

DiluFlow Pro
BagMixer 400 S
BagFilter
easySpiral Dilute



AP-HP.
Hôpitaux universitaires
Henri-Mondor

Le GHU Henri-Mondor est le deuxième producteur à l'AP-HP de suspensions de microbiote fécal sous forme seringues ou gélules dans le cadre de la Transplantation de Microbiote Fécal (TMF). Cette activité assure la dispensation des préparations à tous les hôpitaux du GHU ainsi qu'aux hôpitaux du territoire de l'Est Parisien.

Disposent de : DiluFlow Pro / BagFilter / BagMixer 400 S / easySpiral Dilute



Fabrication de seringues et gélules pour la transplantation de microbiote fécal (TMF) avec les appareils Interscience ?

- Travailler sous hotte à flux laminaire
- Pas de contaminations croisées
- Conservation optimale des conditions anaérobies

Dr B. Nebbad-Lechani, Praticien hospitalier en Microbiologie et responsable de la transplantation de microbiote fécal, Service Pharmacie-Hôpital Henri-Mondor.

La transplantation de microbiote fécal (TMF) consiste à administrer une préparation de matière fécale issue d'un sujet sain à un patient atteint d'une pathologie liée à une altération du microbiote intestinal, en vue d'exercer des effets thérapeutiques. Son efficacité est reconnue pour le traitement des infections récidivantes à *Clostridioides difficile*. Au GHU Henri-Mondor, le Dr Nebbad et son équipe utilisent les produits Interscience pour assurer la sécurité et l'hygiène lors de la fabrication de suspensions de microbiote fécal sous forme de seringues ou gélules.

Qu'est-ce que le microbiote ?

Un microbiote est l'ensemble des micro-organismes – bactéries, virus, parasites et champignons non pathogènes, dits commensaux – qui vivent dans un environnement spécifique. Dans l'organisme, il existe différents microbiotes : au niveau de la peau, de la bouche, du vagin, des poumons... Le microbiote intestinal est le plus « peuplé » d'entre eux, abritant 10^{12} à 10^{14} micro-organismes.

Microbiote et santé

Le rôle du microbiote intestinal sur notre santé est de mieux en mieux connu et reconnu. On sait désormais qu'il joue un rôle dans les fonctions digestives, métaboliques, immunitaires et neurologiques. En conséquence, la dysbiose, c'est-à-dire l'altération qualitative et/ou fonctionnelle du microbiote intestinal, est une piste sérieuse pour expliquer certaines maladies, notamment celles sous-tendues par des mécanismes auto-immuns ou inflammatoires. Le Dr Nebbad et son équipe utilisent les produits Interscience pour la fabrication de suspensions de microbiote fécal sous forme seringues ou gélules pour la transplantation de microbiote fécal (TMF) dans le cadre de soins courant notamment dans les infections récidivantes à *Clostridioides difficile* avec un taux de succès pouvant atteindre 80%.

Comment peut-on passer d'une matière fécale à un médicament ?

Tout commence par le don de selles d'un individu sain et dont la sélection répond à des critères spécifiques visant à exclure au maximum la transmission d'agents infectieux. Aujourd'hui il y a très peu de donneurs car peu de personnes sont sensibilisées au don de selles, de plus le donneur sélectionné doit être éligible aux dons selon les recommandations de l'ANSM.

« Le nerf de la guerre, c'est le donneur. » Dr Nebbad

Préparation de transplants de microbiote fécal

Les selles sont d'abord pesées et diluées avec le dilueur gravimétrique DiluFlow directement dans un sac BagFilter, puis homogénéisées dans le malaxeur à pales BagMixer. Le filtre latéral intégré au BagFilter permet de filtrer directement les selles pendant l'étape d'homogénéisation, ainsi les débris cellulaires et les fibres alimentaires non digérées sont éliminés. Les filtrats récupérés sont conservés dans du Glycérol à 10% pour la forme seringue ou solution Glycérolée à 80% pour la forme gélules après centrifugation.

Qualification bactérienne des préparations

La **numération bactérienne** des préparations est réalisée par la **technique de comptage Spiral** (une technique normée ISO7218). A partir d'une suspension de selles avec du NaCl et du glycérol l'appareil **easySpiral Dilute** réalise automatiquement une dilution sérielle de 10 en 10 jusqu'à l'obtention d'une solution à 10^{-5} . Ensuite, à partir de cette suspension, l'automate procède à un **ensemencement en technique Spiral** (permettant d'obtenir 4 log de dilution sur une même boîte de Petri) sur différents milieux spécifiques pour le dénombrement. Chaque milieu d'ensemencement est réalisé en duplicat pour s'assurer de la **reproductibilité**.

Pourquoi aviez-vous besoin de ces automates ?

Dr Nebbad : Nous avons besoin de **gagner du temps** et de **réduire les risques de contaminations croisées**.

« *Ma casquette de microbiologiste me permet d'attester de la sécurité et de l'hygiène qu'apportent les produits Interscience. On s'approche d'une sécurité maximale.* » Dr Nebbad

Comment nos machines ont changé votre façon de travailler ?

Dr Nebbad : Les produits Interscience sont un **progrès certain par rapport aux anciennes méthodes** de préparation. Par exemple l'homogénéisation des échantillons se faisait au mixeur que nous devions nettoyer après chaque manipulation et c'était une source importante de contaminations croisées. Aujourd'hui chaque échantillon est dilué dans son **BagFilter** irradié à l'aide du **DiluFlow** et homogénéisé automatiquement par un **BagMixer**. Les **appareils ne sont pas en contact direct avec l'échantillon** et sont assez compacts pour être utilisés sous la hotte à flux laminaire ou sous une Sorbonne ce qui permet de **sécuriser le don** au maximum et **protéger le manipulateur**. De plus, avec les **BagFilter**, plus besoin de filtrer les échantillons à la main, nous prélevons directement le filtrat dans le sac. Cela **réduit les étapes de manipulation et le nombre de consommables** en contact avec l'échantillon. C'est donc plus **rapide** et plus sûr d'un point de vue **hygiène et sécurité**. Pour ce qui est du dénombrement bactérien, il est facilité par l'utilisation de l'**easySpiral** qui permet d'avoir des boîtes de Petri directement interprétables grâce à ses 9 log de dilution. Cela nous fait **gagner du temps** et nous permet d'avoir des **résultats plus fiables** et plus **reproductibles** grâce à notre double validation.

« *Avant l'homogénéisation des échantillons se faisait au mixeur que nous devions nettoyer après chaque manipulation et c'était une source importante de contaminations croisées.* » Dr Nebbad

Caractéristique qui vous plaît le plus sur nos équipements ?

Dr Nebbad : Les produits Interscience nous apportent une grande satisfaction pour la qualification bactérienne de nos préparations car nous travaillons en duplicata et ces appareils ont des performances très **reproductibles**. De plus, l'utilisation de sacs avec les baguettes de fermeture **BagClip** nous permet de conserver de bonnes **conditions d'anaérobiose**, indispensable à la culture des bactéries vivant dans l'intestin. Le format compact des appareils Interscience permet leur **utilisation sous hotte à flux laminaire** ou une **Sorbonne** et réduit les risques de contamination.

Si vous deviez définir les produits Interscience en 3 mots

Dr Nebbad : **Sécurisés, facile d'utilisation et robustes.**

Protocole d'analyse : Quantification bactérienne de selles de donneur et préparations TMS

- **Nombre d'analyse par jours** : Dépend du rythme des dons
- **Mode de dilution** : Mode automatique avec le **DiluFlow**
- **Facteur de dilution** : 1:4 (v/v)
- **Microorganismes** : Flore aéro-anaérobie facultative cultivable du microbiote intestinal
- **Milieux de culture** : TSA, Drigalski, Schaedler KV 5% de sang de mouton, Bifidobacterium, LBS, Colombia 5% sang de cheval
- **Comptage des colonies** : Manuel