

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 561 920

②① N° d'enregistrement national :

85 04647

⑤① Int Cl* : A 61 K 31/71, 31/215.

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 28 mars 1985.

③① Priorité : HU, 28 mars 1984, n°s 1225/84 et 1226/84;
20 avril 1984, n° 1527/84.

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOP « Brevets » n° 40 du 4 octobre 1985.

⑥① Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦① Demandeur(s) : Société dite : *HAJDUSAGI AGRARIPARI
EGYESULES*, société régie par les lois en vigueur en
Hongrie. — HU.

⑦② Inventeur(s) : Ferenc Simon, Attila Romváry, János
Varga, László Bozzay et Edit Brückner, née Gábor.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : Cabinet Orès.

⑤④ Nouvelles combinaisons de médicaments ayant un effet synergique à base de tiamuline et d'un aminoglycoside et
procédé pour les préparer.

⑤⑦ Composition antibiotique synergique et son procédé de
fabrication.

Elle comprend le fumarate acide de tiamuline antibiotique et
un antibiotique de type aminoglycoside ou un sel acceptable
du point de vue pharmaceutique de celui-ci, en un rapport
pondéral de 5 : 1 à 1 : 5, mélangés avec des supports inertes,
non-toxiques utilisés dans l'art vétérinaire.

Application au traitement des infections respiratoires ou
urinaires et de la septicémie des animaux domestiques.

FR 2 561 920 - A1

D

La présente invention est relative à de nouvelles combinaisons de médicaments ayant un effet synergique, qui guérissent et préviennent des maladies d'origine protozoaire et bactérienne (espèces *Treponema hyodysenteriae*, *Escherichia coli*, *Pasteurella*, *Salmonella*, *Mycoplasma*,) du bétail, des veaux, des moutons, des chèvres, des porcs, des lapins et de la volaille. De plus, la présente invention concerne un procédé de préparation de ces combinaisons médicamenteuses.

On sait que les plus grandes pertes économiques observées dans l'élevage des porcs et de la volaille, sont dues à des maladies des voies gastrointestinales et des organes respiratoires. Les pertes résultent non seulement de la mortalité accrue et des coûts de traitement, mais aussi des performances altérées.

Des souches de type *Mycoplasma* jouent un grand rôle dans le cadre des troubles des voies respiratoires, mais des signes inflammatoires dus à des éléments pathogènes secondaires (par exemple les Souches *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Bordetella*) sont aussi importants.

Des maladies des voies digestives sont généralement provoquées par la croissance excessive d'éléments pathogènes gram-négatifs dans les voies intestinales ; par exemple, la plus importante est l'invasion des souches d'*Escherichia coli* qui produit une diarrhée et un oedème chez les porcs et une coli-septicémie chez la volaille.

Le nombre de troubles gynécologiques des mères augmente régulièrement dans des unités à grande échelle et des troubles subcliniques des mamelles sont plus fréquents. La mastite est provoquée principalement par les souches *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli* et *Corynebacterium*.

Des infections d'origine bactérienne et protozoaire ont été très largement traitées et prévenues avec des antibiotiques et leurs associations.

Une réduction notable des maladies infectieuses

d'origine bactérienne et protozoaire, est devenue possible alors que le choix des antibiotiques s'est élargi.

L'utilisation répandue des antibiotiques s'est traduit par le développement de souches résistantes, vis-à-vis desquelles des antibiotiques uniques sont devenus inefficaces. Pour éviter le développement de la résistance on utilise en général des antibiotiques pendant des courtes périodes de temps et ceci explique pourquoi on produit des antibiotiques toujours plus nouveaux à des coûts de plus en plus élevés.

La tiamuline (le fumarate acide de (14-désoxy-14-
-[2-diéthyl-amino-éthyl]-mercapto-acétoxyl]-mutiline est un antibiotique relativement nouveau dans l'art vétérinaire. On a trouvé qu'il est efficace contre certaines bactéries gram-positives, le Mycoplasma et le très important Treponema.

La tiamuline est extrêmement efficace par voie orale vis à vis du Treponema hyodysenteriae (brevet britannique N° 2 072 012), qui provoque la dysenterie du porc et contre le Mycoplasma hyopneumoniae qui provoque la pneumonie enzootique (Taylor, D.J., IPVS Congress, Mexico, 1982).

L'application de la tiamuline en association avec des antihelminthiques (tétramisole, levamisole, fenbendasole, parbendasole, pipérazine et dichlorvos) a déjà été étudiée. On a aussi analysé la toxicité et la compatibilité des combinaisons. On ne connaît jusqu'à maintenant, aucune combinaison de tiamuline avec des antibiotiques.

La présente invention a pour objet de produire des combinaisons médicamenteuses d'antibiotiques connues, qui réduiront considérablement les dépenses et incluront les effets individuels de deux ou plusieurs composants de façon synergique.

On utilise les antibiotiques de type aminoglycoside (streptomycine, néomycine, kanamycine, gentamycine, tobramycine, spectinomycine, apramycine, etc.) dans le traitement des infections aiguës et chroniques des voies respiratoires, gastrointestinales et urogénitales, provoquées par des bacté-

ries gram-négatives, des staphylocoques et *Corynebacterium pyogenes*. Cependant, la littérature indique que les antibiotiques de type aminoglycoside sont efficaces contre des germes gram-positifs également (souches *staphylococcus aureus*,
5 *Staphylococcus albus*, *Corynebacterium*, espèces *Aerobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Neiseria*, *Pasteurella*).

L'utilisation seule ou en association de la streptomycine et de la néomycine est largement répandue dans l'art vétérinaire, pour traiter des infections de diverses natures.

10 La streptomycine seule ou en association avec la pénicilline (*Stredipen inj.*) est utilisée principalement pour le traitement parentéral des maladies respiratoires.

L'association de la néomycine avec l'oxytétracycline sert au traitement de la mastite et elle est enfermée
15 dans des capsules, disponibles pour l'application intrautérine.

L'utilisation parentérale de la néomycine est limitée en raison de ses propriétés néphrotoxiques. Elle peut provoquer une azotémie et une oligurie (*Deutsche Med. Wschr.*
104, 1783-1787 (1979)).

20 La kanamycine seule ou en association avec la procaine-pénicilline, la dihydrostreptomycine, la néomycine est appliquée principalement par voie parentérale (im., iv., sc, intrautérine et intra-mammaire).

La principale gamme d'activité de la tobramycine et de la spectinomycine, concerne les éléments pathogènes
25 gram-négatifs (*E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*). Elles peuvent être appliquées à la fois par voie orale et parentérale.

Les indications de l'apramycine sont la colidiarrhée, l'oedème, la dysenterie porcine (*Antimicrob, Chemother*, 3, 609-613 (1977)), la rétention de la membrane foetale, la métrite, la pneumonie, le choléra de la volaille, des
30 maladies respiratoires et la coli-septicémie de la volaille. L'apramycine est efficace dans le traitement de la mastite
35 des vaches provoquée par des éléments pathogènes gram-négatifs

et gram-positifs et elle peut être utilisée pour le traitement du syndrome de MMA (métrite-mastite-agalaxie) des truies. Elle exerce un effet particulièrement important sur des souches *Pseudomonas* d'origine mastitique.

5 Des associations d'apramycine avec d'autres composés chimiothérapeutiques ont été mises au point en raison des schémas de résistance. Une telle association est décrite dans le brevet belge N° 886 765, dans lequel il est proposé des antibiotiques de type aminoglycoside (apramycine, tobramycine, 10 nébramycine) avec des macrolides (tylosine, spiramycine, oléandomycine) contre la colibacillose et des infections dues au *Mycoplasma*.

La demanderesse a étudié l'effet des antibiotiques de type aminoglycoside et de la tiamuline vis à vis des souches 15 pathogènes cultivées à partir d'animaux malades. La présente invention repose sur la constatations selon laquelle, en appliquant du fumarate acide de tiamuline en combinaison avec un antibiotique de type aminoglycoside (streptomycine, néomycine, kanamycine, tobramycine, spectinomycine, apramycine, 20 gentamycine), le spectre d'activité des composants est élargi et de plus, il se développe une interaction plus qu'additive, c'est-à-dire synergique et il en résulte des concentrations antibactériennes étonnamment faibles des composants.

La présente invention fournit donc de nouvelles 25 compositions antibiotiques synergiques utiles pour le traitement des infections respiratoires ou urinaires et de la septicémie des animaux domestiques, comprenant le fumarate acide de tiamuline antibiotique et un antibiotique de type aminoglycoside ou un sel acceptable du point de vue pharmaceutique 30 de celui-ci, selon un rapport pondéral de 5:1 à 1:5, mélangés à des supports inertes non-toxiques utilisés dans l'art vétérinaire.

L'activité synergique des combinaisons conformes à la présente invention peut être mise en évidence dans des 35 titrages microbiologiques. Pour faciliter la compréhension, on

utilise les mêmes isolats d'agents pathogènes comme organismes d'essai. On détermine les concentrations d'inhibition minimales (CIM) et les concentrations bactéricides minimales (CBM) de la tiamuline et des aminoglycosides.

5 Les Tableaux suivants fournissent les données de l'étude microbiologique et prouvent la synergie.

Ainsi que cela est montré dans les Tableaux, on contrôle tous les organismes d'essai à des concentrations fortement réduites, dans le cas où l'une quelconque des combinaisons de tiamuline-aminoglycoside est mise en oeuvre. Le
15 facteur d'augmentation de l'effet antimicrobien est de 4 à 8 fois et il peut atteindre une valeur de 200 à 400 fois in vitro. Cela signifie que le développement des souches est inhibée, même lorsque les doses sont considérablement rédui-
20 tes.

TABLEAU I
Augmentation de l'activité antibactérienne d'une combinaison 1 : 1 en poids
de tiamuline et de streptomycine

Organisme d'essai	Tiamuline		Streptomycine		Combinaison		Facteur d'augmentation
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	
Staphylococcus aureus	25	100	10	25	5	5	4-40 x
E. coli (porc)	50	100	100	>200	50	>200	2-4 x
E. coli (veau)	>200	>200	200	>200	50	>200	2-8 x
Salmonella typhi-murium	200	>200	50	200	50	>200	2-8 x
Pasteurella multocida	25	25	25	25	10	25	2-5 x

TABLEAU II

Augmentation de l'activité antibactérienne d'une combinaison 1 : 1 en poids
de tiamuline et de néomycine

Organisme d'essai	Tiamuline		Neomycine		Combinaison		Facteur d'augmentation
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	
Staphylococcus aureus	25	100	10	25	1	5	10-50 x
E. coli (porc)	50	100	5	10	5	5	2-40 x
E. coli (veau)	>200	>200	>200	>200	100	200	2-4 x
Salmonella typhi-murium	200	>200	10	25	5	5	4-80 x
Pasteurella multocida	25	25	1	5	<0.5	<0.5	4-100 x

TABLEAU III

Augmentation de l'activité antibactérienne d'une combinaison 1 : 1 en poids
de tiamuline et de kanamycine

Organisme d'essai	Tiamuline		Kanamycine		Combinaison		Facteur d'augmentation
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	100	10	10	1	1	20-200 x
<i>E. coli</i> (PORC)	50	100	10	25	5	5	4-40 x
<i>E. coli</i> (veau)	>200	>200	>200	>200	50	100	4-8 x
<i>Salmonella typhi-murium</i>	200	>200	25	50	1	5	20-400 x
<i>Pasteurella multocida</i>	25	25	5	5	<0.5	<0.5	20-100 x

2561920

TABLEAU IV

Augmentation de l'activité antibactérienne d'une combinaison 1 : 1 en poids
de tiamuline et de tobramycine

Organisme d'essai	Tiamuline		Tobramycine		Combinaison		Facteur d'augmentation
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	100	<0.5	1	<0.5	1	2-200 x
<i>E. coli</i> (porc)	50	100	1	5	1	5	2-100 x
<i>E. coli</i> (veau)	>200	>200	5	10	5	10	2-80 x
<i>Pasteurella multocida</i>	25	25	1	5	1	5	2-50 x
<i>Salmonella typhi-murium</i>	200	>200	5	10	1	5	1-400 x

2561920

TABLEAU V

Augmentation de l'activité antibactérienne d'une combinaison 1 : 1 en poids
de tiamuline et de spectinomycine

Organisme d'essai	Tiamuline		Spectinomycine		Combinaison		Facteur d'augmentation
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	
Staphylococcus aureus	25	100	100	200	1	10	20-200 x
E. coli (porc)	50	100	25	25	1	25	2-20 x
E. coli (veau)	>200	>200	>200	>200	50	>200	2-8 x
Salmonella thyphi-murium	200	>200	50	200	50	100	2-8 x
Pasteurella multocida	25	25	10	25	5	10	4-10 x

TABLEAU VI

Augmentation de l'activité antibactérienne d'une combinaison 1 : 1 en poids
de tiamuline et d'apramycine

Organisme d'essai	Tiamuline		Apramycine		Combinaison		Facteur d'augmentation
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	
Staphylococcus aureus	25	100	10	25	1	5	10-50 x
E. coli (porc)	50	100	25	25	5	10	5-20 x
E. coli (veau)	>200	>200	>200	>200	5	10	40-80 x
Salmonella typhi-murium	200	>200	10	10	5	5	4-80 x
Pasteurella multocida	25	25	10	25	<0.5	<0.5	40-100 x

2561920

TABLEAU VII

Augmentation de l'activité antibactérienne d'une combinaison 1 : 1 en poids
de tiamuline et de gentamycine

Organisme d'essai	Tiamuline		Gentamycine		Combinaison		Facteur d'augmentation
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	100	0.5	5	<0.5	5	2-100 x
<i>E. coli</i> (porc)	50	100	5	5	5	5	2-40 x
<i>E. coli</i> (veau)	>200	>200	5	5	5	5	2-80 x
<i>Salmonella typhi-murium</i>	200	200	5	5	5	5	2-80 x
<i>Pasteurella multocida</i>	25	25	<0.5	1	<0.5	5	2-100 x

Les préparations de la présente invention peuvent être appliquées à des doses inférieures et plus économiques, grâce à leurs propriétés synergiques. Comme la gamme du spectre d'activité est élargie, des combinaisons peuvent être
5 utilisées avec profit pour traiter des maladies respiratoires et gynécologiques dues au mycoplasma et des complications bactériennes secondaires.

Les combinaisons conformes à la présente invention offrent un autre avantage en ce que la possibilité
10 d'un développement d'effets secondaires toxiques est réduite, ainsi que la période d'arrêt nécessaire pour empêcher la présence de résidus médicamenteux dans les tissus comestibles. Ces avantages découlent des doses réduites d'aminoglycosides dans les combinaisons.

15 Les préparations conformes à la présente invention peuvent être produites selon des techniques connues, c'est-à-dire que les ingrédients actifs sont mélangés ou dissous dans des supports utilisés dans l'art vétérinaire.

La formulation de la préparation est choisie
20 en fonction du cas donné. Elle peut être appliquée par voie orale, mélangée à la nourriture ou à l'eau de boisson, principalement dans des unités de grande dimension, ou par voie parentérale pour un traitement individuel ou de masse.

L'application parentérale peut être intra-
25 musculaire, intrautérine ou intra-mammaire. La préparation à usage parentéral est répandue sur un support, de préférence du lactose, selon un rapport pondéral de 1:1 à 1:50, puis elle est dissoute dans un solvant convenable, de préférence de l'eau, du diméthylformamide ou une huile végétale, selon
30 un rapport pondéral de 1:1 à 1:25. Une dose orale de 10 mg/kg de poids corporel de cette combinaison de fumarate acide de tiamuline et d'un antibiotique de type aminoglycoside, convient pour la prévention et le traitement de la gastroentérite provoquée par des agents gram-négatifs.

35 On peut obtenir des effets favorables avec des

préparations administrées par voie orale dans des cas d'infection par l'E. coli, Klebsiella et Salmonella également.

La préparation administrée par voie i.m. à dose de 10 mg/kg de poids corporel peut servir à guérir une
5 bronchopneumonie et des infections dues aux Pasteurellosis, listeriosis et staphylococcus chez toutes les espèces d'animaux.

Une dose de 5,0 g/animal donnée par voie intrautérine peut servir à la prévention de la métrite consé-
10 cutive au vélage ou à la guérison de la rétention de la membrane foetale.

Une dose de 0,5 g d'ingrédient/pis, perfusée par voie intra-mammaire, prévient non seulement la mastite due aux bactéries gram-positives et gram-négatives, mais
15 aussi d'origine mycoplasmaïque.

Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions qui ressortiront de la description qui va suivre.

L'invention sera mieux comprise à l'aide du
20 complément de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en oeuvre du procédé, objet de la présente invention.

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples de mise en oeuvre sont donnés uniquement à titre
25 d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

Exemple 1

On met 2,5 g de fumarate acide de tiamuline et 2,5 g de sulfate de streptomycine dans une capsule intra-
30 utérine. On introduit une capsule par jour dans l'utérus des vaches.

25 vaches sont traitées immédiatement après le vélage. Il apparaît une rapide involution et l'arrêt de l'épanchement utérin dans les 24 heures.

Exemple 2

On dissout 0,1 g de fumarate acide de tiamuline et 0,5 g de sulfate de néomycine dans 10 ml d'eau distillée pour injection.

5 Cette solution est perfusée par voie intramammaire, une fois par jour par le canal du trayon dans un pis soigneusement vidé de son lait.

Cinq vaches laitières souffrant de mastite sont traitées avec 10 ml de cette préparation pendant 3 jours.
10 L'antibiotique est perfusé dans la mamelle par le trayon. L'état clinique et la sécrétion sont devenus normaux. Le résultat de l'examen microbiologique est négatif.

Exemple 3

On dissout 1,0 g de fumarate acide de tiamuline et 0,2 g de sulfate de kanamycine dans 10 ml d'eau pour
15 injection.

Cette solution est injectée par voie intramusculaire une fois par jour à la dose de 1 ml par 10 kg de poids corporel.

20 On traite pendant 3 jours par voie intramusculaire 15 porcelets sevrés (poids corporel moyen : 12 à 15 kg) souffrant de dermatite pyogénique. La peau des animaux est guérie une semaine après le dernier traitement et les croutes ont disparu.

25 Exemple 4

On homogénéise 200,0 g de fumarate acide de tiamuline, 100,0 g de sulfate d'apramycine et 700,0 g de lactose, puis on dissout 0,2 g de la préparation dans 1 litre d'eau de boisson des animaux. Le traitement est poursuivi pen-
30 dans 5 jours.

350 pourceaux, souffrant de dysenterie porcine, sont traités avec la préparation dissoute dans l'eau de boisson. Les animaux acceptent facilement l'eau traitée avec le médicament. Les signes de "diarrhées sanglants" disparaissent
le deuxième jour, et l'état clinique des animaux devient normal

le quatrième jour du traitement.

Exemple 5

On homogénéise 1600,0 mg de fumarate acide de tiamuline, 400,0 mg de sulfate de gentamycine et 3000,0 mg de lactose. On dissout 5 g de la préparation soluble dans l'eau ainsi obtenue, dans 100 ml d'eau du robinet.

45 porcelets dans 5 cochonées sont infectés par la diarrhée due à E. coli. On applique par voie orale à ces porcelets, une dose de 0,5 ml/kg de poids corporel de la solution ci-dessus à l'aide d'une seringue sans aiguille. Tous les porcelets deviennent en bonne santé après un traitement.

Exemple 6

On homogénéise 300,0 mg de fumarate acide de tiamuline et 100,0 mg de sulfate de tobramycine dans 10,0 ml d'huile pour injection.

10 vaches laitières souffrant de mastite d'origine infectieuse mélangée (Straptococcus, Pseudomonas), sont traitées avec cette préparation, perfusée dans la mamelle complètement vidée de son lait, par le trayon, une fois par jour. La mamelle et le lait deviennent normaux. On ne détecte aucun agent pathogène dans des échantillons de lait recueillis une semaine après le dernier traitement.

Exemple 7

On homogénéise 20,0 g de fumarate acide de tiamuline et 10,0 g de spectinomycine, dans 70,0 ml d'huile pour injection.

24 veaux souffrant de diarrhée due à E. coli sont traités par voie intramusculaire avec cette préparation, à la dose de 1 ml/10 kg de poids corporel pendant 3 jours. La diarrhée disparaît après la première injection et la consommation de lait augmente.

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en oeuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être

décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse au contraire toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée de la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Composition antibiotique synergique utile pour le traitement des infections respiratoires ou urinaires et la septicémie des animaux domestiques, caractérisée en ce
5 qu'elle comprend le fumarate acide de tiamuline antibiotique et un antibiotique de type aminoglycoside ou un sel acceptable du point de vue pharmaceutique de celui-ci, en un rapport pondéral de 5:1 à 1:5, mélangés avec des supports inertes, non-toxiques utilisés dans l'art vétérinaire.
- 10 2. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce que l'antibiotique de type aminoglycoside est choisi dans le groupe comprenant la streptomycine, la néomycine, la kanamycine, la tobramycine, la spectinomycine, l'apramycine et la gentamycine.
- 15 3. Composition suivant la revendication 1 pour le traitement de la mastite, caractérisée en ce qu'elle comprend la composition antibiotique en une quantité de 150 à 500 mg/pis.
- 20 4. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend la composition antibiotique en une quantité de 2,5 à 5,0 mg/kg de poids corporel, pour l'application intrautérine.
5. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce que le support est du lait en poudre.
- 25 6. Composition suivant la revendication 5, caractérisée en ce que les ingrédients actifs et le lait en poudre sont utilisés en un rapport pondéral de 5:1 à 1:5.
7. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce qu'un diluant liquide acceptable du point de
30 vue pharmaceutique, de préférence de l'eau, des huiles végétales ou du diméthylformamide, est utilisé comme support.
8. Composition suivant la revendication 7, caractérisée en ce que les ingrédients actifs et le diluant liquide sont utilisés en un rapport pondéral de 1:10 à 1:25.
- 35 9. Procédé de préparation d'une nouvelle composi-

tion synergique antibiotique utile pour le traitement des infections respiratoires et urinaires et de la septicémie des animaux domestiques, caractérisé en ce qu'on mélange le fumarate acide de tiamuline antibiotique avec un antibiotique
5 de type aminoglycoside ou un sel acceptable du point de vue pharmaceutique de celui-ci, en un rapport pondéral de 5:1 à 1:5 et avec des supports inertes, non-toxiques utilisés dans l'art vétérinaire.

10 10. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que l'antibiotique de type aminoglycoside est choisi dans le groupe comprenant la streptomycine, la néomycine, la kanamycine, la tobramycine, la spectinomycine, l'apramycine et la gentamycine.