



MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

NUMERO DE PUBLICATION : 1000875A3

NUMERO DE DEPOT : 8800997

Classif. Internat.: A61L A61G

Date de délivrance : 02 Mai 1989

**Le Ministre des Affaires Economiques,**

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d' invention, notamment l' article 22;

Vu l' arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d' invention, notamment l' article 28;

Vu le procès verbal dressé le 01 Septembre 1988 à 10h55  
à l' Office de la Propriété Industrielle

**ARRETE:**

ARTICLE 1.- Il est délivré à : GLAVERBEL  
chaussée de la Hulpe 166, 1170 BRUXELLES(BELGIQUE)

représenté(e)(s) par : VANDENBERGHEN Lucienne, GLAVERBEL S.A., Chaussée de la Hulpe, 166 - 1170 BRUXELLES.

un brevet d' invention d' une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : MICROBILLES DE VERRE A PROPRIETES BACTERIOSTATIQUES, PROCEDE DE FABRICATION DE TELLES MICROBILLES.

INVENTEUR(S) : Delzant Marcel, rue Séraphin Antoine 97, 6100 Charleroi (BE)

Priorité(s) 07.09.87 LU LUA 86987

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l' invention, sans garantie du mérite de l' invention ou de l' exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 02 Mai 1989  
PAR DELEGATION SPECIALE :

W. L. L.  
Directeur

Microbilles de verre à propriétés bactériostatiques et procédé de fabrication de telles microbilles

La présente invention concerne des microbilles de verre à propriétés bactériostatiques, leur procédé de fabrication et leur application dans les lits fluidisés d'hôpitaux destinés au traitement des brûlés.

Les propriétés bactériostatiques et bactéricides d'un certain nombre de produits de synthèse ou naturels ont été étudiées de longue date et certains de ceux-ci font partie de la pharmacopée traditionnelle tels les anti-biotiques ou les désinfectants.

Depuis quelques années sont apparus dans les hôpitaux, des lits spéciaux pour le traitement des personnes atteintes de brûlures graves qui comprennent une literie fluidisée c'est à dire un matelas ou des coussins formés de particules mises en fluidisation dans un gaz tel que l'air et maintenues en place sous une toile perméable au gaz. Parfois, le lit est aussi simplement constitué d'une cuve en acier contenant les fines particules solides. Le socle comprend une soufflerie qui aspire de l'air de la pièce au travers d'un filtre. Cet air est comprimé et réchauffé à une température de l'ordre de 31 à 38°C. L'air pénètre dans la couche de fines particules, épaisse de 25 cm environ, et les met en fluidisation. Les particules sont emprisonnées dans une toile, par exemple en polyester, perméable au gaz. Les liquides qui s'écoulent du patient forment avec certaines particules des agglomérats que l'on retire périodiquement à l'aide d'un tamis placé au fond de la cuve.

Il est évident qu'une telle literie ne peut contenir ou favoriser la présence de souches microbiennes ou de bactéries. C'est pourquoi, selon la demande de brevet FR 2.523.841, on a proposé d'ajouter à des particules telles que des microbilles de verre formant le milieu fluidisé, des particules d'une autre matière ayant des propriétés bactéricides. Ces particules sont des particules de métal tel que le calcium, le magnésium, l'aluminium, le bismuth ou des particules de silicium. Outre la complexité que constitue le choix de la granulométrie de telles particules pour les rendre fluidisables sans ségrégation avec les microbilles de verre, il va sans dire qu'une telle solution présente un danger d'utilisation certain (danger d'inflammation en présence d'humidité, d'un point chaud ou même à température ambiante pour le calcium). Il s'avère préférable de trouver d'autres moyens pour conférer à ladite literie des propriétés bactéricides ou bactériostatiques, qui soient plus simples et plus sûrs.

## 2.

Selon la présente invention, des microbilles de verre sont caractérisées en ce qu'elles portent un revêtement de protéines, liées au verre de façon covalente, et qui confèrent à ces billes des propriétés bactériostatiques.

5 La présente invention répond ainsi à la demande de literies à propriétés bactéricides et bactériostatiques puisqu'elle permet, entre autres, de mettre dans les lits fluidisés d'hôpitaux, une seule espèce de particules: des microbilles de verre qui possèdent par elles-mêmes des propriétés bactériostatiques et qui peuvent être recyclées et régénérées.

10 Les microbilles selon l'invention, auxquelles sont fixées de manière covalente des protéines qui leur assurent un pouvoir bactériostatique conservent leurs propriétés au cours du temps: ces propriétés sont maintenues si les billes sont stockées dans de bonnes conditions (emballage hermétique, sec) pendant plusieurs mois avant utilisation et conservent leur pouvoir bactériostatique pendant une durée compatible avec leur utilisation dans les lits fluidisés, c'est à dire  
15 pendant plusieurs jours voire plusieurs semaines d'exposition à l'air. Ce pouvoir bactériostatique est maintenu lorsque les billes sont dans une atmosphère humide ou lorsqu'elles sont soumises à une température modérée (par exemple inférieure à 60 ou 70°C). Le pouvoir bactériostatique est préservé même lorsque les billes sont soumises entre elles à de l'abrasion lors de leur manutention et manipulation. On  
20 pense que ceci est dû à la liaison covalente qui existe entre les protéines et le verre. De façon tout à fait inattendue, on constate que malgré que les dites protéines soient fixées au verre par un lien covalent, celles-ci conservent leurs propriétés et sont capables de conférer celles-ci aux microbilles qui les supportent.

25 Comme indiqué déjà précédemment, nos microbilles présentent des propriétés bactériostatiques et dans de nombreux cas, elles sont aussi bactéricides, en fonction de la nature des protéines et de leur concentration. A titre d'exemple, il est très aisé de les rendre capables de tuer ou de limiter la croissance et la multiplication de bactéries telles que Escherichia Coli, Salmonellas, Pseudomonas, Légionellas et Staphylocoques dorés.

30 Les microbilles selon l'invention peuvent être utilisées en contact direct avec la peau, par exemple dans des pansements et dans ce cas on choisira de préférence un verre spécial biodégradable. On peut envisager aussi de fixer sur les microbilles des protéines qui les rendent actives, du point de vue bactéricide, dans le tube digestif des êtres humains et des animaux. On peut les utiliser aussi pour  
35 créer un milieu stérile hors de contact du corps, comme c'est le cas pour la literie fluidisée. Etant donné l'importance de cette dernière application, c'est surtout à celle-ci que se réfère la présente description mais il est entendu que notre inven-

tion ne se limite pas exclusivement à cette seule application.

Lorsque les microbilles selon l'invention ont été utilisées pendant un certain temps, il peut s'avérer nécessaire ou utile de régénérer celles-ci. Par exemple, il sera en général nécessaire de changer les microbilles dans un lit fluidisé pour traitement des brûlés lors d'un changement de patient. On peut facilement stériliser des microbilles usagées par traitement thermique. On peut par exemple les traiter à une température de l'ordre de 100°C pendant un temps suffisant. Ce traitement élimine aussi les protéines mais il est facile de recouvrir les billes d'un nouveau revêtement de protéines liées de manière covalente de sorte qu'elles soient réutilisables.

Dans les formes préférées de réalisation de l'invention, les microbilles ont une surface non-poreuse. L'adoption de cette caractéristique présente des avantages considérables au point de vue hygiénique. Tous fluides, corporels ou autres, qui entrent en contact avec des microbilles dont la surface est poreuse peuvent facilement y être adsorbés. Quoiqu'on puisse facilement stériliser cette matière adsorbée de la manière signalée ci-dessus, il est extrêmement difficile de l'éliminer de microbilles poreuses, de sorte qu'un risque de contamination persiste, même après stérilisation et fixation de protéines bactériostatiques sur les billes. Si le revêtement bactériostatique de microbilles poreuses venait à faillir, la matière adsorbée peut constituer un milieu de croissance fertile pour les microorganismes. Tel n'est pas le cas de microbilles à surfaces non poreuses. On a trouvé qu'une quantité très faible, sinon nulle de telle matière peut être adsorbée, et celle qui serait adsorbée est facilement éliminée pendant l'opération de stérilisation; de la sorte, il est possible de réutiliser les microbilles avec beaucoup moins de risque pour le patient. Des microbilles pourvues de surfaces non poreuses présentent en outre l'avantage sur des billes à surfaces poreuses, qu'elles sont en général plus faciles, et donc moins coûteuses, à produire.

De préférence, les protéines qui sont fixées aux microbilles de verre sont des enzymes. Le choix d'enzymes permet d'éliminer ou d'empêcher la croissance ou la multiplication de bactéries selon un mécanisme spécifique tout à fait sélectif permettant de créer in situ une entité nuisible aux bactéries. Les enzymes préférés pour l'application aux lits fluidisés sont les peroxydases qui catalysent l'oxydation de divers ions présents dans des liquides tels que plasma ou sérum en créant des entités bactéricides.

On peut fixer aux billes des protéines telles que la transferrine ou la myéloperoxydase mais on préfère toutefois choisir des protéines telles que la lactoferrine ou la lactoperoxydase. La lactoferrine capte les ions de fer et crée

ainsi un milieu impropre au développement des bactéries. La lactoperoxydase constitue avec un oxydant tel que le peroxyde d'hydrogène (fourni par le métabolisme ou par action de la glucose oxydase sur le glucose) et les ions  $\text{SCN}^-$ , un milieu contenant des ions  $\text{OSCN}^-$  qui détruisent les bactéries.

5 L'action des protéines bactériostatiques étant très efficace, il n'est nullement nécessaire de revêtir complètement la surface des billes au moyen de protéines. De préférence, ces protéines sont présentes à raison de moins de 0,1% en poids, vis à vis du poids du verre. Une quantité aussi faible que 0,05% en poids est efficace et il suffit souvent d'utiliser une quantité de 0,02%.

10 Comme indiqué précédemment, un grand avantage des microbilles selon l'invention réside dans le fait que celles-ci conservent leurs propriétés bactériostatiques ou bactéricides malgré les sollicitations mécaniques et thermiques qu'elles peuvent subir. Ceci est vraisemblablement lié à l'existence d'une liaison covalente entre les protéines et le verre. Pour faciliter l'accrochage  
15 covalent des protéines au verre, on préfère utiliser un agent de couplage capable de créer en surface du verre des sites d'accrochage préférentiels pour les groupements réactifs des protéines. Ces groupements réactifs sont constitués d'acides aminés. On peut utiliser comme agent de couplage, un titanate organique mais on préfère toutefois choisir un agent de couplage silané car la gamme des  
20 silanes offre un large choix de substances capables de réagir directement avec les acides aminés.

A titre de variante, il peut être préférable de fixer les protéines au moyen d'un silane et d'un second agent de couplage. Dans ce cas le silane crée une surface de verre aminée que l'on lie aux protéines par l'intermédiaire d'un  
25 couplage du type "Michael", à la glutaraldéhyde, du type amide, par exemple avec l'anhydride succinique ou du type azo, par exemple avec du chlorure de nitrobenzoyl. On peut aussi créer dans la chaîne de couplage, une liaison thioester qui a l'avantage de se couper facilement si l'on désire séparer les billes des protéines en vue d'un recyclage. Le couplage à la glutaraldéhyde est avantageux car il  
30 permet la fixation rapide au verre d'une large gamme de protéines ou d'enzymes différents.

De préférence, les microbilles selon l'invention sont hydrophobes. Cette propriété leur permet de garder leur intégrité en présence d'humidité ou de divers liquides physiologiques et permet surtout d'éviter qu'elles ne s'agglomèrent  
35 en présence de ces liquides. Les microbilles hydrophobes conformes à l'invention doivent de préférence leur caractère hydrophobe à la présence d'un revêtement de silicone. On choisit de préférence une silicone qui polymérise à la surface libre du

verre sans s'y fixer par des liaisons covalentes. On utilise par exemple un copolymère aminofonctionnel polydiméthylsiloxane tel que le produit Dow Corning MDX4-4159 qui polymérise à température ambiante ou modérée. Une telle silicone est compatible avec la présence des protéines et, de façon surprenante, ne modifie pas ou de façon négligeable, l'activité bactériostatique des microbilles vis à vis de microbilles identiques mais recouvertes de protéines seulement.

Les microbilles de verre selon l'invention sont des microbilles de verre pleines ou des microbulles creuses. Pour l'utilisation dans les lits fluidisés d'hôpitaux, il est préférable que ces microbilles aient une densité supérieure à 1 pour faciliter la sustentation du patient, quoique des microbilles creuses présentent l'avantage de nécessiter une plus faible quantité d'air de fluidisation, avec pour conséquence un dessèchement moindre de l'atmosphère de fluidisation.

On choisit de préférence des microbilles dont la répartition granulométrique est étroite, ce qui facilite leur fluidisation sans ségrégation. On choisit par exemple des microbilles de verre dont le diamètre se situe entre 65 et 110 microns. On peut utiliser des microbilles ayant un diamètre moyen qui se situe entre 80 et 100 microns et de préférence entre 85 et 90 microns. De telles billes ne nécessitent pas trop d'énergie pour leur fluidisation et ne sont pas susceptibles de traverser les mailles des toiles utilisées pour les lits d'hôpitaux fluidisés. On peut choisir, pour cette application particulière, des microbilles de verre pleines ou des microbulles creuses.

La présente invention couvre également des microbilles à propriétés bactériostatiques mises en suspension dans un gaz de fluidisation et s'étend à un lit pour le traitement des brûlés comprenant un système de fluidisation contenant des microbilles telles que définies ci-dessus.

La présente invention concerne encore un procédé pour conférer des propriétés bactériostatiques à des microbilles de verre caractérisé en ce que l'on fixe sur celles-ci un revêtement de protéines liées au verre de façon covalente. Un tel procédé présente l'avantage d'obtenir une matière particulaire finement divisée, aisément fluidisable qui possède et conserve des propriétés bactériostatiques efficaces. Le procédé comporte une étape au cours de laquelle les microbilles sont mises en contact avec des protéines par exemple sous forme de suspension ou de poudre.

Avantageusement, l'étape de mise en contact des microbilles avec les protéines est précédée d'une étape de fixation d'un agent de couplage à la surface du verre. L'agent de couplage est de préférence un silane qui se dépose aisément sur la surface du verre à partir d'une solution, d'une suspension ou d'une poudre, à

température ambiante. On peut ainsi greffer par exemple en surface du verre des fonctions aminées ou oxyrané susceptibles de réagir avec les acides aminés des protéines.

5 Dans certains cas, il peut être utile de traiter le verre avec un second agent de couplage. C'est le cas par exemple si la silanisation du verre crée à la surface de celui-ci des fonctions aminées. Dans ce cas, on fixe la protéine par l'intermédiaire d'un couplage du type "Michael" à la glutaraldéhyde, ou du type amide ou du type azo. Pour éviter la dénaturation des protéines, il est recom-  
10 mandé d'effectuer la fixation des protéines au verre en mettant celui-ci en contact avec un milieu contenant les dites protéines dont le pH ne dépasse pas 7. On choisit de préférence un milieu contenant les protéines dont le pH est compris entre 4 et 5.

De préférence, après avoir fixé les dites protéines au verre, on met les  
15 microbilles en contact avec un milieu contenant une silicone pour déposer ainsi de la silicone sur les billes. Les billes ainsi traitées sont hydrophobes et ne présentent aucune tendance à s'agglomérer. Le milieu contenant la silicone a de préférence un pH compris entre 4 et 5. Le dépôt de silicone se fait à température ambiante ou modérée. En général, pour ne pas dénaturer les protéines, il est recommandé de déposer et, le cas échéant polymériser, la silicone à une température qui ne  
20 dépasse pas 60 à 70°C.

Lorsque les microbilles ont été utilisées pendant un certain temps, par exemple lors du changement de patient dans un lit fluidisé pour traitement des brûlés, il peut s'avérer nécessaire de régénérer celles-ci. A cette fin, il est souhaitable de stériliser au préalable les billes usagées. Ces billes peuvent être stérilisées  
25 facilement par traitement thermique, par exemple en les traitant à une température de l'ordre de 100°C pendant plusieurs heures. Ce traitement élimine les protéines mais conserve la silicone à la surface du verre. Dès lors, l'invention s'étend aussi à un procédé pour restaurer des propriétés bactériostatiques de microbilles de verre caractérisé en ce que les microbilles qui ont été stérilisées par  
30 traitement thermique sont ensuite traitées par un procédé de fixation covalente de protéines tel que mentionné ci-dessus.

La présente invention sera expliquée plus en détails au moyen des exemples qui suivent.

#### Exemple 1

35 Des microbilles de verre pleines sodocalciques sont sélectionnées par tamisage de manière à éliminer les billes inférieures à 65  $\mu$  et supérieures à 106  $\mu$ . Le diamètre moyen (en poids) des billes sélectionnées est de 85  $\mu$ .

## 7.

On traite ces microbilles au moyen de  $\gamma$ -glycidoxypropyl-triméthoxy-silane (A 187 de Union Carbide) en solution alcoolique, à température ordinaire, à raison de 0,1 cc de silane par kilo de billes, ce qui correspond à environ 100.mgr de silane par kilo de billes.

5 On fixe ensuite de manière covalente de la lactoferrine sur les billes. La lactoferrine se lie par l'intermédiaire de ses acides aminés aux fonctions époxy du silane. Cette opération a lieu à température ambiante, par mise en contact des billes silanées avec une solution aqueuse à 10% de lactoferrine de bovidés commercialisée par Oléofina, à pH compris entre 4 et 5. Il y a ainsi environ 0,01% en  
10 poids de produit actif, vis à vis du poids du verre.

Ensuite, on chauffe légèrement les microbilles en veillant à ne pas dépasser 60°C et on les met en contact avec une silicone fluide. La silicone choisie est un copolymère aminofonctionnel polydiméthylsiloxane MDX4-4159 de Dow Corning qui est utilisé à raison de 0,2 cc par kilo de verre, ce qui correspond à  
15 environ 200 mgr de silane par kilo de billes.

Le pouvoir bactériostatique de ces microbilles est identique à celui de la lactoferrine en solution, c'est à dire non immobilisée. On a constaté par exemple que ces microbilles inhibent la croissance d'une souche de Escherichia Coli.

20 Ces microbilles sont hydrophobes et peuvent être stockées, manipulées et utilisées sans risque d'agglomération.

Exemple 2

Des microbilles de verre sodocalcique semblables à celles de l'exemple 1 sont traitées à l'aide de  $\gamma$ -aminopropyl-triméthoxysilane A1100 de Union Carbide, en solution alcoolique, à raison de 0,1 cc de silane par kilo de verre, ce  
25 qui correspond à environ 100 mgr de silane par kilo de verre. On active ensuite la surface des billes en faisant réagir le silane avec de la glutaraldéhyde, à pH inférieur à 6,5, en proportions stoechiométriques.

On fixe ensuite de la lactoperoxydase sur les billes en mettant celles-ci en contact avec une solution aqueuse de lactoperoxydase commercialisée par Oléofina. On fixe ainsi, de manière covalente, 0,02% en poids de lactoperoxydase  
30 vis à vis du poids de verre. On dépose ensuite sur la surface des billes une silicone identique à celle de l'exemple 1.

On a constaté que la lactoperoxydase gardait son activité  
35 enzymatique malgré sa fixation covalente au verre. On a dosé cette activité enzymatique par la méthode à l'o-phénylène-diamine et on a trouvé une valeur de 350 U/mg de lactoperoxydase fixée au verre tandis que cette même méthode

appliquée à une quantité équivalente de lactoperoxydase en solution avait une activité d'environ 400 U/mg d'enzyme (U/mg = unité d'activité spécifique de la protéine par mg; une unité d'activité est la quantité d'enzyme qui produit, en une minute, une augmentation d'absorbance à la longueur d'onde 490 nm de 0,1, à 37°C, pH5 et avec l'o-phénylène-diamine et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme substrat).

On a aussi examiné le pouvoir bactériostatique des microbilles. Ce pouvoir bactériostatique a été évalué vis à vis d'une souche de Eschérichia Coli sensible à l'action de des ions OSCN<sup>-</sup>. On examine l'évolution au cours du temps de la densité optique à une longueur d'onde de 660 nm, d'une telle culture. L'augmentation de la densité optique témoigne de la prolifération des bactéries. En l'absence de lactoperoxydase, un échantillon témoin montre une augmentation de densité optique correspondant à une multiplication de la valeur de départ par un facteur de l'ordre de 100, après 6 heures à 37°C. Par contre en présence de 8 gr de billes traitées selon le présent exemple, par litre (ce qui correspond à 500 U de lactoperoxydase par litre de milieu de culture), la densité optique n'est pas modifiée après 6 heures ce qui démontre le blocage de la croissance bactérienne.

A titre de comparaison, on a également mis en présence d'une même souche de Eschérichia Coli, des microbilles traitées comme indiqué ci-dessus mais ne portant pas de silicone. On constate que l'activité des billes revêtues de lactoperoxydase et de silicone, pour une quantité de lactoperoxydase identique fixée sur les billes est pratiquement identique à celle des billes non siliconées. Il n'y a donc, de façon surprenante, pas d'interférence entre l'activité de l'enzyme immobilisé et la présence de la silicone.

On constate des résultats semblables avec d'autres bactéries telles que des Pseudomonas et des Staphylocoques dorés.

### Exemple 3

Sur des microbilles de verre identiques à celles de l'exemple 1, on fixe tout d'abord du  $\gamma$ -glycidoxypropyl-triméthoxysilane, comme indiqué à l'exemple 1 et ensuite, on fixe directement 0,05% en poids de lactoperoxydase sur les microbilles. On termine le traitement par dépôt de silicone identique à celui mentionné aux exemples 1 et 2.

On a répété le test de culture de bactéries de l'exemple 2 et on a constaté que 7 gr de billes par litre de milieu de culture suffisaient pour bloquer la croissance des bactéries.

### Revendications

1. Microbilles de verre caractérisées en ce qu'elles portent un revêtement de protéines liées au verre de façon covalente et conférant à celles-ci des propriétés bactériostatiques.

5 2. Microbilles selon la revendication 1, caractérisées en ce que leur surface est non-poreuse.

3. Microbilles de verre selon l'une des revendication 1 ou 2, caractérisées en ce que le revêtement comprend un enzyme.

4. Microbilles selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisées en ce que les dites protéines sont choisies parmi: la lactoferrine, la lactoperoxydase.

10 5. Microbilles selon une des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que les dites protéines sont présentes à raison de moins de 0,1% en poids et de préférence moins de 0,05% en poids.

15 6. Microbilles selon l'une des revendication 1 à 5, caractérisées en ce que les dites protéines sont fixées au verre par l'intermédiaire d'un agent de couplage silané.

7. Microbilles selon la revendication 6, caractérisés en ce que les dites protéines sont fixées au verre par l'intermédiaire d'un silane et d'un second agent de couplage.

20 8. Microbilles selon la revendication 7, caractérisées en ce que le second agent de couplage est la glutaraldéhyde.

9. Microbilles selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisées en ce qu'elles sont hydrophobes.

10. Microbilles selon la revendication 9, caractérisées en ce qu'elles portent un revêtement de silicone.

25 11. Microbilles selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisées en ce leur diamètre moyen se situe entre 80 et 100 microns et de préférence entre 85 et 90 microns.

12. Microbilles selon l'une des revendications 1 à 11 caractérisées en ce qu'elles sont mises en suspension dans un gaz de fluidisation.

30 13. Lit pour le traitement des brûlés comprenant un système de fluidisation caractérisé en ce qu'il contient des microbilles selon la revendication 12.

35 14. Procédé pour donner des propriétés bactériostatiques à des microbilles de verre caractérisé en ce que l'on fixe sur les dites microbilles un revêtement de protéines liées au verre de façon covalente.

15. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce que l'on traite les dites billes au moyen d'un agent de couplage silané préalablement à la mise en contact de celles-ci avec un milieu contenant des protéines.

5 16. Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le traitement de silanisation est suivi du dépôt sur les billes, d'un second agent de couplage.

17. Procédé selon l'une des revendications 14 à 16 caractérisé en ce que les dites protéines sont fixées aux billes par mise en contact de celles-ci avec un milieu contenant les dites protéines dont le pH est inférieur à 7.

10 18. Procédé selon une des revendications 14 à 17, caractérisé en ce que, après avoir fixé les dites protéines aux billes, on les met en contact avec une solution contenant une silicone.

19. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que les billes sont stérilisées par traitement thermique avant d'être revêtues de protéines.

15 20. Procédé pour restaurer des propriétés bactériostatiques de microbilles de verre, caractérisé en ce que des microbilles traitées par un procédé selon la revendication 19 sont ensuite traitées par un procédé selon l'une des revendications 14 à 17.



Office européen  
des brevets

**RAPPORT DE RECHERCHE**  
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2  
de la loi belge sur les brevets d'invention  
du 28 mars 1984

Numero de la demande  
nationale

BE 8800997  
BO 1157

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.4)
A	FR-A-2 168 745 (DETEC) * Revendication 1 * ---	13	A 61 L 2/16 A 61 G 7/04
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 97, no. 19, 8 novembre 1982, page 333, résumé no. 158748n, Columbus, Ohio, US; E. HONKA et al.: "The adsorption of lactoperoxidase to glass", & ACTA CHEM. SCAND., SER. B 1982, B36(4), 273-4 * Résumé * -----	1-4	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4)
			A 61 L 2/16 A 61 G 7/04
		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
		14-11-1988	PELTRE CHR.
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arriére-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... & : membre de la même famille, document correspondant	

EPO FORM 1503 03.82 (P0448)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BE 8800997  
BO 1157

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 30/11/88  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR-A- 2168745	31-08-73	NL-A- 7211069	24-07-73
		DE-A- 2242433	02-08-73
		CH-A- 545102	31-01-74
		GB-A- 1361527	24-07-74
		BE-A- 788147	18-12-72
-----			

EPO FORM P0463

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82