

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
MINISTÈRE  
DE L'INDUSTRIE  
ET DU COMMERCE

SERVICE  
de la PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

1<sup>RE</sup> ADDITION  
**AU BREVET D'INVENTION**  
N° 2.828 M

P.V. n° 148.142

N° 285 CAM

Classification internationale :

A 61 k

**Médicament renfermant des colibacilles antibiorésistants.**

M. LUCIEN NOUVEL résidant en France (Paris).

(Brevet principal pris le 1<sup>er</sup> mars 1963.)

**Demandée le 16 avril 1968, à 11 heures, à Paris.**

Délivrée par arrêté du 12 novembre 1969.

(Bulletin officiel de la Propriété industrielle [B.S.M.], n° 51 du 22 décembre 1969.)

Dans le brevet principal on a décrit un médicament destiné au traitement des affections liées à un déséquilibre de la flore intestinale, le médicament étant à base de colibacilles non pathogènes, vivants, antibiorésistants; plus particulièrement, le médicament en question contient un acide aminé, et il est tamponné de façon à présenter un pH de 4 à 9.

La présente invention apporte un perfectionnement à ce médicament qui, lui-même, constituait un progrès sensible sur les diverses compositions médicamenteuses connues à base de colibacilles non pathogènes, vivants. Elle vise l'emploi d'un type de souches bactériennes qui se sont révélées, de façon inattendue, beaucoup plus actives que les souches habituellement employées. Les souches suivant la présente invention sont d'une efficacité telle que, non seulement elles rendent plus actif le médicament du brevet principal, mais encore permettent l'obtention de compositions très efficaces, même si les mesures particulières selon le brevet principal ne sont pas appliquées; cependant, la présence d'acide aminé et d'un tampon de pH, dans le médicament, est préférée, parce que sans substances tampon les colibacilles meurent très vite en suspension aqueuse. Elle permet d'améliorer les anciennes compositions, tant de colibacilles seuls que de ces bacilles accompagnés d'autres bactéries non pathogènes, de ferments lactiques, de lait ou/et d'autres substances.

Lorsqu'on examine les compositions médicamenteuses à base de colibacilles vivants, utilisées jusqu'à présent, on constate que leurs bactéries sont, au moins en grande majorité, sous la forme « R », c'est-à-dire du type qui forme des colonies à contours irréguliers, à surface rugueuse, sèche, de teinte mate. Il est connu, en entérobactériologie (« Le Diagnostic de Laboratoire des Entérobactéries », Léon Le Minor; 3<sup>e</sup> édition), que la forme

« S » de colibacilles, donnant sur gélose des colonies rondes, bombées, lisses, brillantes et humides, subit — chez les souches en collection — une transformation progressive en la forme « R ». Une caractéristique distinctive particulière, entre les deux sortes de souches, est l'absence de l'antigène « O » chez la forme « R », tandis que la forme « S » seule, exempte de « R », le possède au maximum.

La présente invention est basée sur la constatation tout à fait imprévue que les bactéries de forme « S », non pathogènes, vivantes, exercent dans l'intestin des effets bénéfiques beaucoup plus prononcés que ne le font les bactéries de la forme « R ». L'efficacité d'une souche de colibacilles est surtout fonction de son équipement enzymatique qui induit l'antigène « O ».

Le nouveau médicament suivant l'invention est donc constitué par des colibacilles non pathogènes, vivants, de préférence antibiorésistants, comprenant une forte proportion de bactéries de la forme « S », et une ou plusieurs des matières généralement présentes dans ce genre de compositions.

Le médicament suivant l'invention peut se présenter sous une quelconque des formes habituelles, notamment sous celle d'une suspension aqueuse de germes de colibacilles « S » ou riche en cette forme, en pâte, en poudre, et tout particulièrement en poudre lyophilisée.

De préférence la souche de colibacilles est constituée entièrement par les bactéries de la forme « S »; pratiquement l'absence complète de la forme « R » étant assez difficile à obtenir, des médicaments fort efficaces sont néanmoins obtenus avec des souches contenant environ 10 à 95 % ou mieux de 50 à 98 % de forme « S », le reste étant sous la forme « R ». Autrement dit la richesse en antigène « O » des souches utilisées peut être de l'ordre de 10 à 95 % du maximum qui correspond à la forme « S » exempte de « R ».

Comme indiqué plus haut le médicament peut contenir une ou plusieurs des matières habituellement présentes dans ce genre de compositions, et tout particulièrement de celle dont la description se trouve dans le brevet principal. Notamment, en ce qui concerne l'adjonction très utile d'acide aminé, on peut avoir recours à un ou plusieurs acides pris à l'état libre, ou de préférence sous la forme d'un sel alcalin, tel que par exemple : glycocolle, alanine, leucine, isoleucine, arginine, asparagine, glutamine, acide glutamique, histidine, lysine, ornithine, phénylalanine, proline, sérine, thréonine, thyroxine, tryptophane, tyrosine, valine, cystéine, cystine, méthionine, etc.

Lorsque le nouveau médicament contient, à côté du colibacille, d'autres entérobactéries non pathogènes, il est préférable que ces derniers soient également, entièrement ou en partie, sous la forme « S ».

Il est également recommandable d'incorporer au médicament une mucine; le rôle de ce genre de mucopolysaccharides, déjà signalé dans le BF n° 1.482.817, se confirme lorsqu'il s'agit de la préparation de culture lyophilisée riche en forme « S », suivant la présente invention.

Lorsque dans le médicament du brevet principal, la majeure partie des colibacilles est remplacée par des germes de la forme « S », les résultats cliniques, relatés dans les exemples 2, 3 et 5 dudit brevet sont bien améliorés : dans tous les cas semblables, les malades sont soulagés et subissent une amélioration sensible plus rapidement; leur guérison est avancée de plusieurs heures à deux jours suivant les cas.

L'invention comprend également un procédé pour la préparation du nouveau médicament riche en forme « S » d'entérobactéries. Ce procédé est particulièrement utile lorsqu'il s'agit de la préparation de culture antibiorésistante; la raison en est que c'est précisément dans les milieux chargés d'antibiotiques que l'évolution vers la forme « R » est particulièrement exaltée; il en résulte la difficulté d'obtention de souches « S » antibiorésistantes en milieu contenant des antibiotiques.

Le procédé suivant l'invention consiste à effectuer la culture de colibacille non pathogène dans un milieu nutritif contenant des antibiotiques à dose croissante. Après isolement de la souche, celle-ci est cultivée dans un milieu nutritif contenant du sérum frais de cobaye qui lyse les formes « R ». On obtient ainsi une forme antibiorésistante de forme « S ».

Suivant un trait particulier de l'invention on utilise pour l'élimination des formes « R », les propriétés du sérum frais de cobaye; pour cela le bouillon de culture est additionné d'un tel sérum.

A titre d'exemple non limitatif, donné uniquement à titre d'illustration de la présente invention,

voici les opérations appliquées dans une préparation du médicament suivant l'invention.

Un milieu de culture présentait la composition suivante :

Arginine .....	1000 g
Extrait aminé de levure .....	2000 g
Gélose .....	500 g
Phosphate disodique .....	4000 g
Phosphate monopotassique .....	400 g
Eau distillée stérile .....	q.s.q. 500 l.

Ce bouillon, dont le pli est réglé à environ 7.3, est passé à l'autoclave pour être ensuite centrifugé et stérilisé. Après refroidissement, il est ensemencé avec 2 litres d'une suspension aqueuse de culture de colibacilles vivants non pathogènes, antibiorésistants, contenant une majorité de forme « S »; cette suspension avait été obtenue par culture dans un milieu nutritif solide ou liquide contenant 10 à 25 % de sérum frais de cobaye.

Dans une forme d'exécution particulièrement avantageuse de l'invention, la poudre, obtenue par lyophilisation d'une culture de colibacilles non pathogènes, antibiorésistants, en majeure partie sous la forme « S », est enrobée stérilement avec des silicones. Convient bien à cet effet le silicone connu dans le commerce sous la dénomination SI 200, utilisé de préférence à raison de 5 à 25 % du poids de la poudre à traiter. Les silicones préférés présentent des viscosités de l'ordre de 100 à 1 000 cSt., cette indication n'étant cependant pas limitative.

L'enrobage de la poudre avec du silicone apporte plusieurs avantages; il isole, pour ainsi dire, les particules de la poudre, les protégeant du contact direct avec l'air, ce qui les rend moins altérables par l'oxygène atmosphérique; il rend possible l'adjonction à la poudre d'une substance non compatible avec les colibacilles, substance susceptible de détruire ces derniers, comme par exemple un antibiotique. Grâce à ses propriétés hydrophobes, le silicone permet de conserver, dans la poudre lyophilisée, l'humidité résiduelle de celle-ci, nécessaire à une bonne conservation. De plus, les silicones étant stables en milieu acide, ils ne se délitent pas dans l'estomac, mais seulement dans l'intestin où le milieu est basique; ainsi, l'utilisation de colibacilles devient beaucoup plus rationnelle et efficace, puisqu'ils ne sont libérés qu'au niveau de l'intestin, c'est-à-dire précisément là où ils doivent agir.

A titre d'exemple non limitatif, une poudre suivant l'invention est préparée comme suit, 100 g de silicone SI 200, de viscosité 350 cSt., sont mélangés à 1 000 g de poudre lyophilisée d'une culture de colibacilles non pathogènes, antibiorésistants, à majorité de forme « S ». La poudre ainsi siliconée est mélangée avec du chlorhydrate de tétracycline à raison de 250 mg de chlorhydrate



pour 60 mg de poudre; chaque dose de 60 mg de poudre utilisée correspond au nombre de germes vivants compris entre 5 et 150 millions.

#### RÉSUMÉ

1. Médicament pour le traitement d'affections dues à un déséquilibre de la flore intestinale, caractérisé en ce qu'il contient des colibacilles non pathogènes vivants, comprenant une forte proportion de colibacilles de la forme « S ».

2. Médicament suivant 1, dans lequel la proportion de colibacilles de forme « S » est de 10 à 98 %, le reste étant sous la forme « R ».

3. Médicament suivant 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il contient une ou plusieurs matières telles que acide aminé ou salifié, tampon de pH, extrait de levure, épaississant ou autres substances habituellement présentes dans des médicaments à base de cultures entérobactériennes.

4. Médicament suivant 1, 2 ou 3, caractérisé en ce qu'il contient d'autres entérobactéries non pathogènes, dont au moins une partie est de préférence sous la forme « S ».

5. Médicament suivant 1, 2, 3 ou 4, caractérisé en ce que le colibacille de la forme « S » est antibiorésistant.

6. Médicament suivant un ou plusieurs des

points 1 à 5, caractérisé en ce que les colibacilles s'y trouvent sous la forme d'une culture en poudre lyophilisée, enrobée avec du silicone.

7. Poudre suivant 6, caractérisée en ce qu'elle contient 5 à 25 parties en poids de silicone pour 100 parties de culture, le silicone ayant une viscosité préférée de 400 à 1 000 cSt.

8. Médicament suivant 6 ou/et 7, caractérisé en ce qu'il contient une substance médicamenteuse non compatible avec les colibacilles, en particulier un antibiotique.

9. Procédé pour la préparation du médicament suivant un quelconque des points 1 à 8, qui consiste à cultiver la ou les bactéries utiles dans un milieu contenant un lysant de la forme « R » de ces bactéries.

10. Procédé suivant 6, caractérisé en ce que le lysant est celui d'un sérum frais, notamment celui du cobaye.

11. Procédé pour la préparation du médicament suivant 8, caractérisé en ce que la culture en poudre est enrobée avec du silicone avant l'addition de la substance incompatible avec elle.

LUCIEN NOUVEL

Par procuration :

Armand KOHN

#### AVIS DOCUMENTAIRE SUR LA NOUVEAUTÉ

Documents susceptibles de porter atteinte à la nouveauté du médicament : *néant*.

Documents illustrant l'état de la technique en la matière :

— *Brevet français (B.S.M.) n° 2.828 M.*

BAD ORIGINAL

