



N° 897.927

Classif. Internat.:

C 12N/C 07B

Mis en lecture le:

30 -01- 1984

LE Ministre des Affaires Economiques,

*Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;**Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle;**Vu le procès-verbal dressé le 5 octobre 1983 à 14 h. 26*

au greffe du Gouvernement provincial de Liège

ARRÊTE :

Article 1. - Il est délivré à la Sté dite : INSTITUT VIRION AG,
Weingartenstrasse 9, CH-8803 Rüschlikon (Suisse)

repr. par l'Office de Brevet E. Dellicour à Liège

un brevet d'invention pour: Complément de couches nourricières pour la
culture de *Campylobacter jejuni*

qu'elle déclare avoir fait l'objet d'une demande de brevet
déposée en Allemagne (République Fédérale) le 20 octobre
1982, n° P 32 38 819.5

Article 2. - Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 28 octobre 1983

PAR DELEGATION SPECIALE:

Le Directeur

L. WUYTS

897927



Mémoire descriptif déposé à l'appui d'une demande de

B R E V E T D ' I N V E N T I O N

au nom de :

Société dite : INSTITUT VIRION AG

pour :

"Complément de couches nourricières pour la culture de
Campylobacter jejuni".

Convention Internationale : priorité d'une demande de
brevet déposée en ALLEMAGNE FEDERALE le 20 octobre 1982
sous le n° P 32 38 819.5.

La présente invention concerne un complément de couches nourricières pour la culture sélective de *Campylobacter jejuni*, lequel complément contient au moins une substance antimicrobienne efficace.

5 Depuis quelques années, on sait que l'espèce bactérienne *Campylobacter* joue un rôle important à l'origine des gastro-entérites. En particulier, le genre *Campylobacter faetus* Subsp. *jejuni*, que l'on appellera ci-après plus simplement *Campylobacter jejuni*, a été découvert comme étant
10 particulièrement dangereux pour l'homme et de nombreux animaux. Il est par conséquent nécessaire de mettre *Campylobacter jejuni* en culture sélective dans le but d'un diagnostic et/ou de l'examen des médicaments ou respectivement de la résistance.

15 Pour éviter autant que possible que sur une couche nourricière bactériologique, d'autres micro-organismes, outre *Campylobacter jejuni*, ne se reproduisent de façon importante, on a déjà mélangé aux couches nourricières utilisées des substances anti-microbiennes efficaces déterminées, contre lesquelles
20 *Campylobacter jejuni* présente une résistance élevée par rapport à d'autres micro-organismes. On connaît les compléments à mélanger aux couches nourricières qui contiennent, par exemple, une ou plusieurs des substances antimicrobiennes efficaces qui suivent : Polymycine, Rifampicine, Triméthoprim ,
25 Actidion, Colistine, Bacitracine, Novobiocine, Cycloheximide, Céphazoline, Amphotéricine.

La présente invention a pour conséquent pour tâche de créer un complément de la sorte ci-dessus dont l'effet sélectif pour favoriser *Campylobacter jejuni* est considérable-
30 ment meilleur que celui des compléments de cette sorte connus

jusqu'à maintenant.

Le complément selon l'invention, permettant de résoudre la tâche indiquée ci-dessus, se différencie de compléments connus de la sorte ci-dessus par le fait qu'il y
5 a, comme substance antimicrobienne efficace, du Céfopérazon.

Jusqu'à maintenant, l'on n'a encore jamais utilisé de Céfopérazon comme substance antimicrobienne efficace dans des compléments pour des couches nourricières pour la
10 culture sélective de *Campylobacter jejuni*. On a pu montrer que Céfopérazon pouvait produire un effet sélectif antimicrobien particulièrement valable dans le sens souhaité.

De façon utile, le complément selon l'invention contient, comme substances antimicrobiennes efficaces,
15 outre Céfopérazon, de la Rifampicine et avantageusement également de l'Amphotéricine B et de la Colistine.

Le complément est utilisé, selon une autre forme de l'invention, en mélange avec une couche nourricière bactériologique pour la culture sélective de *Campylobacter jejuni* de
20 façon que pour 1 ml du mélange total, il y ait environ 15 µg de Céfopérazon et environ 10 µg de Rifampicine et le cas échéant de plus, environ 2 µg d'Amphotéricine B et environ 10 U.I. de Colistine. Une telle composition permet une très bonne croissance de *Campylobacter jejuni*, tandis que la
25 croissance de la flore non souhaitée qui l'accompagne est empêchée de façon importante. De ce fait, l'isolement de l'excitateur pathogène *Campylobacter jejuni* est considérablement facilité.

Une bonne solubilité dans l'eau est un autre avantage
30 du complément selon l'invention.

L'invention sera mieux expliquée en se référant aux exemples qui suivent :

EXEMPLE 1 :

Dans une couche nourricière bactériologique usuelle,
35 se composant d'un litre d'agar de Colombie et de 50 ml de

sang de brebis, on a mélangé un complément contenant trois parties en poids de Céfopérazon et deux parties en poids de Rifampicine. La concentration a été choisie de façon que pour environ 1 ml du mélange total, il y ait 15 µg de Céfopérazon et environ 10 µg de Rifampicine. Ce mélange pour couche nourricière sera désigné ci-après par "1-A".

Pour une comparaison avec l'état de la technique, on a préparé un deuxième mélange pour couche nourricière désigné ci-après par "1-B", présentant la composition qui suit : 1 litre d'agar de Colombie, 50 ml de sang de brebis et un complément particulièrement recommandé jusqu'à maintenant, contenant, pour 1 ml du mélange total, 25 U.I. de Bacitracine, 50 µg de Cycloheximide, 10 U.I. de Colistine, 15 µg de Céphazoline et 6 µg de Novobiocine.

759 boîtes stériles de Pétri ont été garnies du mélange pour couche nourricière 1-A et le même nombre de boîtes stériles de Pétri a été garni du deuxième mélange pour couches nourricière 1-B. Ensuite, la totalité des boîtes a été incubée à la façon habituelle dans les recherches bactériologiques, avec des échantillons d'une même selle humaine, puis on a laissé toutes les boîtes au repos à 37°C dans une atmosphère se composant de 85 % d'azote, 10 % de gaz carbonique et 5 % d'oxygène.

Au bout de 20 heures, on a pu établir, dans 55 boîtes (= 7,24%) contenant le mélange pour couche nourricière 1-A et dans 56 boîtes (= 7,37 %) contenant le mélange pour couches nourricière 1-B, la présence de *Campylobacter jejuni*. Ainsi, on peut obtenir, avec le complément contenu dans le mélange pour couche nourricière 1-A selon l'invention, pratiquement la même bonne croissance de *Campylobacter jejuni* que celle obtenue avec le complément connu contenu dans le deuxième mélange pour couche nourricière 1-B. Cependant, des différences se sont montrées lors de la croissance de la flore d'accompagnement. L'on n'a pu établir que dans 65 % des boîtes une croissance à peu près aussi forte de la flore d'accompagnement dans les mélanges pour couche nourricière 1-A et

1-B. 15 % de toutes les boîtes ont montré une croissance accrue de la flore d'accompagnement dans le mélange pour couche nourricière 1-A tandis que 20 % de toutes les boîtes ont laissé reconnaître une croissance augmentée de la flore d'accompagnement dans la deuxième couche nourricière 1-B.

Les isolements entrepris à la façon habituelle, ont conduit, en ce qui concerne la flore d'accompagnement, aux résultats qui suivent : sur le mélange pour couche nourricière 1-A, il s'est révélé, après le premier isolement 10 %, après deux isolements 3 % et après trois isolements 2 % de toutes les boîtes, une plus forte croissance de la flore d'accompagnement, principalement des levures et des bactéries de E.Coli. Par contre, avec le mélange pour couche nourricière 1-B, il s'est révélé, après le premier isolement 13 %, après deux isolements 3 % et après trois isolements 4 % de toutes les boîtes une plus forte croissance de la flore d'accompagnement, principalement des coques et Pseudomonas.

On reconnaît que sur le mélange pour couche nourricière contenant le complément selon l'invention, le germe pathogène Campylobacter jéjuni peut être mieux séparé de la flore l'accompagnant que sur le mélange pour couche nourricière contenant le complément connu 1-B, tandis qu'évidemment le complément selon l'invention exerce un effet antimicrobien plus fort sur la flore d'accompagnement que le complément connu, sans influencer la croissance de Campylobacter.

EXEMPLE 2.

Dans une couche nourricière bactériologique se composant d'un litre d'agar de Colombie et de 50 ml de sang de brebis, on a mélangé un complément qui contenait les substances antimicrobiennes efficaces selon l'invention Céfopérazon, Rifampicine, Amphotéricine B et Colistine. La concentration était telle que pour 1 ml du mélange total,

il y ait environ 15 µg de Céfopérazon, 10 µg de Rifampicine, 2 µg d'Amphotéricine B et 10 U.I. de Colistine. Ce mélange pour couche nourricière sera désigné ci-après par "2-A".

5 Pour une comparaison avec l'état de la technique, on a de nouveau utilisé le mélange pour couche nourricière 1-B indiqué à l'exemple 1.

15 1570 boîtes stériles de Pétri ont été garnies du mélange pour couche nourricière 2-A et le même nombre de boîtes stériles de Pétri a été garni du mélange pour couche nourricière connu 1-B. Ensuite, toutes les boîtes ont été incubées à la façon habituelle, avec des échantillons d'une selle humaine, et ensuite, on a laissé reposer toutes les boîtes dans une atmosphère se composant de 85 % d'azote, 10 % de gaz carbonique et 5 % d'oxygène, à 37°C.

15 Au bout de 18 heures, on a pu établir, dans 148 boîtes (= 9,42 %) avec le mélange pour couche nourricière 2-A et dans 146 boîtes (= 9,29 %) avec le mélange connu pour couche nourricière 1-B, l'augmentation de *Campylobacter jejuni*. Ainsi, le complément selon l'invention contenu dans 20 le mélange pour couche nourricière 2-A n'a pas d'influence néfaste sur la croissance de *Campylobacter jejuni*, en comparaison au complément connu dans le mélange pour couche nourricière 1-B.

25 Cependant, des différences de croissance de la flore d'accompagnement sont encore plus remarquables que dans le cas de l'exemple 1. Dans 71,6% des boîtes avec le mélange pour couche nourricière 2-A, l'on n'a pu établir aucune croissance de la flore d'accompagnement, tandis que cela n'était le cas que pour 47,5 % des boîtes avec le mélange pour couche 30 nourricière connu 1-B. Dans les 28,4 % des boîtes restantes avec le mélange pour couche nourricière 2-A, il s'est montré une flore d'accompagnement, dans le premier quadrant à 23,1 % dans le deuxième quadrant à 3,6 %, dans le troisième quadrant à 1,0 % et dans le quatrième quadrant à 0,7 % de toutes les 35 boîtes ayant le mélange pour couche nourricière 2-A. Par

contre, on a établi, pour 54,3 % des boîtes contenant le mélange pour couche nourricière connu 1-B, une croissance de la flore d'accompagnement, et à 37,6 % dans le premier quadrant à 10,0 % dans le deuxième quadrant à 2,9 % dans le troisième quadrant et à 3,8 % dans le quatrième quadrant pour toutes les boîtes avec le mélange pour couche nourricière 1-B.

Il est clair que la culture sélective recherchée de *Campylobacter jejuni* est considérablement plus efficace avec le mélange pour couche nourricière 2-A contenant le complément selon l'invention qu'avec le mélange pour couche nourricière connu 1-B, tandis que le complément selon l'invention est mieux adapté à diminuer la croissance de la flore d'accompagnement que le complément connu.

Le complément décrit à l'exemple 2 contenant les substances antimicrobiennes efficaces Céfopérazon, Rifampicine, Amphotéricine B et Colistine s'est révélé également plus efficace, dans le sens souhaité que le complément décrit à l'exemple 1, qui ne contenait que Céfopérazon et Rifampicine. Par conséquent, le complément selon l'invention indiqué à l'exemple 2 est préféré.

Mais la présente invention concerne tous les compléments pour des couches nourricières permettant la culture sélective de *Campylobacter jejuni*, qui contiennent Céfopérazon et le cas échéant d'autres substances antimicrobiennes efficaces.

RE V E N D I C A T I O N S

1. Complément pour couches nourricières pour la culture sélective de *Campylobacter jejuni*, ledit complément contenant au moins une substance antimicrobienne efficace caractérisé en ce qu'en tant que substance antimicrobienne efficace, il y a du Céfopérazon.

2. Complément selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il contient, comme substances antimicrobiennes efficaces, outre Céfopérazon, de la Rifampicine.

3. Complément selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il contient, pour trois parties en poids de Céfopérazon, environ deux parties en poids de Rifampicine.

4. Complément selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il contient, comme substances antimicrobiennes efficaces, outre Céfopérazon, de la Rifampicine et de l'Amphotéricine B.

5. Complément selon la revendication 4, caractérisé en ce qu'il contient, pour quinze parties en poids de Céfopérazon, environ dix parties en poids de Rifampicine et environ deux parties en poids d'Amphotéricine B.

6. Complément selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il contient, comme substances antimicrobiennes efficaces, outre Céfopérazon, de la Rifampicine, de l'Amphotéricine B et de la Colistine.

7. Complément selon la revendication 6, caractérisé en ce que les substances antimicrobiennes efficaces sont présentes aux proportions qui suivent :

Céfopérazon	10 - 20 µg
Rifampicine	7 - 13 µg
Amphotéricine B	1 - 3 µg
Colistine	5 - 15 U.I.

8. Complément selon la revendication 6, caractérisé en ce que les substances antimicrobiennes efficaces sont présentes quelque peu aux proportions qui suivent :

897937

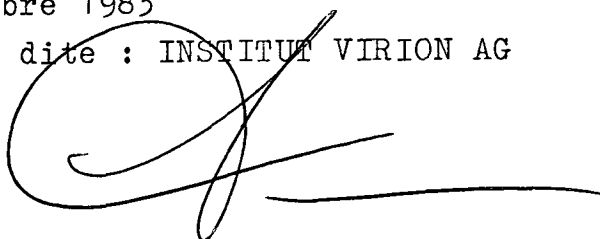
9

Céfopérazon	15 µg
Rifampicine	10 µg
Amphotéricine B	2 µg
Colistine	10 U.I.

- 5 9. Complément selon la revendication 1, utilisé en mélange avec une couche nourricière bactériologique pour la culture sélective de *Campylobacter* caractérisé en ce qu'on utilise, pour 1 ml du mélange total, environ 15 µg de Céfopérazon.
- 10 10. Complément selon la revendication 2, en mélange avec une couche nourricière bactériologique pour la culture sélective de *Campylobacter* caractérisé en ce que l'on utilise, pour 1 ml du mélange total, environ 15 µg de Céfopérazon et environ 10 µg de Rifampicine.
- 15 11. Complément selon la revendication 6 utilisé en mélange avec une couche nourricière bactériologique pour la culture sélective de *Campylobacter* caractérisé en ce que l'on utilise, dans 1 ml du mélange total, environ 15µg de Céfopérazon, environ 10 µg de Rifampicine, environ 2µg
- 20 d'Amphotéricine et environ 10 U.I. de Colistine.

Liège, le 5 octobre 1983

P. pon : Société dite : INSTITUT VIRION AG

A large, stylized handwritten signature in dark ink, consisting of a large loop followed by a horizontal stroke.