

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: A 1044/2011

(22) Anmeldetag: 15.07.2011

(43) Veröffentlicht am: 15.01.2013

(51) Int. Cl. : **G01N 33/50** (2006.01)

**G01N 33/497** (2006.01)

(56)

Alhamdani MS, Al-Kassir AH, Jaleel NA, Hmood AM, Ali HM. Elevated levels of alkanals, alkenals and 4-HO-alkenals in plasma of hemodialysis patients. *Am J Nephrol.* 2006;26(3):299-303. Epub 2006 Jun 28.

Hermanns RC, de Zwart LL, Salemink PJ, Commandeur JN, Vermeulen NP, Meerman JH. Urinary excretion of biomarkers of oxidative kidney damage induced by ferric nitrilotriacetate. *Toxicol Sci.* 1998 Jun;43(2):241-9

Herbig J, Müller M, Schallhart S, Titzmann T, Graus M, Hansel A. On-line breath analysis with PTR-TOF. *J Breath Res.* 2009 Jun;3(2):027004. Epub 2009 Jun 9

(73) Patentanmelder:

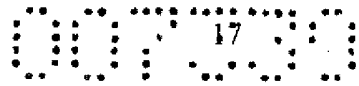
IONIMED ANALYTIK GESELLSCHAFT

M.B.H.

6020 INNSBRUCK (AT)

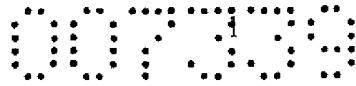
(54) **VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DER NIERENFUNKTION**

(57) Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion eines Probanden durch Bestimmung der Menge eines Biomarkers charakteristisch für die Reinigungsleistung der Niere, wobei die Menge an einem extrakorporalen Körperfluid ermittelt wird, wobei der Biomarker ein Aldehyd oder ein Keton mit vier bis acht Kohlenstoffatomen ist.



## Zusammenfassung

Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion eines Probanden durch Bestimmung der Menge eines Biomarkers charakteristisch für die Reinigungsleistung der Niere, wobei die Menge an einem extrakorporalen Körperfluid ermittelt wird, wobei der Biomarker ein Aldehyd oder ein Keton mit vier bis acht Kohlenstoffatomen ist.



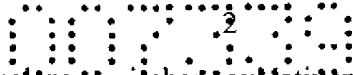
Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion eines Probanden durch Bestimmung der Menge eines Biomarkers charakteristisch für die Reinigungsleistung der Niere, wobei die Menge an einem extrakorporalen Körperfluid ermittelt wird. Die Erfindung betrifft weiters eine medizintechnische Vorrichtung, sowie ein Verfahren zur Bestimmung des Dialysefortschritts bei einem Probanden und ein Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion bei einem Probanden unter Verwendung einer medizintechnischen Vorrichtung.

Eine wichtige Funktion der Niere ist die Reinigung des Blutes von Giftstoffen und Abbauprodukten. Eine gesunde Niere filtert ununterbrochen eine Vielzahl von im Blut zirkulierenden Stoffen, und scheidet diese mit dem Urin aus. Funktioniert die Reinigung schlecht bzw. gar nicht mehr, so werden Giftstoffe im Blut und im gesamten Körper angereichert, selbst wenn eine Dialysebehandlung durchgeführt wird. Die Blutreinigungskraft der Dialyse beträgt ca. 10% der normalen Nierenleistung. Niereninsuffizienz ist ein komplexer Zustand progressiver Intoxikation und führt unweigerlich zu einer Vielzahl von Spätschäden.

Von urämischen Giften ist dann die Rede, wenn diese im Körper angereicherten Stoffe auch eine schädigende Wirkung ähnlich eines Giftes haben. Von anderen Stoffen wiederum, wie z.B. von Kreatinin, dessen Konzentration im Blutserum Aufschluss über die Filtrationsleistung der Niere gibt, ist keine schädigende Wirkung bekannt, weshalb man hier von „uremic solute“, einem im Rahmen der Urämie in erhöhter Konzentration vorliegenden Stoff spricht.

In der wissenschaftlichen Literatur sind ein Vielzahl von urämischen Giften dokumentiert (Uremia, Timothy W. Meyer, Thomas H. Hostetter, The New England Journal of Medicine 357 (2007) 1316 – 1325).

Nierenerkrankungen werden in der wissenschaftlichen Literatur in Zusammenhang mit oxidativem Stress genannt, wie auch eine Vielzahl anderer Erkrankungen und auch normale Vorgänge im Körper wie z.B. das Altern. Oxidativer Stress ist ein sehr unscharf definierter Zustand, mit dem eine Vielzahl von Vorgängen im Körper gemeint ist. Zugrunde liegt all



diesen Vorgängen eine Imbalanz zwischen oxidativen Verbindungen und anti-oxidativen Schutzmechanismen, was letztendlich zur Beschädigung von Geweben, z.B. Zellmembranen führen kann. Da die oxidativen Substanzen (reaktive Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen) sehr instabil (reaktiv) sind, werden an ihrer Stelle die Produkte des oxidativen Angriffes auf biologische Strukturen (z.B. Lipide, Proteine) als Biomarker bestimmt (Critical Reviews in Clinical Laboratory Science, 2009; 46(5-6): 241–281 “Oxidative stress and human diseases: Origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers” Daniela Giustarini, Isabella Dalle-Donne, Dimitrios Tsikas, and Ranieri Rossi).

Aus der Verbindungsklasse der Aldehyde und Ketone werden Malondialdehyd und 4-Hydroxyl-2-Nonenal als Biomarker für den Oxidativen Stress in der Literatur gelistet, die auch bei Nierenerkrankungen im Blut erhöht sind (vorhergehendes Zitat). Auch bei Dialysepatienten wird ein erhöhtes Plasmalevel an 4-Hydroxyl-2-Nonenal gefunden (Free Radical Research, February 2006; 40(2): 207–212 „Vitamin E-coated filter decreases levels of free 4-hydroxyl-2-nonenal during haemodialysis sessions“, Patrizio Odetti, Nicola Traverso, Fiammetta Monacelli, Stefano Menini, Jana Vazzana, Bruno Tasso, Maria Adelaide Pronzato, Cristina Robaudo, Giacomo Deferrari). Diese Stoffe werden als urämische Toxine angesehen, die unter anderem für cardio-vasculäre Komplikationen bei Dialysepatienten verantwortlich gehalten werden.

Die US 5,174,959 beschreibt die nasschemische Untersuchung von Aldehyden und Ketonen in Urin, Serum und Atem. Dabei werden der Aldehyd oder das Keton mit Nitroprussid umgesetzt, um in Lösung eine Farbreaktion zu beschreiben. Die Farbänderung wird zur Ermittlung der Konzentration an Aldehyd oder Keton herangezogen. Die US 5,174,959 beschreibt keine Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Aldehyden und Ketonen zu bestimmten Krankheiten, sondern lediglich die Bestimmung von Aceton, welches beim Hungern zur Gewinnung von Energie aus Fettreserven aktiviert wird. Auch ist die nasschemische Bestimmung der Aldehydkonzentration oder der Ketonkonzentration, wie in der US 5,174,959 beschrieben, mit der Aufkonzentration mittels Adsorptionsmaterialien sehr aufwändig.

Es ist hinlänglich bekannt, dass Ammoniak in der Ausatemluft von Nierenkranken bis auf ppm Konzentrationen erhöht ist (aber auch bei Leberkranken, oder Halitosis) (Narasimhan



LR, Goodman W, Patel CK, Correlation of breath ammonia with blood urea nitrogen and creatinine during hemodialysis. Proc Natl Acad Sci USA (2001) 98(8) 4617-4621).

Wichtige Aldehyde/Ketone, die in der Ausatemluft detektiert werden können, und in der Literatur beschrieben sind:

- Acetaldehyd ist ein Abbauprodukt des Ethanol (Aldehyde dehydrogenase) und wird für toxische Effekte des Alkoholkonsums (Kopfschmerz) verantwortlich gemacht, Acetaldehyd ist karzinogen (Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase as tumour markers and factors intensifying carcinogenesis in liver cancer, Jelski W, Kedra B, Szmitkowski M. Pol Merkur Lekarski. 2008 Aug;25(146):141-4).

- Acrolein ist im Blutserum von Nierenkranken (end stage renal disease, ESRD) erhöht und wird teilweise durch die Hämodialyse entfernt. Acrolein reduziert die Paraoxanase-1 Aktivität und ist somit ein urämisches Gift (Clin Chim Acta. 2007 Sep; 384(1-2):105-12. Acrolein inactivates paraoxonase 1: changes in free acrolein levels after hemodialysis correlate with increases in paraoxonase 1 activity in chronic renal failure patients. Gugliucci A, Lunceford N, Kinugasa E, Ogata H, Schulze J, Kimura S.).

- Formaldehyd hat als industrielle Chemikalie Relevanz bei Allergien und dem „sick building“ Syndrom. Formaldehydbelastung und Krebs stehen vermutlich in Zusammenhang.

Derzeit wird in der medizinischen Praxis der Beginn einer Dialysebehandlung von Niereninsuffizienzpatienten nach teils subjektiven Parametern entschieden. Neben anerkannten Nierenfunktionsparametern wie den Harnstoffwerten und Kreatininwerten im Blutserum, der Kreatininclearance und der Menge an ausgeschiedenem Urin, fließen auch subjektive Einschätzungen, wie z.B. das allgemeine Wohlbefinden der Patientin, Auftreten von Ausschlägen und Juckreiz, Unruhe und Schlafstörungen und dergleichen, in die ärztliche Entscheidung ein, um den Startpunkt einer Dialysebehandlung festzulegen. Wünschenswert im Sinne einer optimalen Entscheidung wären Parameter, die den Grad der Vergiftung objektiv erfassen können. Es geht dabei darum, den Patienten einerseits nicht früher als nötig einer Dialysebehandlung zuzuführen, denn sie reduziert die Lebensqualität und ist teuer, und andererseits darum, die Patientin nicht einer permanenten Vergiftung mit allen negativen Folgen unnötig lange auszusetzen. Die Bestimmung von Giftstoffen im Blut, im Harn, in der



Ausatemluft, oder allgemein gespöchen, im Körper, könnte eine Methode zur objektiven Quantifizierung des Ausmaßes der urämischen Vergiftung darstellen.

Aufgabe der Erfindung ist es daher, ein Verfahren und eine Vorrichtung bereit zu stellen, mittels denen auf einfache Weise der Grad der urämischen Vergiftung bestimmt werden kann.

Diese Methode könnte auch dafür angewendet werden, den richtigen Zeitpunkt für die nächstfolgende Dialyse bei Patienten, die bereits in Dialysebehandlung sind, zu bestimmen.

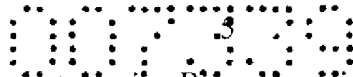
Idealerweise würde nicht nur der Arzt, sondern auch der Patient selber mittels einfach zu bedienenden Werkzeugen ermitteln können, wann die nächste Dialyse erforderlich ist. So eine Methode würde die Langzeitschäden, die Patienten trotz Dialysebehandlung erleiden, minimieren, und dadurch die Morbidität und Mortalität senken, indem sie die individualisierte Frequenz der Dialysebehandlung festlegen kann.

Die einfache, unmittelbare Bestimmung des Vergiftungsgrades könnte auch während einer Dialysebehandlung den idealen Endpunkt der Blutwäsche bestimmen, wodurch wiederum die individuell optimalste Dialysedauer gefunden werden soll.

Das Ziel ist es, die Behandlung optimal auf den jeweiligen Patienten abzustimmen, um nicht zu kurz bzw. zu selten zu dialysieren und dadurch vermeidbare Schäden zu verursachen bzw. zu lange und/oder zu oft zu dialysieren, was höhere Kosten und einen höheren Zeitaufwand für die Patientin bedeuten würde.

Durch die Bestimmung des Grades der Vergiftung durch urämische Gifte könnte bei Patienten mit teilweiser Niereninsuffizienz allgemein die noch verbliebene Leistung der Niere quantifiziert werden. In bestimmten Patientengruppen, bei denen vermehrt Nierenschädigungen auftreten, wie z.B. bei Diabetikern, könnte anhand einer einfachen Methode ein Screening für mögliche Nierenschäden durchgeführt werden, um jene Patienten zu erkennen, die eine Schädigung aufweisen, und diese einer Behandlung zuzuführen.

Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion eines Probanden durch Bestimmung der Menge wenigstens eines Biomarkers charakteristisch für die Reinigungsleistung der Niere, wobei die Menge an einem extrakorporalen Körperfluid



ermittelt wird, wobei der wenigstens eine Biomarker ein Aldehyd und/oder ein Keton mit 4 bis 8 Kohlenstoffatomen ist.

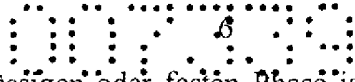
Mit dem hier vorgestellten Verfahren werden flüchtige organische Moleküle in einem extrakorporalen Körperfluid ermittelt, ohne dass es aufwändiger Untersuchungen bedarf.

Dementsprechend wird die Aufgabe auch durch eine medizintechnische Vorrichtung, umfassend eine Aufnahmevorrichtung für Atemgas, ein medizintechnisches Gerät – insbesondere eine Hämodialysevorrichtung, ein Narkosegerät, ein Patientenüberwachungsgerät für Operationen und Intensivstationen oder Kombinationen daraus – und einen Detektor zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen im Atemgas, gelöst. Besonders bevorzugt ist das medizintechnische Gerät eine Hämodialysevorrichtung. Die Vorrichtung ist also beispielsweise mit einem Hämodialysegerät, mit einem Narkosegerät, mit einem Überwachungsgerät, wie es auf Intensivstationen Verwendung findet, und ähnlichem, gekoppelt und nützt die Messergebnisse des Detektors direkt aus.

In Untersuchungen hat sich gezeigt, dass Aldehyde und/oder Ketone Auskunft über die Nierenleistung eines Probanden geben. Besonders gute Biomarker sind Aldehyde, ausgewählt aus der Gruppe der Verbindungen mit der Summenformel  $C_4H_8O$ ,  $C_6H_{10}O$ ,  $C_7H_{14}O$ ,  $C_8H_{16}O$ . Beispielsweise zu nennen sind Butanal, 2-Methylpropanal, 2-Hexenal, 2-Methylhexanal Octanal und Kombinationen daraus. Bei den Ketonen haben sich solche ausgezeichnet mit einer Summenformel  $C_4H_8O$ ,  $C_6H_{10}O$ ,  $C_7H_{14}O$ ,  $C_8H_{16}O$ . Beispielhaft zu nennen sind 2-Butanon, Cyclohexanon, 3-Penten-2-on, 2,2,4-Trimethyl-3-Pentanon.

Besonders bevorzugt ist vorgesehen, dass das Körperfluid die Ausatemluft des Probanden ist. In diesem Fall kann der Proband durch die Vorrichtung zur Aufnahme von Atemgas atmen und die Menge an Aldehyd oder Keton bestimmt werden. Die zum Einsatz kommende medizintechnische Vorrichtung weist daher bevorzugt eine Vorrichtung zur Anzeige der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen auf.

Neben der Ausatemluft kommen auch andere Körperfluide wie z.B. Harn, Blut, Blutserum, Blutplasma, Exkrement oder Sekret in Frage. Bevorzugt wird dann die Menge an Aldehyd und/oder Keton am Dampf des Körperfluids ermittelt, wenn dieser im thermodynamischen



Gleichgewicht mit seiner flüssigen oder festen Phase ist. Damit kann mit einem einfachen Detektor zur Bestimmung der Biomarkerkonzentration im Dampf oder in der Ausatemluft auf den Zustand der Nierenfunktion oder des Dialysefortschritts oder den Grad der Vergiftung geschlossen werden. Im einfachsten Fall ist eine Anzeige für die Menge an Aldehyden oder Ketonen vorgesehen, oder es wird ein Signal abgegeben, wenn ein Grenzwert überschritten wird.

Die medizintechnische Vorrichtung könnte weiters eine Steuereinheit oder Regeleinheit aufweisen, welche bei Unterschreiten einer bestimmten Biomarkerkonzentration ein Signal abgibt und/oder das medizintechnische Gerät – wie zum Beispiel ein Hämodialysegerät – deaktiviert oder aktiviert.

In einer bevorzugten Ausführungsvariante ist vorgesehen, dass der Detektor zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen ein Protonenauschreaktion-Massenspektrometer oder vorzugsweise ein Protonenauschreaktion-Flugzeitmassenspektrometer umfasst. Mit solchen Massenspektrometern sind besonders genaue Bestimmungen von flüchtigen Stoffen in geringen Konzentrationen in Echtzeit möglich.

Die zur Anwendung kommenden Detektoren können auch allgemein als Massenspektrometer, Sensoren basierend auf elektrochemischen Verfahren, spektroskopischen Verfahren, nasschemischen Verfahren oder als einfache miniaturisierte Sensoren, und ähnliche ausgeführt sein.

Erfindungsgemäß ist weiters ein Verfahren zur Bestimmung des Dialysefortschritts bei einem Probanden unter Verwendung eines medizintechnischen Gerätes – insbesondere einer Hämodialysevorrichtung – der vorgenannten Art vorgesehen. Weiters ist ein Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion bei einem Probanden unter Verwendung eines medizintechnischen Gerätes – insbesondere einer Hämodialysevorrichtung – oder eines Überwachungsgerätes vorgesehen. Die Erfindung betrifft weiters die Verwendung eines Detektors zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen im Atemgas zur Ermittlung der Nierenfunktion eines Probanden bzw. zur Ermittlung des Grades der Vergiftung mangels ausreichender körpereigener Nierenfunktion. Außerdem betrifft die



Erfindung die Verwendung eines Detektors zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen im Atemgas zur Ermittlung des Dialysefortschritts bei einem Probanden.

Nachfolgend werden weitere Details und Vorteile der Erfindung beschrieben.

Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, dass jene urämischen Stoffe mit einem geringen Molekulargewicht auch in der Ausatemluft detektierbar sind. In den Überblicksartikeln über die Urämie wird dazu nicht Stellung genommen, woraus zu schließen ist, dass diese Umstände noch nicht untersucht bzw. beachtet wurden.

Der Vorteil der Bestimmung von urämischen Stoffen in der Ausatemluft liegt in der unmittelbaren Verfügbarkeit einer Atemluftprobe und in der Ungefährlichkeit der Probengewinnung für Personal und Patient. Ein zweiter Vorteil wäre die rasche Bestimmung der Stoffe in Echtzeit während des Atmens, sodass ein Messergebnis unmittelbar zur Verfügung steht. Dieser Umstand könnte bei bestimmten Anwendungen von Vorteil sein, z.B. wenn die Nierenfunktion eines Patienten in einem kritischen Zustand beobachtet werden muss, oder der Dialysefortschritt bestimmt werden soll.

Nachfolgend werden flüchtige organische Substanzen beschrieben, die in der Ausatemluft von Menschen mit schlechter bzw. fehlender Nierenfunktion in signifikant höheren Konzentrationen als bei Menschen mit normaler Nierenfunktion auftreten. Diese Stoffe könnten z.B. zur einmaligen Bestimmung der Nierenfunktion, zum Monitoring der Nierenfunktion (z.B. in der Notfallmedizin, auf Intensivstationen oder während Operationen) oder zur Aufzeichnung und Beurteilung des Dialyseverlaufes, herangezogen werden. Im Falle des Gelingens einer Miniaturisierung der Analysetechnologien wäre eine Verwendung durch den Laien (Patienten) denkbar, z.B. eine Patientin bestimmt selber, wann sie eine Dialysebehandlung benötigt. Auch eine Verwendung in Arztpraxen, Apotheken u.ä. könnte möglich sein, z.B. für das Screening von Personen, bei denen gehäuft Nierenschädigungen vorliegen, wie z.B. Diabetikern.

Für die vorliegenden Ergebnisse wurden zur Analyse der Atemgase massenspektrometrische Methoden mit chemischer Ionisation verwendet. Die verwendete Ionisationsmethode überträgt wenig Energie, sodass die Fragmentierung von Verbindungen nur in einem geringen Umfang auftritt und die erhaltenen Spektren daher relativ einfach sind. Bei den Messgeräten

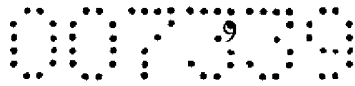


handelte es sich um ein Protonenauschreaktion-Quadrupol-Massenspektrometer (PTR-MS) und ein Protonenauschreaktion-Flugzeitmassenspektrometer (PTR-TOF-MS) der Firma Ionicon Analytik GmbH, Innsbruck, Österreich. Diese analytischen Methoden sind hoch empfindlich für flüchtige organische Stoffe bis in kleinste Konzentrationen. Als chemische Information wird einerseits die nominale Masse des Analyten bestimmt bzw. erhält man aus den Daten der Flugzeitmassenspektrometrie eine bis in die dritte Kommastelle signifikant bestimmte Molekülmasse und kann daraus die wahrscheinliche Summenformel des Stoffes, der einem Signal zugrunde liegt, ableiten. Da bei den vorliegenden Messmethoden die zu analysierenden Stoffe mit einer Protonenübertragungsreaktion ionisiert werden, werden auch die Molekülmassen der Analyten um die Masse des Protons (1.007825 amu) erhöht, während deren Ladung auf + 1 erhöht wird. Exakt spricht man von Masse zu Ladungsverhältnissen,  $m/z$ , wobei  $m$  die Masse des Analyten und  $z$  die Ladung des Analyten ist. Der Einfachheit halber werden im Text direkt die gemessenen Massen angegeben, die zahlenmäßig identisch mit den Masse-zu-Ladungsverhältnissen der protonierten Ionen sind.

### **Experimenteller Teil:**

Die im vorliegenden Text beschriebenen Ergebnisse wurden aus zwei unabhängigen Datensätzen abgeleitet.

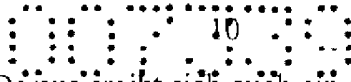
Der erste Datensatz wurde im Jahre 2005 erzeugt und umfasst Nierenpatienten kurz vor und nach einer Nierentransplantation. Von den Patienten wurden mehrere Atemgasanalysen durchgeführt. Wenn es die klinische Routine erlaubte, wurden eine Analyse VOR der Transplantation und mehrere Analysen während des stationären Aufenthaltes nach der Transplantation durchgeführt, der meistens einen Zeitraum von zwei bis drei Wochen umfasste. Das bedeutet, dass innerhalb dieses Datensatzes Personen mit schlechter bzw. fehlender Nierenfunktion, besonders in den Zeiträumen vor und kurz nach der Transplantation, beschrieben wurden und dieselben Personen zu einem späteren Zeitpunkt eine gute bzw. normale Nierenfunktion aufwiesen. In diesem Datensatz sind insgesamt 650 Atemgasanalysen mit jeweils mindestens 48 verschiedenen chemischen Stoffen enthalten. Die Atemgasanalysen stammen von 104 Patienten im Alter von 20 bis 73 Jahren (Mittelwert 48 Jahre, SD 14 Jahre, 29% Frauen). Die Atemgasanalysen wurden in Echtzeit durchgeführt, während der Patient durch ein Mundstück in das Messgerät ausatmete. Alle Experimente wurden nach den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki und in Übereinstimmung mit den Gesetzen durchgeführt.



Der erzeugte Datensatz wurde mittels der „data mining“ Methode „Iterrelation Miner“ (R.W. Scholz, O. Tietje, Embedded Case Study Methods: Integrating Quantitative And Qualitative Knowledge. 2002, Thousand Oaks: Sage. ISBN Hardcover 0-7619-1945-7, Paperback 0-7619-1946-5) und Korrelationsanalysen untersucht. Dafür wurden die Patienten in die Gruppen jener Personen eingeteilt, die eine Dialysebehandlung brauchten und jene, die keine Dialysebehandlung mehr brauchten. Das Zweite ist der Fall, wenn die transplantierte Niere ihre Funktion aufgenommen hat und den Körper ausreichend entgiftet. Das Erreichen von normalen Werten in den akzeptierten Markern für die Nierenfunktion, dem Serumspiegel von Kreatinin und Harnstoff, dauerte in den meisten Fällen zwischen einer und drei Wochen, danach wurden die Patienten aus dem Krankenhaus entlassen. Zusätzlich wurde nach Korrelationen zwischen Atemgasbestandteilen und akzeptierten Markern für die Nierenfunktion (Kreatinin und Harnstoff im Blutserum und Tagesharmmenge) gesucht.

Für die Datenerzeugung von Datensatz 1 wurde ein Protonenauschreaktion-Massenspektrometer mit einem Quadrupol-Massenfilter verwendet. Dieses Analysegerät ist sehr empfindlich für eine Vielzahl von chemischen Stoffen in geringsten Konzentrationen. Da bei dieser Methode die Proben nicht vorbehandelt werden müssen, können sie unmittelbar analysiert werden. Für den Datensatz 1 wurden die Gasproben analysiert, während die Patienten in ein Mundstück ausatmeten, von dem permanent ein Teil des Probengases in das Messgerät strömte. Aufgrund der milden Ionisierung durch eine Ionen-Molekül-Reaktion (Protonenauschreaktion) ist das gemessene Massenspektrum im Vergleich zu herkömmlichen Elektronenstoßionisation-Massenspektren relativ einfach. Die Spektren enthalten hauptsächlich Signale von den quasimolekularen Ionen und deren Isotope und nur wenige Signale von Fragmenten. Aufgrund des eingesetzten Massenfilters (Quadrupol) ist die Auflösung eher gering (Massenauflösung = 1) und es kann nur zwischen Stoffen mit unterschiedlichen Molekulargewichten unterschieden werden. Isomere Stoffe (chemische Verbindungen mit gleichen Summenformeln) wie z. B. Azeton und Propanal haben ein identisches Molekulargewicht und können daher nicht unterschieden werden. Aber auch massenähnliche Stoffe mit gleichen nominalen Molekülmassen wie z.B. Furan und Isopren können mit einem Quadrupol-Massenfilter nicht unterschieden werden.

Aus diesem Grund kann man die gemessenen Signale nicht eindeutig einer chemischen Verbindung zuordnen, weswegen aus diesem Datensatz die Stoffe nur durch ihre nominale



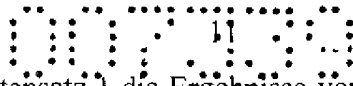
Masse beschrieben werden. Daraus ergibt sich auch ein potentieller Fehler, der auftritt, wenn mehrere massenähnliche Stoffe zu einem Signal beitragen. Daher wurde in der Beschreibung des Datensatz 1 angeführt, dass zwischen mindestens 48 Stoffen unterschieden wurde. Gemeint war damit, dass zwischen 48 Massen unterschieden wurde, die möglicherweise zu mehr als 48 chemischen Stoffen gehören.

Der zweite Datensatz wurde im Jahr 2009 erzeugt, um die Ergebnisse aus dem ersten Datensatz mittels einer weiteren analytischen Methode zu validieren bzw. zu ergänzen. Bei der eingesetzten Technologie handelte es sich um ein Protonenauschreaktion-Flugzeitmassenspektrometer, das mit einer hohen Massenauflösung von  $\sim 4000$  betrieben wurde. Bei vergleichbarer Empfindlichkeit und Sensitivität kann dieses Messgerät auch massenähnliche Stoffe bis zu einem gewissen Grad unterscheiden, wie z.B. Furan und Isopren. Massengleiche Stoffe wie Azeton und Propanal können auch mit dieser Methode nicht unterschieden werden, sie verursachen im Spektrum nur 1 Signal. Aus Analysen von Kalibriergasen ermittelten wir den Unterschied zwischen der exakten Masse eines Stoffes und der real gemessenen Masse die Massengenauigkeit. Aufgrund dieser Experimente, Herstellerangaben und wissenschaftlicher Berichte anderer Personen, kann mit diesem Messgerät eine relative Massengenauigkeit von mindestens 10 ppm erreicht werden kann. Das bedeutet praktisch, dass die molekularen Massen zumindest bis in die dritte Kommastelle genau bestimmt werden können. Mit diesem Gerät kann man somit sehr viele Stoffe in kürzester Zeit detektieren und unterscheiden. Aus den in den Analysen ermittelten Massen können zugehörige Summenformeln ermittelt werden. Die Verknüpfung der Atome und die räumliche Anordnung zueinander kann jedoch aus diesen Messdaten nicht abgeleitet werden.

Der zweite Datensatz umfasst zehn Analysen von vier Nierenpatienten zu Beginn der Dialyse und sechs Vergleichspersonen mit einer normalen Nierenfunktion, der im September/Okttober 2009 erzeugt wurde. In diesem Datensatz wurde nach Stoffen gesucht, die signifikant unterschiedlich in den beiden Gruppen auftreten.

### **Ergebnisse**

Es konnten Stoffe gefunden werden, anhand derer sich die beiden Gruppen (i) Patienten in Dialysebehandlung und (ii) Patienten ohne Dialyse bzw. Personen mit normalen Nierenfunktionswerten signifikant unterscheiden ließen.



In Tabelle 1 werden vom Datensatz 1 die Ergebnisse von drei statistischen Tests gezeigt, bei denen die Daten in die Gruppen (i) Patienten mit Dialysebehandlung in zeitlicher Nähe (bis zu 48 Stunden) der Atemgasanalyse und (ii) Patienten ohne Dialyse in zeitlicher Umgebung einer Atemgasanalyse unterteilt wurden. In der folgenden Tabelle werden die protonierten nominalen Massen jener Stoffe angeführt, die eine Unterscheidung der beiden Patientengruppen zulassen. Die AUC-Werte\* der Tests 1 bis 3, liegen zwischen 0.771 und 0.883, die einem diagnostischen Test mit hoher Güte entsprechen. In Tabelle 2 werden von Datensatz 2 jene Stoffe aufgelistet, die eine signifikante Unterscheidung zwischen (i) Dialysepatienten und (ii) Personen mit normaler Nierenfunktion zulassen. Charakterisiert sind die Stoffe durch die protonierte Masse, durch die dadurch abgeleitete Summenformel und durch die durchschnittliche Konzentration in der Ausatemluft. Diese wurde berechnet durch die Verwendung einer durchschnittlichen Empfindlichkeit des PTR-TOF-MS Messgerätes von 10 ncps (normalized count rates, auf das Signal der Wasserionen und Wasserclusterionen normierte Zählrate des jeweiligen Analyten) pro ppbv (parts per billion, Teile pro  $10^9$  Teilen). Dieser Wert wurde in Kalibrierungsexperimenten bestimmt und entspricht den vom Hersteller angegebenen Empfindlichkeiten. In Tabelle 2 werden auch mögliche chemische Komponenten vorgeschlagen.

**Tabelle 1:** Nominale protonierte Massen jener Stoffe, die innerhalb Datensatz 1 eine Unterscheidung zwischen den Gruppen (i) Patienten mit Dialysebehandlung in zeitlicher Nähe (bis zu 48 Stunden) der Atemgasanalyse und (ii) Patienten ohne Dialyse in zeitlicher Umgebung einer Atemgasanalyse, zulassen.

Test	Biomarker, protonierte Masse, [Th]**	AUC*
1	36, 42, 45, 66, 67, 68, 79, 87, 89, 99, 115, 116, 157	0.883
2	42, 57, 79, 80, 87, 115, 116, 157	0.805
3	59, 69, 77, 91, 95, 99, 115, 127, 157	0.771

---

\* AUC bedeutet Area Under Curve und meint die Fläche unter der sogenannten Receiver Operation Curve. Der Wert gibt Auskunft über die Güte eines diagnostischen Tests, wobei die Werte zwischen 0.5 (das diagnostische Ergebnis ist ein reines Zufallsergebnis) bis 1.0, was einem perfekten Test entspricht, liegen können.

\*\* Thomson, Atomare Masseneinheit pro Ladung

**Tabelle 2:** Angabe von möglichen Komponenten von gefundenen Summenformeln und deren protonierter Massen, die innerhalb Datensatz 2 eine Unterscheidung zwischen (i) Dialysepatienten und (ii) Personen mit normaler Nierenfunktion signifikant zulassen.

Mögliche Komponenten	Summen- formel	Protonierte Masse, [Th]	Mittelwert		STD	Niere	Mittelwert		STD	Vergleich
			Niere	ncps			Niere	ncps		
1,2-Propadien, Cyclopropan, Fragment von Propanal	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub>	41.0391	905.5554	ncps	658.2442	90.5555	ncps	170.6175	187.1468	1.7062
Cyclopropan, Fragment	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub>	43.0548	1738.3184	ncps	1252.1192	173.8318	ncps	152.2274	182.6693	1.5223
Dimethylether, Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	47.0497	793.1407	ncps	854.9754	79.3141	ncps	117.4508	165.3329	1.1745
2-Methyl-1-Propen, 2-Buten, Fragment	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub>	57.0704	108.0202	ncps	14.7369	10.8020	ncps	30.3439	35.1416	0.3034
Aceton, Propanal	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	59.0497	11034.1359	ncps	2183.6901	1103.4136	ncps	6559.6351	2044.6230	65.5964
2-Butanon, Butanal, 2-Methylpropanal, Tetrahydrofuran	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	73.0653	144.5838	ncps	126.2326	14.4584	ncps	21.2931	24.1069	0.2129
1,3-Cyclohexadiene, Fragment von 2- Hexenal	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub>	81.0704	21.8979	ncps	10.7098	2.1898	ncps	7.5053	9.1024	0.0751
2,3-Dimethyl-2-Buten, Cyclohexan, Fragment	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	85.1017	8.0144	ncps	2.6224	0.8014	ncps	2.2454	2.6312	0.0225
2-Hexenal, Cyclohexanone, 3-Penten- 2-one	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	99.0810	30.6473	ncps	20.6649	3.0647	ncps	1.2399	3.0372	0.0124
2-methyl- Hexenal	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	115.1123	5.5500	ncps	0.6660	0.5550	ncps	3.1080	0.2220	0.0311
Octanal, 2,2,4-Trimethyl-3-Pentanon	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	129.1279	2.3983	ncps	1.6040	0.2398	ncps	0.6627	1.0304	0.0066

Die Tatsache, dass die Stoffe mit der nominalen protonierten Masse 57, 59, 99 und 115 in zwei komplett unabhängigen Datensätzen gefunden wurden, unterstützt die Annahme, dass eine Unterscheidung zwischen Nierenkranken und Menschen mit normaler Nierenfunktion anhand von Atemluftstoffen möglich ist und dass das für alle Menschen, zumindest aber für alle Europäer gilt.

Die Kohlenwasserstoffe mit den protonierten Massen 41.0391 und 81.0704 könnten Fragmente der gefundenen Stoffe mit den protonierten Massen 59.0491 und 99.0810 darstellen. Bei der Fragmentierung verliert ein oxygenierter Kohlenwasserstoff z.B. ein Wassermolekül, wobei sich die Masse um jene des Wassers (18.01056) verringert. Das Auftreten einer Fragmentierung bei den Bedingungen, die in den verwendeten Apparaturen vorliegen, ist für Aldehyde wahrscheinlicher als für Ketone. Das Aufscheinen der Fragmentmassen legt nahe, dass die Signale bei den Masse-zu-Ladungsverhältnissen 59.0491 und 99.0810 zumindest zum Teil von Aldehyden verursacht werden. Auch die Signale bei 43.0548, 57.0704, 85.1017 könnten Fragmente sein.

Acrolein (Protonierte Masse = 57.03404 amu) konnte nicht eindeutig als relevanter Marker bestätigt werden. Es wurde zwar in Datensatz 1 ein Stoff mit der protonierten Masse 57 erkannt, in Datensatz 2, wurde jedoch der Stoff mit der Masse 57.07043 als signifikant unterschiedlich gefunden, der nur einer Summenformel  $C_4H_8$  zugeordnet werden kann. Malondialdehyd (protonierte Masse = 73.02794) wurde weder in Datensatz 1 noch in Datensatz 2 gefunden, jedoch wurde ein Stoff mit der Masse 73.06534 und einer respektiven Summenformel  $C_4H_8O$  als signifikant unterschiedlich in den beiden Gruppen (i) und (ii) identifiziert. Auch der literaturbekannte Stoff 4-Hydroxyl-2-Nonenal (protonierte Masse = 157.12285) konnte nicht eindeutig bestätigt werden. In Datensatz 1 wurde zwar ein Stoff mit der nominalen protonierten Masse 157 amu als diagnostischer Marker identifiziert, der jedoch in Datensatz 2 nicht wiedergefunden wurde.

Fig. 1 zeigt die Abnahme des Signals des Stoffes mit der protonierten Masse 115 amu und Kreatinin nach der Transplantation von drei Patienten (1a), (1b) und (1c). Die Zeit  $t$  ist gleich 0, wenn das Transplantat in den Blutkreislauf des Organempfängers eingepflanzt ist. Der neue Biomarker mit protonierter Masse 115, der in der Ausatemluft gefunden wurde, sinkt analog des anerkannten Biomarkers Kreatinin, der aus dem Blutserum bestimmt wurde, in Folge der Nierentransplantation ab.

Fig. 2 zeigt die Konzentration der (2a) Atemgaskomponente bei protonierter Masse 115, die Konzentration von (2b) Kreatinin im Blutserum und die Konzentration von (2c) Harnstoff im Blutserum aufgetragen gegen die Tagesharmmenge. Die absolute Tagesharmmenge hängt einerseits von der Flüssigkeitseinfuhr ab, wobei sehr hohe Mengen bis zu 10 Litern möglich sind, die manchen Patienten über Infusionen zugeführt werden, und andererseits von der Fähigkeit der Niere, Urin zu produzieren.

Fig. 2 demonstriert, dass sowohl der Atemluftstoff mit der protonierten Masse 115 als auch die anerkannten Blutserumparameter Kreatinin und Harnstoff für die Nierenfunktion, mit der Tagesharmmenge eindeutig korrelieren. Produzieren die Niere wenig oder keinen Harn (weniger als ~ 1000 ml), so sind auch der Atemluftstoff und die beiden Stoffe im Serum hoch (I.Quadrant). Produziert die Niere viel Harn, dann sind diese Stoffe eher niedrig (III.Quadrant). Die gezeigten Daten stammen aus Datensatz 1. Jene Messpunkte, bei denen zwar die Harmmenge > 1000 ml war, jedoch die drei gezeigten Biomarker (Abbildung 2a, 2b, 2c) dennoch erhöht waren, stammen von jenen Patienten, deren transplantierte Niere die Harnproduktion bereits aufgenommen hat, jedoch den Körper noch nicht ausreichend von den angereicherten Stoffen gereinigt hat. (II.Quadrant). Im IV. Quadranten existieren auch wenige Messpunkte, bei denen die drei Biomarker bei geringer bis fehlender Harmmenge dennoch nur gering vorliegen. Dies könnte durch vorangegangene Dialysen verursacht sein.

Aus den Korrelationen zwischen anerkannten Blutserummarkern und dem Ausatemluftstoff bei protonierter Masse 115 kann gefolgert werden, dass die gefundenen Atemluftstoffe tatsächlich mit der Nierenfunktion in Zusammenhang stehen.

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion eines Probanden durch Bestimmung der Menge wenigstens eines Biomarkers charakteristisch für die Reinigungsleistung der Niere, wobei die Menge an einem extrakorporalen Körperfluid ermittelt wird, dadurch gekennzeichnet, dass der wenigstens eine Biomarker ein Aldehyd und/oder ein Keton mit vier bis acht Kohlenstoffatomen ist.
  
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd ausgewählt ist aus der Gruppe  $C_4H_8O$ ,  $C_6H_{10}O$ ,  $C_7H_{14}O$ ,  $C_8H_{16}O$ , vorzugsweise Butanal, 2-Methylpropanal, 2-Hexenal, 2-Methylhexanal, Octanal und das Keton ausgewählt ist aus der Gruppe  $C_4H_8O$ ,  $C_6H_{10}O$ ,  $C_7H_{14}O$ ,  $C_8H_{16}O$  vorzugsweise 2-Butanon, Cyclohexanon, 3-Penten-2-on, 2,2,4-Trimethyl-3-Pentanon.
  
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Körperfluid die Ausatemluft ist.
  
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Körperfluid ausgewählt ist aus der Gruppe Harn, Blut, Exkrement, Sekret.
  
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Menge an Aldehyd oder Keton am Körperfluid ermittelt wird, wenn dieser im thermodynamischen Gleichgewicht mit seiner flüssigen oder festen Phase ist.
  
6. Medizintechnische Vorrichtung, umfassend eine Aufnahmevorrichtung für Atemgas, ein medizintechnisches Gerät – insbesondere eine Hämodialysevorrichtung, ein Narkosegerät, ein Patientenüberwachungsgerät für Operationen und Intensivstationen oder Kombinationen daraus – und einen Detektor zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen im Atemgas.
  
7. Medizintechnische Vorrichtung nach Anspruch 6, gekennzeichnet durch eine Vorrichtung zur Anzeige der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen.

8. Medizintechnische Vorrichtung nach Anspruch 6 oder Anspruch 7, gekennzeichnet durch eine Steuereinheit oder Regeleinheit, welche bei Unterschreiten einer bestimmten Aldehydkonzentration oder Ketonkonzentration ein Signal abgibt und/oder das medizintechnische Gerät deaktiviert.

9. Medizintechnische Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Detektor zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen ein Protonentauschreaktion-Quadrupol-Massenspektrometer (PTR-MS) oder ein Protonentauschreaktion-Flugzeitmassenspektrometer (PTR-TOF-MS) ist.

10. Verfahren zur Bestimmung des Dialysefortschritts bei einem Probanden unter Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6 bis 9.

11. Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion bei einem Probanden unter Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6 bis 9.

12. Verwendung eines Detektors zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen im Atemgas zur Ermittlung der Nierenfunktion eines Probanden.

13. Verwendung eines Detektors zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen im Atemgas zur Ermittlung des Dialysefortschritts bei einem Probanden.

Fig. 1

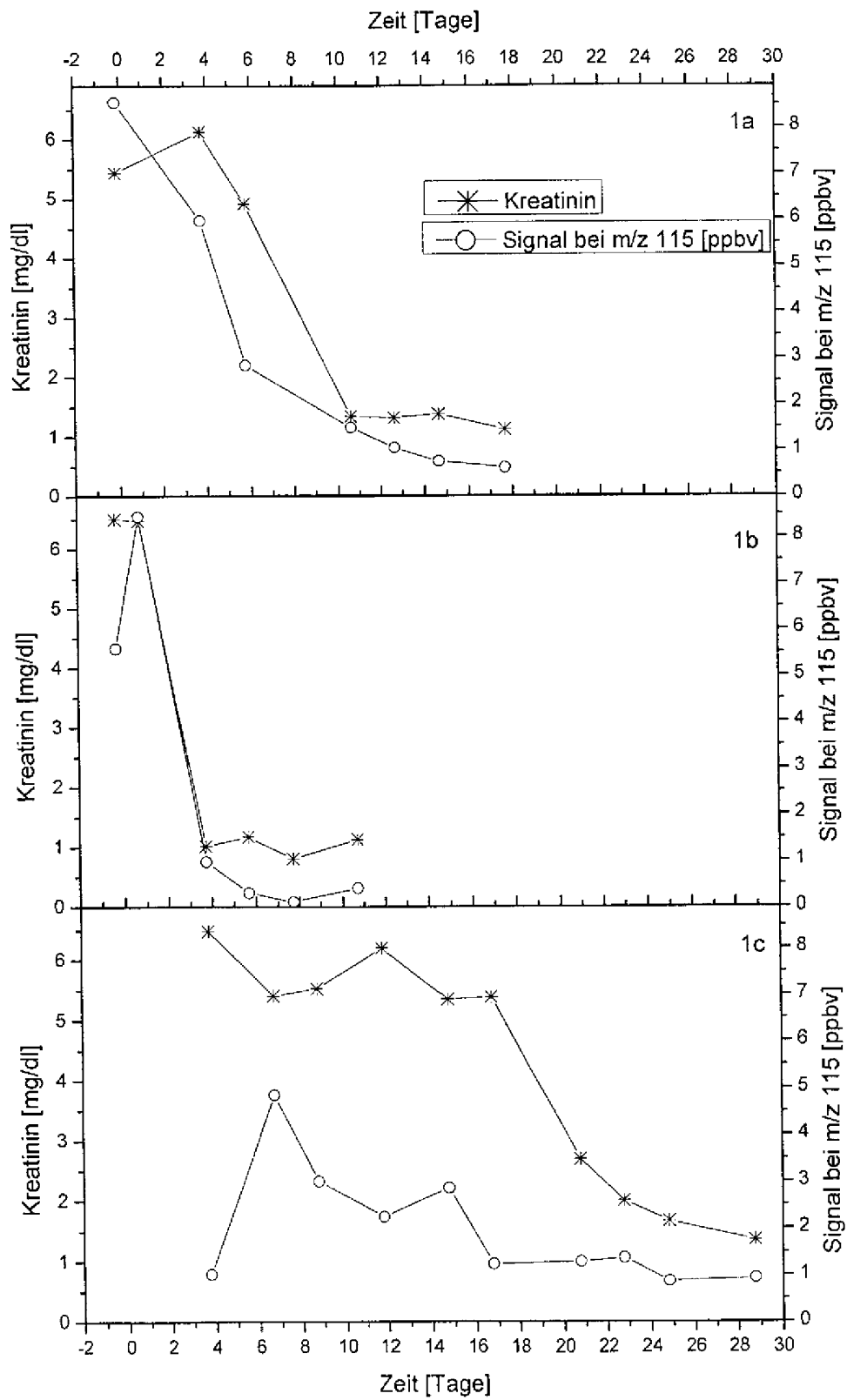
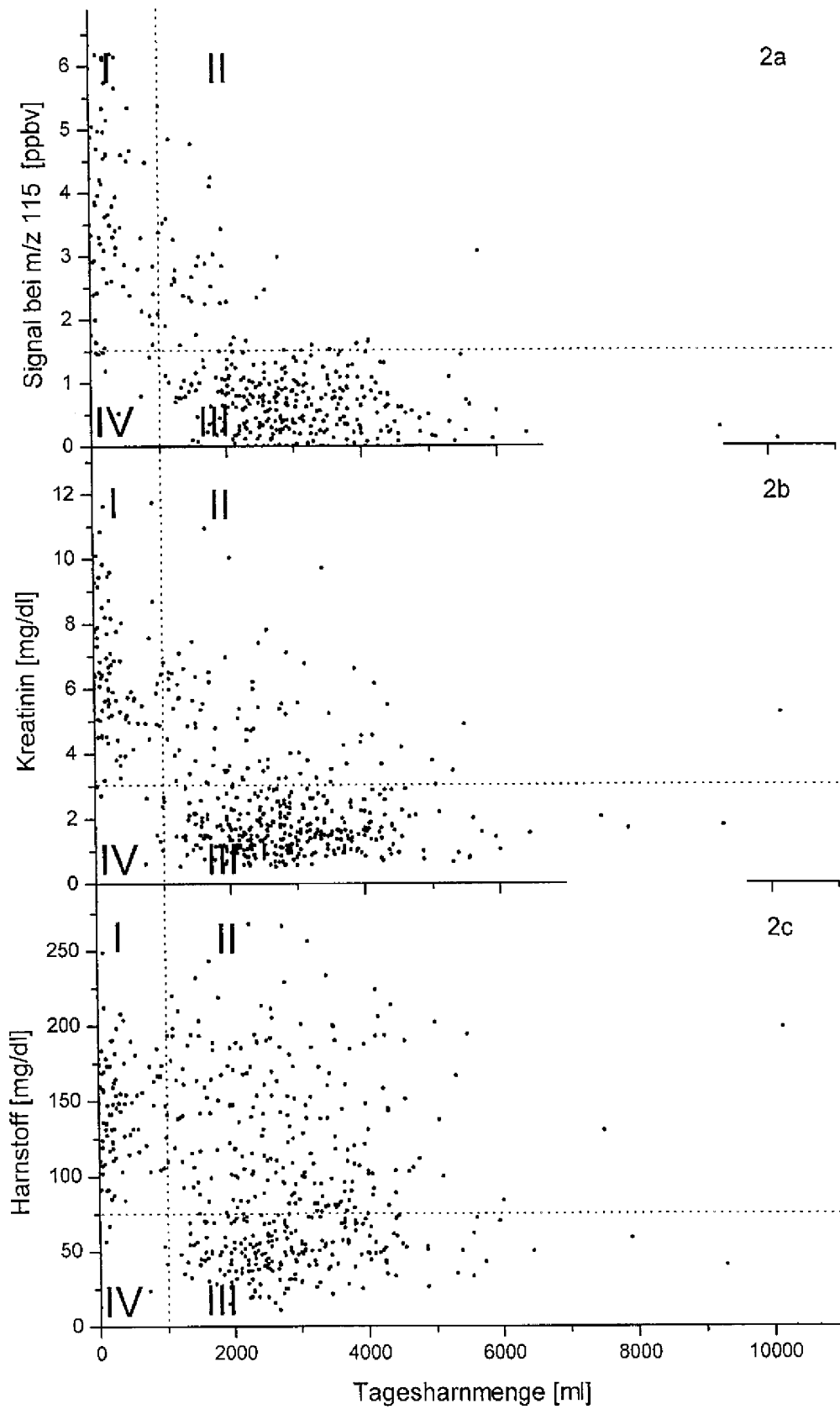
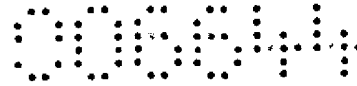


Fig. 2



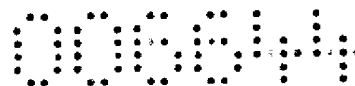


e-14

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion eines Probanden durch Bestimmung der Menge wenigstens eines Biomarkers charakteristisch für die Reinigungsleistung der Niere und Vergleich mit einem Standard, wobei die Menge an einem extrakorporalen Körperfluid ermittelt wird, wobei der wenigstens eine Biomarker ein Aldehyd und/oder ein Keton mit vier bis acht Kohlenstoffatomen ist, dadurch gekennzeichnet,
  - (a) dass das Körperfluid die Ausatemluft ist oder
  - (b) dass das Körperfluid ausgewählt ist aus der Gruppe Harn, Blut, Exkrement, Sekret, wobei die Menge an Aldehyd oder Keton am Dampf des Körperfluids ermittelt wird, wenn dieser im thermodynamischen Gleichgewicht mit seiner flüssigen oder festen Phase ist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd ausgewählt ist aus der Gruppe  $C_4H_8O$ ,  $C_6H_{10}O$ ,  $C_7H_{14}O$ ,  $C_8H_{16}O$ , vorzugsweise Butanal, 2-Methylpropanal, 2-Hexenal, 2-Methylhexanal, Octanal und das Keton ausgewählt ist aus der Gruppe  $C_4H_8O$ ,  $C_6H_{10}O$ ,  $C_7H_{14}O$ ,  $C_8H_{16}O$  vorzugsweise 2-Butanon, Cyclohexanon, 3-Penten-2-on, 2,2,4-Trimethyl-3-Pentanon.
3. Medizintechnische Vorrichtung, umfassend eine Aufnahmevorrichtung für Atemgas, ein medizintechnisches Gerät und einen Detektor zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen im Atemgas.
4. Medizintechnische Vorrichtung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass das medizintechnische Gerät eine Hämodialysevorrichtung, ein Narkosegerät, ein Patientenüberwachungsgerät für Operationen und Intensivstationen oder Kombinationen daraus umfasst.
5. Medizintechnische Vorrichtung nach Anspruch 3 oder Anspruch 4, gekennzeichnet durch eine Vorrichtung zur Anzeige der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen.
6. Medizintechnische Vorrichtung nach einem der Ansprüche 3 bis 5, gekennzeichnet durch eine Steuereinheit oder Regeleinheit, welche bei Unterschreiten einer bestimmten Aldehydkonzentration oder Ketonkonzentration ein Signal abgibt und/oder das medizintechnische Gerät deaktiviert.

**NACHGEREICHT**



7. Medizintechnische Vorrichtung nach einem der Ansprüche 3 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Detektor zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen ein Protonentauschreaktion-Quadrupol-Massenspektrometer (PTR-MS) oder ein Protonentauschreaktion-Flugzeitmassenspektrometer (PTR-TOF-MS) ist.
8. Verfahren zur Bestimmung des Dialysefortschritts bei einem Probanden unter Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 3 bis 7.
9. Verfahren zur Bestimmung der Nierenfunktion bei einem Probanden unter Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 3 bis 7.
10. Verwendung eines Detektors zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen in Atemgas zur Ermittlung der Nierenfunktion eines Probanden.
11. Verwendung eines Detektors zur Erfassung der Konzentration von Aldehyden und/oder Ketonen in Atemgas zur Ermittlung des Dialysefortschritts bei einem Probanden.

**NACHGEFERTIGT**

Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß IPC:  
**G01N 33/50** (2006.01); **G01N 33/497** (2006.01)

Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß ECLA:  
 G01N 33/50D4; G01N 33/497

Recherchierter Prüfstoﬀ (Klassifikation):  
 G01N

Konsultierte Online-Datenbank:  
 Wpi, Epuboc, Pubmed, Medline, Embase

Dieser Recherchenbericht wurde zu den am **15. Juli 2011** eingereichten Ansprüchen 1-4 erstellt.

Kategorie <sup>1</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	Alhamdani MS, Al-Kassir AH, Jaleel NA, Hmood AM, Ali HM. Elevated levels of alkanals, alkenals and 4-HO-alkenals in plasma of hemodialysis patients. Am J Nephrol. 2006;26(3):299-303. Epub 2006 Jun 28. "Table 1", Seite 300 letzter Absatz, "Results"	1, 2, 4
A		3
X	Hermanns RC, de Zwart LL, Salemink PJ, Commandeur JN, Vermeulen NP, Meerman JH. Urinary excretion of biomarkers of oxidative kidney damage induced by ferric nitrilotriacetate. Toxicol Sci. 1998 Jun;43(2):241-9 *Figur 6*	1, 2, 4
A		3
A	Herbig J, Müller M, Schallhart S, Titzmann T, Graus M, Hansel A. On-line breath analysis with PTR-TOF. J Breath Res. 2009 Jun;3(2):027004. Epub 2009 Jun 9 *Zusammenfassung*	1-4

Datum der Beendigung der Recherche: 15. Februar 2012

Fortsetzung siehe Folgeblatt

Prüfer(in): GÖRNER W.

<p><sup>1</sup> Kategorien der angeführten Dokumente:</p> <p><b>X</b> Veröffentlichung von <b>besonderer Bedeutung</b>: der Anmeldegegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden.</p> <p><b>Y</b> Veröffentlichung von <b>Bedeutung</b>: der Anmeldegegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese <b>Verbindung für einen Fachmann naheliegend</b> ist.</p>	<p><b>A</b> Veröffentlichung, die den <b>allgemeinen Stand der Technik</b> definiert.</p> <p><b>P</b> Dokument, das <b>von Bedeutung</b> ist (Kategorien X oder Y), jedoch <b>nach dem Prioritätstag</b> der Anmeldung veröffentlicht wurde.</p> <p><b>E</b> Dokument, das <b>von besonderer Bedeutung</b> ist (Kategorie X), aus dem ein <b>älteres Recht</b> hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen).</p> <p><b>&amp;</b> Veröffentlichung, die Mitglied der selben <b>Patentfamilie</b> ist.</p>
--	---