000	-18,403 to 16,974

^a Bonferroni corrected

Patientenvorstellung

- Kontaktaufnahme durch Tierhalter oder Haustierarztpraxis
- <http://www.immune-therapy.vet>
- <http://www.petbiocell.de>
- Telefonische Beratung durch Vertrieb
- Tierärztliche Fachberatung
- Befundung einschließlich Einsicht in Unterlagen der Haustierarztpraxis
- Diagnosestellung & Aussprechen von Therapieempfehlung
- Behandlung



Therapieplan und Kosten der toleranzinduzierenden FCGS-Behandlung

Therapieplan

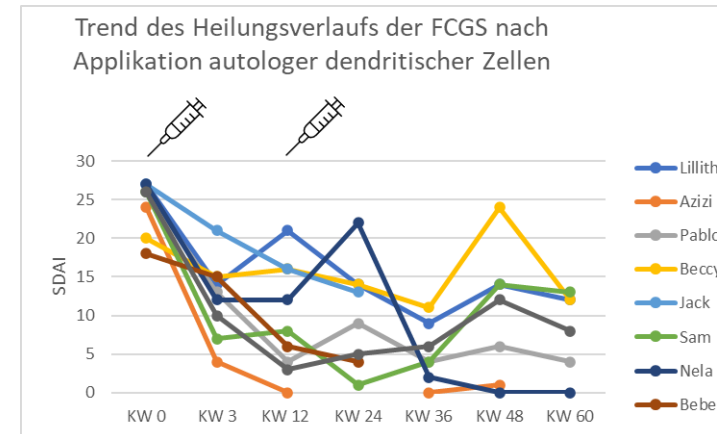
- Eine (1) Behandlung geplant
- Evtl. eine Nachbehandlung 3-4 Monate später
- I.d.R. keine Nachbehandlung nach Abheilung

Logistik

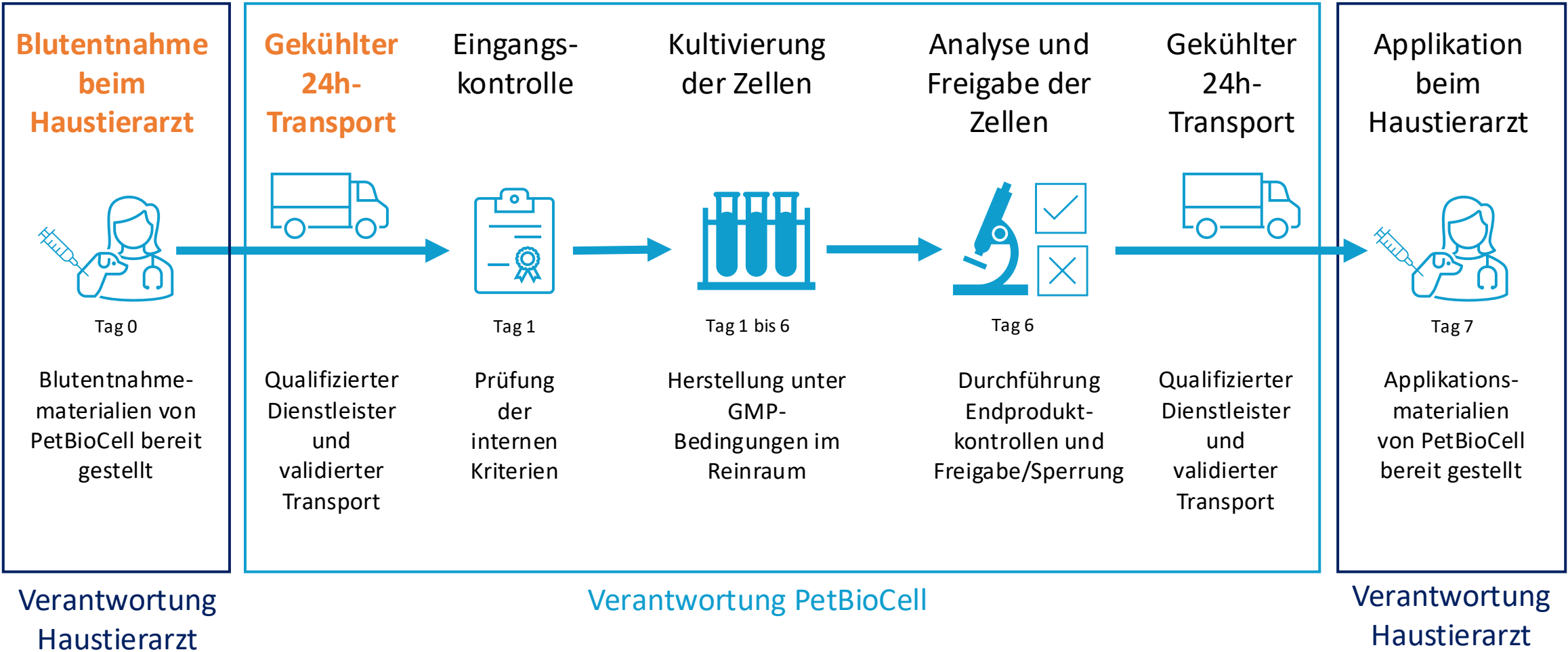
- Dienstag, Mittwoch und Donnerstag bis ca. 15 Uhr Blutentnahme und Abholung (Tag 0)
- Mittwoch, Donnerstag und Freitag Beginn der Zellkultivierung (Tag 1)
- Zugabe von IL 10 (Tag 4)
- Ernte, Produktfreigabe und Rücksendung (Tag 6)
- Intrakutane Applikation der Zellsuspension (Tag 7)

Kosten

- Kosten pro Behandlung 1.239,00 € plus Versand (Stand 10.2025)



Bei verzögerter Abheilung kann eine wiederholte Behandlung nach 3 - 4 Monaten durchgeführt werden.



Versand der Blutprobe

- Das Starterkit beinhaltet alle Materialien für die Blutentnahme und wird in der gekühlten Transportbox innerhalb von 24 Stunden an den Haustierarzt versandt.
- Die Blutprobe wird unter gleichen Bedingungen an PetBioCell retourniert.

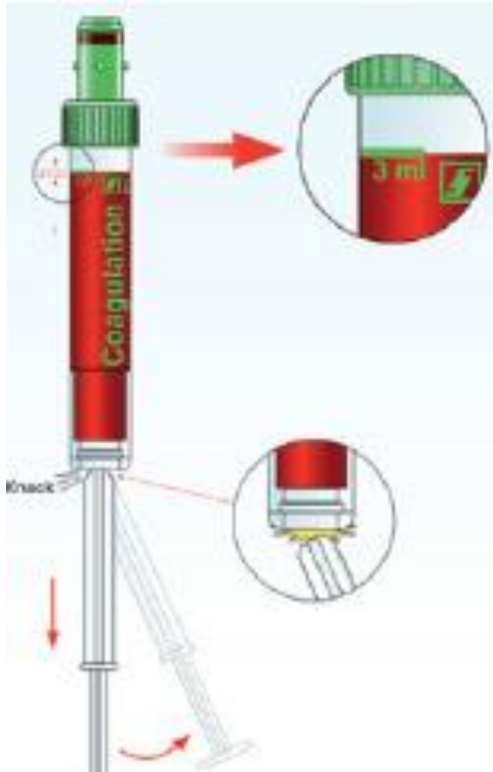


Isolierbox & Kühlakku



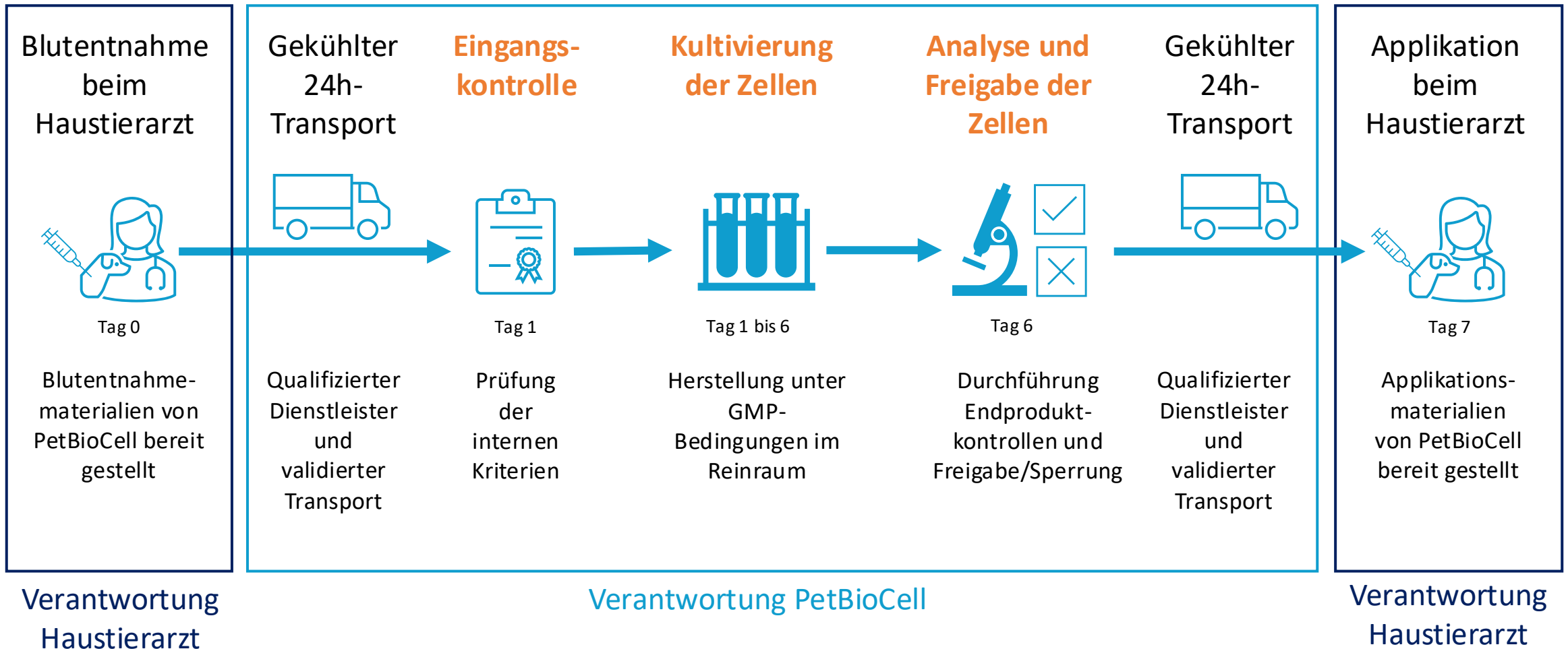
Blutentnahmebesteck

Blutentnahme unter sterilen Kautelen



- Monovette (Vol. 1,8 ml, 2,9 ml, 5,4 ml)
- Validierter Express-Kühlversand (innerhalb 24 Stunden)

Nr.	ARBEITSCHRITTE
1	Beschriftung der Röhrchen mit dem Namen des Besitzers und Namen der Katze
2	Entnahmestelle großzügig scheren
3	Händedesinfektion, mind. 30 Sekunden
4	Gründliche Desinfektion der anvisierten Einstichstelle, 30 Sekunden warten bis die Stelle getrocknet ist
5	Vene stauen
6	Straffen der Haut an der Einstichstelle, Einstich des Venenkatheters
7	Monovette mit dem Butterfly / Kanüle verbinden und sanft an dem Stempel ziehen
8	Wenn die Monovette bis zur Markierung gefüllt ist. - Monovette abnehmen - Stempel an Monovette nach Befüllung ganz heraus ziehen und abbrechen - Monovette dreimal vorsichtig schwenken
9	Schritte 7 & 8 wiederholen bis genug Monovetten gefüllt sind in Abhängigkeit vom Gewicht des Patienten
10	Stauung lösen, Kanüle entfernen, mit Tupfer Druck auf Einstichstelle ausüben bis Blutung gestillt



Herstellung im Reinraum



Gute Herstellungspraxis (Good Manufacturing Practice, GMP)

GMP-Qualitätsmanagement:

- Dokumentenmanagement für Vorgabedokumente (z. B. SOPs und Formblätter)
- Qualifizierung von Ausrüstung (Anlagen und Geräte sowie ggf. Gebäude und Räumlichkeiten)
- Schulung von Mitarbeitern
- Lieferantenqualifizierung
- Wartungen und Re-qualifizierungen
- Abweichungs- und Änderungsmanagement
- Selbstinspektionen



Freigabekriterien der dendritischen Zellsuspension

Quantität und Qualität

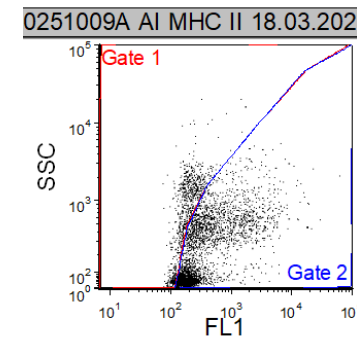
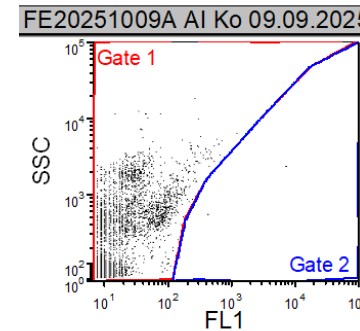
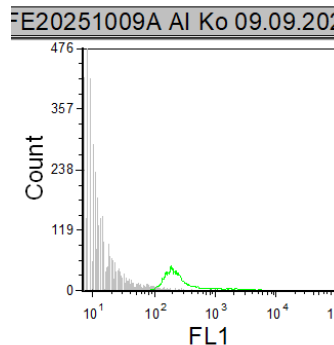
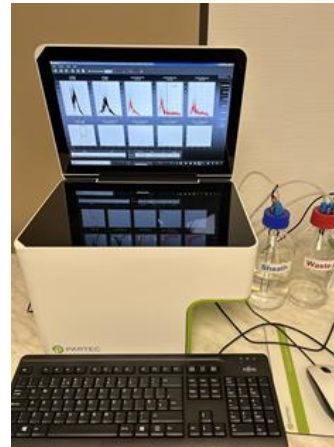


Zellzahl: Median 1.215 K, n = 143
350 K - 12.870 K / Spritze (2 ml)



Viabilität $\geq 90\%$

Phänotypische Charakterisierung

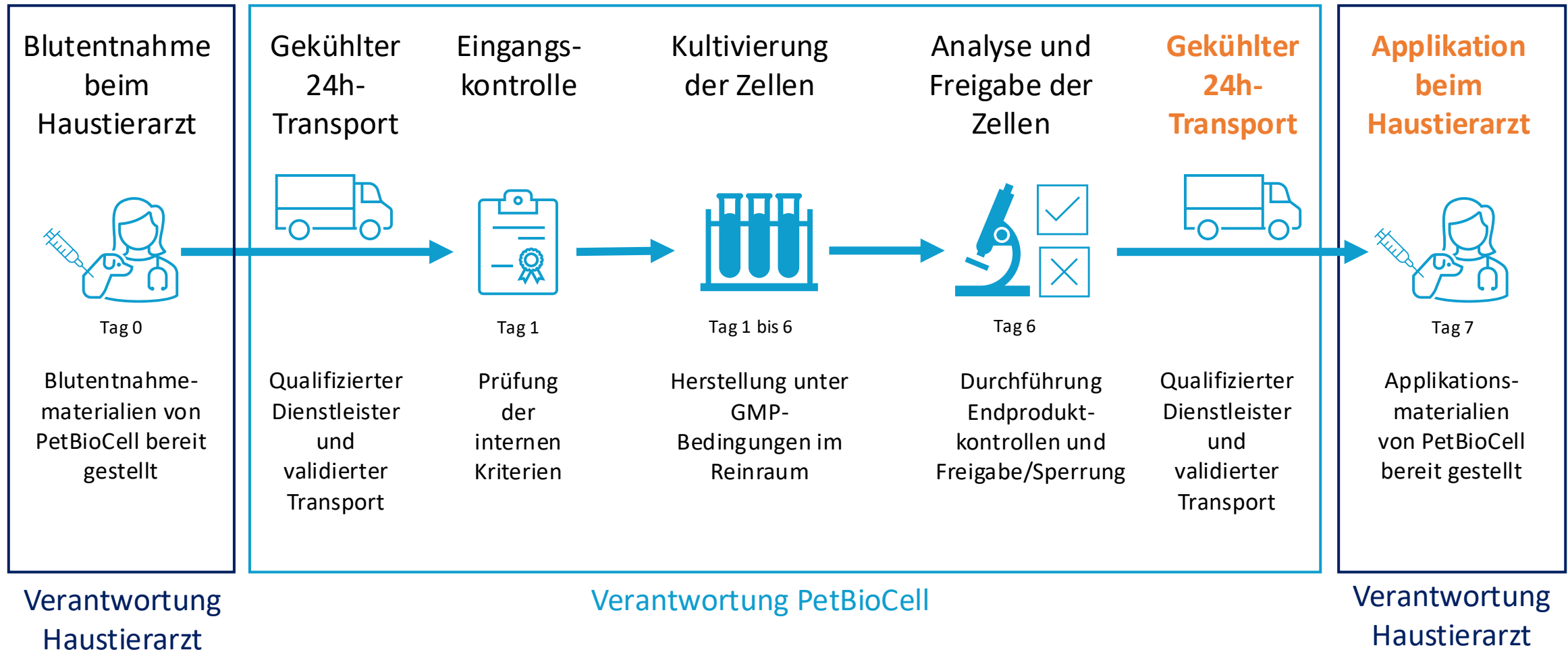


FACS $\geq 10\%$ markierte Zellen ($1,5 \times 10^5$ Zellen/Ansatz)

Sterilität



CaSo-Bouillon
20-25°C, 14 Tage
Thioglycolat-Bouillon
30-35°C; 14 Tage
Abklatsch und
Sedimentationsplatten
20-25°C, 5-7 Tage anschließend
30-35°C, 2-3 Tage



Versand der Zellsuspension

- Die mit der Zellsuspension gefüllte Spritze (isotonische 0,9 % NaCl-Lösung) wird in der gekühlten Transportbox innerhalb von 24 Stunden an den Haustierarzt zwecks Zellapplikation versandt.

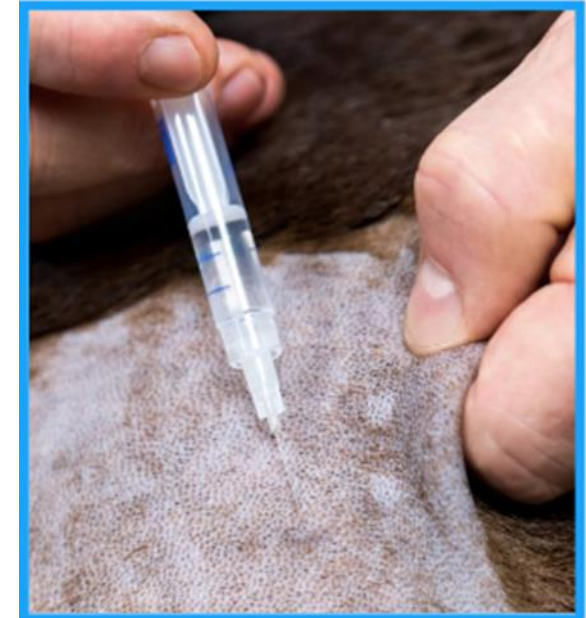
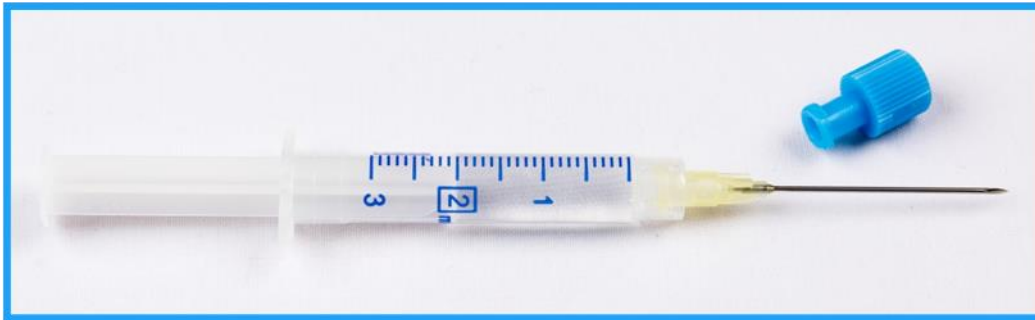


Isolierbox & Kühlakku



Zellsuspension

Intradermale Zellapplikation



- Zellsuspension abgefüllt in einer 2 ml-Spritze mit Luer-Lock und aufgesetzter Kanüle 27 G

Fehlervermeidung

- 1. Sterile Blutentnahme zügig durchführen (mind. 10 ml)!
- 2. Kühlelemente müssen zum Versandzeitpunkt tiefgefroren sein!
- 3. Monovetten, Kanülen etc. immer mit aktuellem Verfallsdatum verwenden!
- **CAVE: Die qualitätssichernde Eingangskontrolle verzeiht keine Abweichung!**

Rechtlicher Hintergrund

- Verantwortungsabgrenzungsvertrag
- Vertreterregelung entsprechend Berufsordnung der Tierärztekammern
- Deklaratorische Klausel
 - Sollte die vertretende Haustierarztpraxis von einem Tierhalter im Zusammenhang mit der autologen Immunbehandlung auf Schadensersatz in Anspruch genommen werden, so stellt die PetBioCell die Haustierarztpraxis ausdrücklich von sämtlichen Ansprüchen vollumfänglich frei.
 - Eine Haftung der Haustierarztpraxis gegenüber dem Tierhalter besteht lediglich für etwaige Behandlungsfehler bei der Blutentnahme und Applikation des Zelltherapeutikums, die von der Haustierarztpraxis in Vertretung der PetBioCell in eigener Praxis durchgeführt werden.



Danke für Ihre Aufmerksamkeit!