**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

**(51) Internationale Patentklassifikation 5 :**
**A61K 35/16, A61L 2/18**
**C07K 3/20, B01D 15/18**

**A1**

**(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 91/14439**

**(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:** 3. Oktober 1991 (03.10.91)

**(21) Internationales Aktenzeichen:** PCT/EP91/00503

**(22) Internationales Anmeldedatum:** 16. März 1991 (16.03.91)

**(30) Prioritätsdaten:**
P 40 08 852.9 20. März 1990 (20.03.90) DE

**(71) Anmelder:** OCTAPHARMA AG [CH/CH]; Schweizerhofstraße 1, CH-8750 Glarus (CH).

**(72) Erfinder:** WOLTER, Dieter ; Scharnhorststraße 16, D-5800 Hagen (DE). SCHWINN, Horst ; Alter Kirchhainer Weg 28, D-3550 Marburg (DE).

**(74) Anwälte:** WERNER, Hans-Karsten usw. ; Deichmannhaus am Hauptbahnhof, D-5000 Köln 1 (DE).

**(81) Bestimmungsstaaten:** AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent).

**Veröffentlicht**
*Mit internationalem Recherchenbericht.*

**(54) Title:** PROCESS FOR PRODUCING NON-INFECTIOUS BLOOD PLASMA

**(54) Bezeichnung:** VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON NICHT-INFEKTIÖSEM BLUTPLASMA

**(57) Abstract**

In a process for producing non-infectious blood plasma, the plasma is treated with non-ionic tensides, the lipid phase is separated and the non-ionic tenside is removed by solid-phase extraction on hydrophobic materials.

**(57) Zusammenfassung**

Es wird ein Verfahren beschrieben zur Herstellung von nicht-infektiösem Blutplasma, wobei das Plasma mit nicht-ionischen Tensiden behandelt, die Lipidphase abgetrennt und das nicht-ionische Tensid durch Festphasenextraktion an hydrophoben Materialien entfernt wird.

*LEDIGLICH ZUR INFORMATION*

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **AT** | Österreich | **ES** | Spanien | **ML** | Mali |
| **AU** | Australien | **FI** | Finnland | **MN** | Mongolei |
| **BB** | Barbados | **FR** | Frankreich | **MR** | Mauritanien |
| **BE** | Belgien | **GA** | Gabon | **MW** | Malawi |
| **BF** | Burkina Faso | **GB** | Vereinigtes Königreich | **NL** | Niederlande |
| **BG** | Bulgarien | **GN** | Guinea | **NO** | Norwegen |
| **BJ** | Benin | **GR** | Griechenland | **PL** | Polen |
| **BR** | Brasilien | **HU** | Ungarn | **RO** | Rumänien |
| **CA** | Kanada | **IT** | Italien | **SD** | Sudan |
| **CF** | Zentrale Afrikanische Republik | **JP** | Japan | **SE** | Schweden |
| **CG** | Kongo | **KP** | Demokratische Volksrepublik Korea | **SN** | Senegal |
| **CH** | Schweiz | **KR** | Republik Korea | **SU** | Soviet Union |
| **CI** | Côte d'Ivoire | **LI** | Liechtenstein | **TD** | Tschad |
| **CM** | Kamerun | **LK** | Sri Lanka | **TG** | Togo |
| **CS** | Tschechoslowakei | **LU** | Luxemburg | **US** | Vereinigte Staaten von Amerika |
| **DE** | Deutschland | **MC** | Monaco | | |
| **DK** | Dänemark | **MG** | Madagaskar | | |

# Verfahren zur Herstellung von nicht-infektiösem Blutplasma

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von nicht-infektiösem Blutplasma.

Blutplasma wird in der Medizin für eine Fülle von Indikationen verwendet. Entsprechend groß ist seine klinische Bedeutung. Das Blutplasma wird durch Abtrennung der Blutzellen aus Vollblut, das Spendern entnommen worden ist, gewonnen. Um Infektionen des Patienten mit pathogenen Bestandteilen, wie Hepatitisviren und HIV des Spenderplasmas zu vermeiden, müssen diese frei von intakten Viren sein. Deshalb war es bislang nur möglich, Plasmen von einzelnen Spendern einzusetzen, die nach einer längeren Beobachtungszeit als gesund im Sinne von Virusfreiheit betrachtet werden konnten. Ein Vermischen (Poolen) von Plasmen mehrerer Spender war ausgeschlossen.

Nachteilig an dieser Verfahrensweise ist der enorme Aufwand, der durch die einzelnen Präparationen aufgewendet werden muß. Eine kontinuierliche Arbeitsweise ist mit den derzeit bestehenden Arbeitstechniken nicht möglich. Bedingt dadurch tritt ein weiterer Nachteil in Erscheinung. Es ist nur mit unverhältnismäßig hohem, kaum vertretbarem Aufwand möglich, standardisierte Plasmapräparationen herzustellen. Bedingt durch die Einzelzubereitung schwankt beispielsweise der Proteingehalt in der Spenderfraktion. Daher muß bei Verwendung des durch Einzelzubereitung hergestellten Plasmas jeweils der aktuelle Proteingehalt der betreffenden Charge berücksichtigt werden.

Ein großes Problem stellt die Entfernung des zur Inaktivierung der infektiösen Bestandteile verwendeten Mittels dar. Nach einer vom New-York-Blood-Center entwickelten Verfahrensweise werden zur Virus-Inaktivierung Detergenzien verwendet. Ein großes Problem besteht darin, diese Detergenzien nach erfolgter Virus-Inaktivierung dem Plasma wieder zu entziehen. Horowitz schlägt vor, die mit Detergenzien behandelten Zubereitungen mittels hydrophober Chromatographie durch Umkehrphasenmaterialien vom Detergenz zu befreien.

Das der Erfindung zugrunde liegende technische Problem ist somit die Bereitstellung eines kontinuierlichen Verfahrens zur Herstellung eines nicht-infektiösen Blutplasmas. Die sich daraus ergebenden Probleme betreffen unter anderem eine sichere und zuverlässige Verfahrensweise zur Entfernung der virus-inaktivierenden Detergenzien. Darüber hinaus ist es wünschenswert, bereits bei der Herstellung der Plasmapräparate solche mit standardisiertem Proteingehalt zu erhalten.

Die der Erfindung zugrunde liegenden technischen Probleme werden gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung von nicht-infektiösem Blutplasma, wobei das Plasma mit nicht-ionischen Tensiden behandelt, die Lipidphase abgetrennt und das nicht-ionische Tensid durch Festphasenextraktion an hydrophoben Materialien entfernt wird.

Das Blutplasma kann dabei sowohl von frisch hergestellten Plasmapräparationen stammen als auch von tiefgefrorenen Fraktionen. Dabei wird gefrorenes Plasma in einem Wasserbad aufgetaut. Sobald eine gewisse Temperatur, die vorzugsweise 25°C beträgt, erreicht ist, wird das Plasma

gegebenenfalls filtriert und der pH-Wert der Lösung kontrolliert. Der Auftauvorgang wird vorzugsweise in einer Zeit von etwa 1 bis 2 Stunden durchgeführt. Der pH-Wert der Lösung beträgt vorzugsweise 7,0 bis 7,4.

Danach wird das so behandelte Blutplasma mit einer Mischung aus nicht-ionischen Tensiden und destilliertem Wasser bei 20 bis 40°C, vorzugsweise 30°C, behandelt. Als nicht-ionische Tenside kommen insbesondere Tri-N-Butylphosphat (TNBP) und/oder Triton X-100 in Frage. Es ist vorteilhaft, die Mischung unter leichtem Rühren einige Zeit bei erhöhter Temperatur zu behandeln. Anschließend wird die Lipidfraktion durch Zentrifugation entfernt. Es ist vorteilhaft, vor dem Zentrifugationsschritt die Lipidfraktion mit biologisch verträglichen Lipiden, wie Pflanzenöl, insbesondere Sojaöl und/oder Rizinusöl, anzureichern. In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden dabei ca. 10 % Pflanzenöl zugefügt. Nach der Zentrifugation werden Lipid- und Plasmaschicht getrennt. Vorzugsweise kann dies mittels eines Siphons oder einer kontinuierlich arbeitenden Zentrifuge mit automatischer Phasentrennung geschehen.

Die Plasmaschicht wird gesammelt, während die Lipidschicht verworfen wird. Danach schließt sich gegebenenfalls ein Filtrationsschritt an, woraufhin das restliche noch vorhandene nicht-ionische Detergenz aus dem Plasma mittels Festphasenextraktion beseitigt wird. Vorzugsweise ist das hydrophobe Material zur Festphasenextraktion das aus der Umkehrphasen-Chromatographie (reversed phase chromatographie) bekannte Material. Dazu gehören vorzugsweise mit C-18 beschichtete Trägermaterialien, wie sie auch in der Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie Verwendung finden. In einer bevorzugten Ausführungsform

kann die Festphasenextraktion in Form einer Chromatographie erfolgen. Das Verhältnis zwischen Bettvolumen und dem aufzuarbeitenden Plasmavolumen beträgt vorzugsweise 1 : 6 bis 1 : 20, besonders bevorzugt 1 : 10.

Nach der Festphasenextraktion schließt sich gegebenenfalls eine Kontrolle des pH-Wertes an. Der pH-Wert der Lösung wird auf pH 7,0 bis 7,4 nachjustiert. Danach schließt sich eine Sterilfiltration an, woraufhin gewünschtenfalls das Blutplasma gefriergetrocknet wird in Gegenwart üblicher Lyophilisations-Hilfsmittel, wie Lysin oder Glycin.

Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht es, von der üblichen Einzelzubereitung des Plasmas abzugehen. Das Verfahren ist geeignet im industriellen Maßstab durchgeführt zu werden. Insbesondere wird eine kontinuierliche Verfahrensweise ermöglicht. Ein weiterer Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens liegt darin, daß aufgrund der kontinuierlichen Verfahrensgestaltung die Bedingungen so gewählt werden können, daß das Endprodukt jeweils gleiche oder zumindest sehr ähnliche Proteinkonzentrationen aufweist. Dies macht die klinische Handhabung der Blutplasma-Präparate, insbesondere bei Mehrfachgabe, unproblematischer, da die wechselnde Proteinmenge, die sich aus den Einzelpräparationen ergibt, entfällt.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird anhand des folgenden Ausführungsbeispiels näher erläutert:

20 l Blutplasma (80 x 250 ml) werden im Wasserbad bei 25°C für die Dauer von 1,5 Stunden aufgetaut. Gewünschtenfalls wird die Fraktion nach dem Auftauen über Gazefilter oder Filterpatronen (z.B. Firma Pal, 100 µm)

filtriert. Sodann wird das Plasma in einen 50 l Edelstahlkessel bei 30°C gefüllt. Für Rühroperationen wird ein Propeller-Blattrührer verwendet. Der pH-Wert des aufgetauten Plasmas wird überprüft und mit 0,5 N-Salzsäure auf einen Wert von pH 7,0 bis 7,4 eingestellt.

Es wird eine Mischung von TNBP, Triton X-100 und destilliertem Wasser hergestellt. Die Mengen betragen vorzugsweise TNBP : Triton X-100 : destilliertes Wasser = 0,5 bis 2 : 0,5 bis 2 : 2 bis 4. Bei der vorliegenden Ansatzgröße wurde in besonders bevorzugter Weise 200 ml TNBP, 200 ml Triton X-100 und 800 ml destilliertes Wasser verwendet. Die Mischung wird ebenfalls auf ca. 30°C erwärmt. Danach fügt man die Mischung der nicht-ionischen Tenside dem Plasma hinzu. Die Mischung wird bei 30°C vorsichtig gerührt. Nach 4 Stunden schließt sich die Zentrifugation des Plasmas an. Vorzugsweise wird mit 4.000 Umdrehungen pro Minute eine Stunde lang bei 12°C zentrifugiert. Es empfiehlt sich, zur Vergrößerung der Lipidphase etwa 10 % (v/v) Soja- oder Rizinusöl der Reaktionsmischung vor der Zentrifugation hinzuzugeben. Nach der Zentrifugation werden Lipid- und Plasmaschicht getrennt. Dies kann vermittels eines Siphon geschehen. Die Plasmaschichten werden gesammelt und mit Protein-inerten Filtermembranen (z.B. Firma Pal, 3 - 5 $\mu$m) filtriert. Man erhält 19 l Plasma.

Diese Menge wird mit "C-18 präparativ" Adsorbens (Waters, Inc.) behandelt. Bei der angefallenen Menge von 19 l werden vorzugsweise 1,2 kg in 2,4 l Wasser aufgeschlämmt. Die Chromatographie wird an einer Säule mit 15 cm Durchmesser durchgeführt. Die Fließrate beträgt 300 ml/min. Das Eluat wird mittels eines UV-Monitors überwacht. Die

austretende Plasmafraktion wird gesammelt und gegebenenfalls auf einen pH von 7,0 bis 7,4 mit 0,5 N-Natronlauge eingestellt.

Das Plasma wird über Membranfilter (0,22 µm) steril filtriert und gefriergetrocknet, nachdem es in 250 ml Flaschen abgefüllt wurde.

PATENTANSPRÜCHE:

1. Verfahren zur Herstellung von nicht-infektiösem Blutplasma, wobei das Plasma mit nicht-ionischen Tensiden behandelt, die Lipidphase abgetrennt und das nicht-ionische Tensid durch Festphasenextraktion an hydrophoben Materialien entfernt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das tiefgefrorene Blutplasma im Wasserbad bei 20 bis 30°C schonend aufgetaut wird.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei der pH-Wert des Plasmas auf pH 7,0 bis 7,4 eingestellt wird.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei als nicht-ionische Tenside Tri-N-Butylphosphat (TNBP) und/oder Triton X-100 eingesetzt werden.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei eine wäßrige Mischung von TNBP und Triton X-100 eingesetzt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei das Mischungsverhältnis von TNBP : Triton X-100 : Wasser = 0,5 bis 2 : 0,5 bis 2 : 2 bis 4 ist.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die Lipidphase durch Zentrifugation abgetrennt wird.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei vor der Abtrennung der Lipidschicht biologisch kompatible Lipide zugesetzt werden.

9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei die Lipidmenge ca. 10 % (v/v) beträgt.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei die Festphasenextraktion mit Materialien für die Umkehrphasen-Chromatographie (reversed phase) durchgeführt wird.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei Octadecyl derivatisierte Materialien für die Umkehrphasen-Chromatographie Verwendung finden.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei die Festphasenextraktion durch C-18 Umkehrphasen-Chromatographie erfolgt.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei auf die Festphasenextraktion gegebenenfalls nach Kontrolle des pH-Wertes und Justierung auf pH 7,0 bis 7,4 eine Sterilfiltration durchgeführt wird.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei das Blutplasma gefriergetrocknet wird gegebenenfalls in Gegenwart üblicher Hilfsmittel zur Lyosilisierung.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 91/00503

**I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER** (if several classification symbols apply, indicate all) [6]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl.[5] A61K 35/16, A61L 2/18, C07K 3/20, B01D 15/18

**II. FIELDS SEARCHED**

Minimum Documentation Searched [7]

| Classification System | Classification Symbols |
|---|---|
| Int.Cl.[5] | A61K; A61L; B01D; C07K |

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [8]

**III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT** [9]

| Category * | Citation of Document, [11] with indication, where appropriate, of the relevant passages [12] | Relevant to Claim No. [13] |
|---|---|---|
| P,X | EP, A1, 0366946 (NEW YORK BLOOD CENTER, INC.) 9 May 1990 , see page 4,line 32 - line 44 | 1-14 |
| Y | EP, A1, 0367840 (OCTAPHARMA AG) 16 May 1990 see column 3,line 49 - line 58 | 1-14 |
| Y | Chemical Abstracts, vol. 111,No. 3, 17 July 1989 (Columbus. Ohio, US), Nilsson, Staffan et al: "Rapid purification of detergent-solubilized bovine hormone-sensitive lipase by high performance hydrophobic interaction chromatography" see page 281,abstract 19908j, & Biomed . Chromatogr. 1989, 3(2), 82-87 | 1-14 |
| A | EP, A2, 0050061 (SHANBROM, EDWARD) 21 April 1982 see abstract,claim 3 | 1-14 |
| A | US, A, 4591505 (ALFRED M. PRINCE) 27 May 1986 see the whole document | 1-14 |
| A | EP, A2, 0047462 (BIOTEST-SERUM-INSTITUT GMBH) 17 March 1982 see example 1,page 15 | 1-14 |

* Special categories of cited documents: [10]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

**IV. CERTIFICATION**

| Date of the Actual Completion of the International Search | Date of Mailing of this International Search Report |
|---|---|
| 18 June 1991 (18.06.91) | 5 July 1991 (05.07.91) |
| **International Searching Authority** | **Signature of Authorized Officer** |
| EUROPEAN PATENT OFFICE | |

# ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. PCT/EP 91/00503

SA 45695

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 29/05/91
The European Patent office is in no way liable for theseparticulars which are merely given for the purpose of information.

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | | Publication date |
|---|---|---|---|---|
| EP-A1- 0366946 | 09/05/90 | AU-D- | 4155989 | 13/09/90 |
| | | JP-A- | 2198561 | 07/08/90 |
| EP-A1- 0367840 | 16/05/90 | WO-A- | 90/05140 | 17/05/90 |
| EP-A2- 0050061 | 21/04/82 | US-A- | 4315919 | 16/02/82 |
| | | US-A- | 4412985 | 01/11/83 |
| | | US-A- | 4314997 | 09/02/82 |
| US-A- 4591505 | 27/05/86 | AU-B- | 561900 | 21/05/87 |
| | | AU-D- | 1346283 | 20/10/83 |
| | | CA-A- | 1207229 | 08/07/86 |
| | | EP-A-B- | 0099445 | 01/02/84 |
| | | JP-A- | 58222023 | 23/12/83 |
| | | US-A- | 4481189 | 06/11/84 |
| EP-A2- 0047462 | 17/03/82 | DE-A-C- | 3033932 | 18/03/82 |
| | | JP-A- | 57080323 | 19/05/82 |
| | | US-A- | 4370264 | 25/01/83 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 91/00503

## I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)[5]

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klasssifikation und der IPC

Int.Cl.5 A 61 K 35/16, A 61 L 2/18, C 07 K 3/20, B 01 D 15/18

## II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff[7]

| Klassifikationssystem | Klassifikationssymbole |
|---|---|
| Int.Cl.5 | A 61 K; A 61 L; B 01 D; C 07 K |

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen[8]

## III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN[9]

| Art * | Kennzeichnung der Veröffentlichung[11], soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile[12] | Betr. Anspruch Nr.[13] |
|---|---|---|
| P,X | EP, A1, 0366946 (NEW YORK BLOOD CENTER, INC.) 9 Mai 1990, siehe Seite 4, Zeile 32 - Zeile 44 | 1-14 |
| Y | EP, A1, 0367840 (OCTAPHARMA AG) 16 Mai 1990, siehe Spalte 3, Zeile 49 - Zeile 58 | 1-14 |
| Y | Chemical Abstracts, Band 111, Nr. 3, 17 Juli 1989, (Columbus, Ohio, US), Nilsson, Staffan et al: "Rapid purification of detergent-solubilized bovine hormone-sensitive lipase by high performance hydrophobic interaction chromatography", siehe Seite 281, Zusammenfassung 19908j, & Biomed.Chromatogr. 1989, 3( 2), 82- 87 | 1-14 |

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen[10]:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

## IV. BESCHEINIGUNG

| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
|---|---|
| 18. Juni 1991 | - 5. 07. 91 |
| **Internationale Recherchenbehörde** | **Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten** |
| Europäisches Patentamt | M. PEIS M. Peis |

III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

| Art * | Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|---|---|---|
| A | EP, A2, 0050061 (SHANBROM, EDWARD)<br>21 April 1982, siehe Zusammenfassung,<br>Anspruch 3<br><br>-- | 1-14 |
| A | US, A, 4591505 (ALFRED M. PRINCE)<br>27 Mai 1986,<br>siehe Dokument insgesamt<br><br>-- | 1-14 |
| A | EP, A2, 0047462 (BIOTEST-SERUM-INSTITUT GMBH)<br>17 März 1982,<br>see example 1 page 15<br><br>-- | 1-14 |
| | --- | |

# ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.PCT/EP 91/00503

SA 45695

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 29/05/91
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | | Datum der Veröffentlichung |
|---|---|---|---|---|
| EP-A1- 0366946 | 09/05/90 | AU-D- | 4155989 | 13/09/90 |
| | | JP-A- | 2198561 | 07/08/90 |
| EP-A1- 0367840 | 16/05/90 | WO-A- | 90/05140 | 17/05/90 |
| EP-A2- 0050061 | 21/04/82 | US-A- | 4315919 | 16/02/82 |
| | | US-A- | 4412985 | 01/11/83 |
| | | US-A- | 4314997 | 09/02/82 |
| US-A- 4591505 | 27/05/86 | AU-B- | 561900 | 21/05/87 |
| | | AU-D- | 1346283 | 20/10/83 |
| | | CA-A- | 1207229 | 08/07/86 |
| | | EP-A-B- | 0099445 | 01/02/84 |
| | | JP-A- | 58222023 | 23/12/83 |
| | | US-A- | 4481189 | 06/11/84 |
| EP-A2- 0047462 | 17/03/82 | DE-A-C- | 3033932 | 18/03/82 |
| | | JP-A- | 57080323 | 19/05/82 |
| | | US-A- | 4370264 | 25/01/83 |

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82