

Code de distribution interne :

- (A) [] Publication au JO
(B) [] Aux Présidents et Membres
(C) [X] Aux Présidents
(D) [] Pas de distribution

D E C I S I O N
du 4 octobre 2001

N° du recours : T 0220/99 - 3.3.4

N° de la demande : 89403319.0

N° de la publication : 0373044

C.I.B. : C12N 5/00

Langue de la procédure : FR

Titre de l'invention :

Support biologique pour cultures cellulaires constitué de protéines plasmatiques coagulées par la thrombine, son utilisation pour la culture des kératinocytes, leur récupération et leur transport à des fins d'utilisation thérapeutique

Titulaire du brevet :

CENTRE REGIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE DE LILLE

Opposant :

Baxter Trading GmbH

Référence :

Support biologique/CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE

Normes juridiques appliquées :

CBE Art. 123(2), 56

Mot-clé :

"Extension au-delà du contenu de la demande - non"
"Activité inventive - oui"

Décisions citées :

G 0001/93, T 0606/89, T 0384/91, T 0273/92, T 0506/95

Exergue :

-



N° du recours : T 0220/99 - 3.3.4

D E C I S I O N
de la Chambre de recours technique 3.3.4
du 4 octobre 2001

Requérant : Baxter Trading GmbH
(Opposant) Industriestraße 67
A-1220 Wien (AT)

Mandataire : Böhm, Sabine
Hoffmann Eitle
Patent und Rechtsanwälte
Arabellastraße 4
D-81925 München (DE)

Adversaire : CENTRE REGIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE DE LILLE
(Titulaire du brevet) 19-21 rue Camille Guérin
F-59012 Lille (FR)

Mandataire : Richebourg, Michel
CABINET LEPEUDRY
43, rue de la Brèche aux Loups
F-75012 Paris (FR)

Décision attaquée : Décision intermédiaire de la division d'opposition de
l'Office européen des brevets signifiée par voie
postale le 29 octobre 1998 concernant le maintien du
brevet européen n° 0 373 044 dans une forme modifiée.

Composition de la Chambre :

Président : L. Galligani
Membres : F. L. Davison-Brunel
S. U. Hoffmann

Exposé des faits et conclusions

I. La demande de brevet européen 89 403 319.0 a donné lieu à la délivrance du brevet n° 0 373 044 ayant pour titre "Support biologique pour cultures cellulaires constitué de protéines plasmatiques coagulées par la thrombine, son utilisation pour la culture des kératinocytes, leur récupération et leur transport à des fins d'utilisation thérapeutique." sur la base d'un jeu de 12 revendications pour tous les états contractants désignés.

La revendication 1 était libellée comme suit :

"1. Support biologique pour cultures cellulaires constitué du mélange:

- d'un concentré de protéines coagulables par la thrombine, obtenu par traitement à l'éthanol de plasma humain, et contenant des proportions équilibrées de fibrinogène, et de préférence plus de 90%, de Facteur XIII, et de préférence au moins 0,1 UI/g, et de fibronectine, et de préférence de 0,03 à 0,1 g/g,
- et de la quantité de thrombine calcique nécessaire pour déclencher la coagulation, caractérisé
- en ce qu'il est conditionné et lyophilisé pour être utilisé :
 - par simple remise en solution aqueuse sur une boîte de type boîte de Pétri pour y former un film
 - et par ajustement de la pression osmotique dudit

film à une pression physiologique comprise entre 260 et 340 mosM, de préférence avec du milieu de culture pour cellules,

- et en ce qu'il est ainsi compatible avec la multiplication des cellules du type kératinocytes humaines ce qui permet la formation de fragments d'épiderme de remplacement."

- II. La Requérante (Opposante) a formé opposition au brevet et requis sa révocation pour manque de nouveauté et d'activité inventive au titre de l' article 100 a) CBE.
- III. Par décision intermédiaire signifiée par voie postale le 29 octobre 1998, la Division d'opposition a maintenu le brevet sur la base d'un jeu de revendications modifiées.
- IV. La Requérante a formé un recours à l'encontre de cette décision, a acquitté la taxe de recours et déposé un mémoire exposant les motifs de son recours.
- V. L'Intimée (titulaire du brevet) a répondu au mémoire de recours de la Requérante.
- VI. La Chambre a envoyé une notification conformément à l'article 11 (2) CBE du règlement de procédure des chambres de recours pour indiquer son opinion provisoire sur certains des points soulevés par les parties.
- VII. A la procédure orale du 4 octobre 2001, l'Intimée a déposé comme requête principale un nouveau jeu de revendications 1 à 11. La revendication 1 est libellée comme suit :

"1. Utilisation du film, compatible avec la

multiplication des cellules de type kératinocytes humaines, et obtenu :

- par le conditionnement séparé et la lyophilisation de chacun des deux composants :
 - a) un concentré de protéines coagulables par la thrombine, obtenu par traitement à l'éthanol de plasma humain, et contenant des proportions équilibrées de fibrinogène, et de préférence plus de 90%, de facteur XIII, et de préférence au moins 0,1 UI/g, et de fibronectine, et de préférence de 0,03 à 0,1 g/g,
 - b) la quantité de thrombine calcique nécessaire pour déclencher la coagulation,
- la simple remise en solution aqueuse des deux composants a) et b),
- leur mélange sur une boîte de type boîte de Pétri
- et par ajustement de la pression osmotique dudit film à une pression physiologique comprise entre 260 et 340 mosM, de préférence avec du milieu de culture pour cellules,

pour constituer, par culture en employant ledit film comme support biologique de kératinocytes humains, un tissu de remplacement directement récupérable, transportable et applicable comme greffon."

Les revendications 2 à 11 concernent des caractéristiques additionnelles de l'utilisation selon la revendication 1.

VIII. Les documents auxquels il est fait référence dans la présente décision sont les suivants :

- (1) : Redl, H. et al., Sonderdruck aus "Die medizinische Welt", 22/85, 31 Mai 1985, pages 3 à 10, 776,
- (3) : Rupp, G., "Fibrinklebung in der Verbrennungschirurgie - Plastischen Chirurgie", P.R.Zellner (Hrsg), Springer-Verlag Eds, 1988, pages 83 à 88,
- (6) : Green, H. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA, Vol.76, No. 11, 1979, pages 5665 à 5668,
- (10) : Birkedal-Hansen, H. et Taylor, R.E., Biochemica et Biophysica Acta, Vol. 756, 1983, pages 308 à 318,
- (11) : Hunyadi, J. et al., J.Dermatol.Surg.Oncol. Vol. 14, No. 1, January 1988, pages 75 à 77.

IX. Les arguments de la Requérante présentés par écrit et au cours de la procédure orale peuvent en substance être résumés comme suit :

- Dans la demande telle que déposée, il n'est à aucun moment fait mention de ce que les deux composants du film dont l'utilisation est revendiquée sont conditionnés séparément, non plus que du fait que la thrombine soit lyophilisée. Contrairement à l'opinion de l'Intimée, cette dernière caractéristique n'est pas sans importance pour la bonne marche de l'invention puisque, dépendant du mode de préservation envisagé, des quantités plus ou moins

importantes de stabilisant sont ajoutées à la thrombine, ce qui implique que la quantité de thrombine à utiliser pour produire le film dépend dudit mode de conditionnement.

L'objet de la revendication 1 s'étend donc au delà du contenu de la demande telle que déposée et la protection conférée a aussi été étendue. Les exigences de l'article 123 CBE ne sont pas satisfaites.

- L'art antérieur le plus proche de l'objet de la revendication 1 peut être considéré comme étant le document (3) qui décrit à la page 85 l'utilisation d'une colle biologique à base de fibrine pour recouvrir en couche fine un transplant de peau déposé sur une plaie. La différence d'avec l'objet de la revendication 1 est que les cellules du transplant, entre autres, des kératinocytes, n'ont pas été multipliées **in vitro** avant transplantation. Cependant, la multiplication de fibroblastes **in vitro** dans une colle biologique à base de fibrine est décrite dans le document (1). A la date de priorité, la personne du métier aurait eu connaissance de ces deux documents et aurait considéré évident de les combiner pour en arriver à utiliser un film à base de fibrine dans le but d'obtenir la croissance de kératinocytes **in vitro**.
- Alternativement, l'art antérieur le plus proche peut être considéré comme étant le document (10) qui divulgue à la page 311 que les kératinocytes sont capables de se multiplier **in vitro** dans des puits dont la surface est recouverte de fibrine et qui contiennent un milieu de croissance approprié. Le

problème à résoudre partant de cet enseignement est de produire un support alternatif pour la croissance des kératinocytes. Il a été résolu de manière évidente par l'utilisation de boîtes de Pétri.

- Le document (6) peut aussi être considéré comme l'art antérieur le plus proche. A la page 5666, il décrit la culture sur boîtes de Pétri de cellules d'épiderme sur un milieu contenant des cellules "helper", de la toxine du choléra et du facteur de croissance épidermique. De larges fragments d'épithélium sont ainsi obtenus dont il est suggéré à la page 5668 qu'ils puissent être utilisés pour le traitement de brûlures. En combinaison avec les enseignement du document (11) ou du document (3) selon lesquels les kératinocytes/cellules d'épidermes sont capables de se multiplier sur une plaie où ils ont été transportés mélangés à une colle biologique à base de fibrine, donc de composition similaire à celle du film dont l'utilisation est revendiquée, l'enseignement du document (6) rend évident l'utilisation d'un tel film pour la croissance **in vitro** des kératinocytes conduisant à la formation de fragments d'épiderme.

Quelque soit l'approche utilisée, l'objet de la revendication 1 manque d'activité inventive.

X. Les arguments de l'Intimée présentés par écrit et au cours de la procédure orale peuvent en substance être résumés comme suit.

- La demande telle que déposée divulgue que les composants a) et b) du film dont l'utilisation est revendiquée sont conditionnés séparément par exemple

à la page 6, lignes 31 à 35 (exemple B). Elle ne divulgue pas de manière explicite que la thrombine puisse être préservée sous forme lyophilisée. Pour la personne du métier, cette caractéristique aurait cependant été évidente puisqu'à la date de priorité, les composants destinés à être mélangés pour former des colles biologiques à base de fibrine, y compris la thrombine, étaient mis à la disposition du public sous forme lyophilisée.

Les exigences de l' article 123 CBE sont remplies.

- L'art antérieur le plus proche de l'objet de la revendication 1 est le document (6) qui divulgue la culture de cellules d'épiderme **in vitro** sur boîte de Pétri pour obtenir des fragments d'épithélium dont il est suggéré qu'ils soient utilisés en tant que greffon. Leur utilisation à cet effet requiert qu'ils soient détachés de leur support à l'aide d'une protéase et transférés sur un support intermédiaire avant que d'être déposés sur la plaie à soigner. La première de ces opérations entraîne une rétraction du tapis cellulaire, et donc, une perte d'un certain pourcentage de la superficie du greffon. La seconde ajoute encore aux pertes encourues.

Le problème technique à résoudre est d'éviter la perte de surface du greffon associée au procédé décrit dans le document (6) et d'ainsi faciliter l'obtention de greffons en quantité suffisante, en un temps réduit.

Ce problème est résolu en effectuant l'étape finale de la croissance des cellules épidermiques (kératinocytes) sur le film dont l'utilisation est

revendiquée, film qui se détache facilement de la boîte de Pétri, ne se rétracte pas et peut directement être appliqué sur la plaie.

Les documents (3) et (11), entre autres, enseignent que des cellules d'épithélium/kératinocytes permettent la cicatrisation naturelle lorsqu'ils sont directement déposés sur la plaie où ils sont maintenus par de la colle biologique à base de fibrine. Il n'y a pas lieu de combiner l'enseignement de ces documents avec celui du document (6) puisqu'ils ont trait à une cicatrisation **in situ**, processus totalement différent de celui de la production d'un greffon. Si, cependant, ces enseignements étaient combinés à celui du document (6) parce qu'ils divulguent que les kératinocytes se multiplient en présence de la colle, il n'en resterait pas moins que cette combinaison ne rendrait en aucune manière évidente les propriétés surprenantes du film dont l'utilisation comme support de greffon est revendiquée, qui est décollable, non rétractable et autoporteur.

- Le document (1) a trait à une culture de fibroblastes **in vitro** dans deux colles de propriétés différentes en vue d'étudier la toxicité de ces colles. Cet enseignement n'a pas d'implications pour l'utilisation d'un film en tant que support de greffon. Le document (10) a trait à une étude de la croissance de kératinocytes dans des conditions telles qu'ils ne sont décollables de la boîte de Pétri que par traitement à la trypsine. Il ne laisse donc pas présager ni ne suggère comment obtenir des fragments d'épithélium **in vitro** "prêts à l'emploi".

L'objet de la revendication 1 et des revendications dépendantes 2 à 11 est inventif.

XI. La Requérante (opposante) demande l'annulation de la décision contestée et la révocation du brevet n° 0 373 044.

L'Intimée (titulaire du brevet) demande l'annulation de la décision attaquée et le maintien du brevet sur les bases du jeu de revendications 1 à 11 soumis à la procédure orale du 4 octobre 2001 et d'une description qui doit y être adaptée.

Motifs de la décision

Article 123(2)(3) CBE

1. La Requérante a argumenté que l'objet de la revendication 1 s'étend au-delà du contenu de la demande telle que déposée parce que cette demande ne divulgue pas que le concentré de protéines (caractéristique a)) et la thrombine calcique (caractéristique b)) sont conditionnés séparément, non plus que le fait que ladite thrombine soit lyophilisée.
2. En ce qui concerne la première de ces objections, la Chambre remarque que le passage dans la demande telle que déposée, page 3, ligne 30 à page 4, ligne 7 divulgue que: *Le concentré est conditionné et lyophilisé pour être conservé...Au moment de son utilisation, le concentré est redissous...Pour déclencher le processus de coagulation... on ajoute de la thrombine.*" S'il est nécessaire d'ajouter la thrombine au concentré de

protéines pour obtenir le support biologique, il faut, bien sûr, que les deux composants aient été initialement conditionnés séparément. L'objection est donc sans fondement.

3. Dans la présente revendication 1 tout comme dans la revendication 1 telle que délivrée, il est stipulé que la thrombine nécessaire pour la formation du film à partir du concentré de protéines est préservée sous forme lyophilisée. Cette caractéristique n'est divulguée de manière ni explicite, ni implicite dans la demande telle que déposée.
4. Selon la décision de la Grande Chambre de recours G 1/93 (OJ EPO 1994, 541), *une caractéristique qui n'a pas été divulguée dans la demande telle que déposée, mais a été ajoutée à celle-ci au cours de la procédure d'examen et qui, sans apporter de contribution technique à l'objet de l'invention revendiquée, ne fait que limiter la protection conférée par le brevet tel que délivré en excluant de la protection une partie de l'objet de l'invention revendiquée par la demande telle que déposée, ne doit pas être considéré comme un élément étendant l'objet de brevet au-delà du contenu de la demande telle qu'elle a été déposée au sens de l'article 123(2) CBE.* Dans la décision T 384/91 (OJ EPO 1995, 745), la Chambre alors compétente a déterminé qu'une caractéristique qui, en interagissant avec les autres caractéristiques de la revendication, influe sur la solution du problème tel qu'il est présenté dans la demande déposée initialement ne peut être considérée comme n'apportant pas de contribution technique à l'objet de l'invention revendiquée.
5. Au vu de cette jurisprudence, il s'agit dans le cadre de

l'article 123 CBE d' évaluer si la caractéristique de la thrombine d'être "lyophilisée", qui n'a pas été divulguée dans la demande telle que déposée, apporte ou non une contribution technique à l'objet de la revendication.

6. A la procédure orale, la Requérante a fait mention de ce que différentes quantités de stabilisant sont ajoutées à la thrombine en fonction du mode de préservation choisi. A son avis, celà implique que les quantités de thrombine à utiliser pour résoudre le problème de la coagulation du concentré de protéines dépendent de ce mode de préservation; autrement dit que celui-ci a une influence sur la solution du problème qui consiste à obtenir un film tel que celui dont l'utilisation est revendiquée.

7. Dans la revendication 1 de la demande telle que déposée, la solution à ce problème est définie comme étant l'utilisation de la thrombine **en quantité nécessaire pour déclencher la coagulation**. Pour une quantité de concentré de protéines donnée, cette quantité de thrombine sera nécessairement toujours la même. Que la personne du métier soit amenée à effectuer la mise en solution aqueuse de la thrombine en tenant compte de sa concentration ne change rien au fait. En conséquence, on peut conclure que le mode de préservation n'influe pas sur la solution du problème de l'obtention du film dont l'utilisation est revendiquée. Donc, la caractéristique de la thrombine d'être lyophilisée est une des caractéristiques pour lesquelles il est considéré dans la décision G 1/93 (voir plus haut) qu'elle n'étend pas l'objet du brevet au-delà du contenu de la demande telle que déposée.

8. Les exigences de l' article 123 CBE sont donc satisfaites.

9. Aucune objection pour manque de clarté ou manque de nouveauté n'a été émise à l'encontre des revendications de la requête principale. La question qui reste à répondre est celle de savoir si une activité inventive peut être reconnue à l'objet revendiqué.

10. Au cours de la procédure orale, les documents (3), (10) et (6) ont été cités par la Requérante comme pouvant, chacun, être considéré comme l'art antérieur le plus proche. Selon la jurisprudence des chambres de recours de l'OEB (voir, en particulier, T 606/89 du 18 septembre 1990 et T 273/92 du 18 aout 1993), l'art antérieur le plus proche à partir duquel évaluer l'activité inventive est généralement celui qui correspond à l'utilisation semblable qui exige le moins de modifications structurelles et fonctionnelles. Un document ne saurait être considéré comme constituant l'art antérieur le plus proche d'une invention du seul fait de la similitude des substances entrant dans la composition des produits. De la même manière, il est stipulé dans la décision T 506/95 du 5 février 1997 que l'art antérieur le plus proche est celui qui est le plus approprié pour atteindre l'objectif visé par l'invention et pas uniquement celui qui présente apparemment des ressemblances structurelles avec la solution de l'invention.

11. Dans le cas présent, il ressort clairement du libellé de la revendication 1 que l'objectif visé par l'invention est la constitution **in vitro** d'un tissu de remplacement, à partir de kératinocytes. Par ailleurs, le document (3) a trait à l'utilisation d'une colle biologique de

structure similaire à celle du film dont l'utilisation est revendiquée pour maintenir un transplant de peau sur une plaie (page 85, lignes 6 à 13). Le document (10) est une étude de la production d'activateur de plasminogène par des kératinocytes cultivés **in vitro**. Le document (6) décrit la production de feuillets épidermiques **in vitro**, dont il est suggéré qu'ils puissent être utilisés comme tissu de remplacement. En accord avec la jurisprudence citée au point 10, la Chambre estime donc que l'art antérieur le plus proche est le document (6).

12. Le document (6) (pages 5667 à 5668) divulgue que des cellules d'épiderme inoculées dans un milieu contenant des cellules irradiées comme support de croissance, de la toxine du choléra et du facteur de croissance épidermique sont capables de croître pour former des feuillets d'épithélium. Ces feuillets d'épithélium adhèrent à la surface du **support** constitué de la boîte de Pétri contenant le milieu de croissance approprié. Ils peuvent en être détachés par traitement avec une protéase, la dispase, ledit traitement entraînant une rétraction de la superficie de l'épiderme de deux fois et demie (page 5667, colonne de droite et Fig. 1). Comme il a déjà été mentionné plus haut, il est suggéré à la page 5668 que ces feuillets d'épithélium puissent être utilisés pour le traitement de brûlures, c'est-à-dire être applicables comme greffon sur une plaie.
13. Partant de cet art antérieur, le problème technique à résoudre peut être défini comme étant l'utilisation d'un **support alternatif** pour la constitution des feuillets d'épithélium éventuellement applicables comme greffon.
14. La solution apportée est un **support biologique** constitué par un film obtenu à partir de fibrinogène, facteur XIII

et fibronectine traités par la thrombine. En présence de milieu de culture, les kératinocytes se multiplient sur ce support biologique avec formation de feuillets d'épithélium. Ces feuillets adhèrent au film, qui, lui, n'adhère pas à la boîte de Pétri. Ils sont donc récupérables sans traitement enzymatique. De plus, le film porteur interagit avec les feuillets d'épithélium de telle sorte qu'ils ne se rétractent pas lors du prélèvement. Leur transfert sur une plaie peut se faire directement par transfert du film porteur, c'est-à-dire qu'il ne nécessite pas l'utilisation d'un support additionnel comme c'est le cas pour les feuillets d'épithélium produits sur le support "boîte de Pétri, milieu de croissance" décrit dans le document (6).

15. Selon la Requérante, la combinaison des enseignements du document (6) avec ceux du document (11) ou (3) rend évidente la solution çï-dessus. Les documents (11) et (3) ont trait à l'utilisation **in vivo** de colles biologiques ayant des compositions très proches de celle du film dont l'utilisation est revendiquée. Dans le document (11), (page 76), la colle à l'état liquide et contenant des kératinocytes est versée directement sur la plaie, où elle se solidifie. Dans le document (3), elle est vaporisée sur la plaie à la surface de laquelle a été déposé un transplant.

16. Dans l'opinion de la Chambre, c'est seulement par un raisonnement **a posteriori**, c'est-à-dire tenant compte de la divulgation de la composition du film selon l'invention dans le brevet attaqué que le document (11) ou (3) pourrait être pris en considération pour l'évaluation de l'activité inventive pour la raison que ces documents décrivent des colles à la composition très proche de celle dudit film. Un tel raisonnement **a**

posteriori n'est pas acceptable. En fait, les documents (11) et (3) ont trait à un processus de cicatrisation plutôt qu'à un processus d'obtention de greffon et donc, ils ne décrivent pas les propriétés physiques (adhésivité, rétractabilité, fragilité) des colles contenant les kératinocytes déposés sur la plaie ou recouvrant le transplant, propriétés physiques essentielles dans l'optique de produire un support de greffon. La personne du métier n'aurait donc pas été amenée à combiner les enseignements des documents (11) ou (3) à celui du document (6) pour résoudre le problème résolu par l'invention. Il n'y a pas dans l'état technique cité d'autres documents dont les enseignements combinés à celui du document (6) suggéreraient l'invention de manière évidente.

17. Par ailleurs, les propriétés physiques du film dont l'utilisation est revendiquée sont définitivement avantageuses pour ladite utilisation, par rapport à celles du support pour feuillets d'épiderme décrits dans le document (6) (boîte de Pétri contenant du milieu de culture; voir point 14, ci-dessus).
18. La Chambre conclut donc à l'activité inventive de l'objet de la revendication 1 et des revendications 2 à 11 qui en découlent.

Dispositif

Par ces motifs, il est statué comme suit:

1. L'affaire est renvoyée à l'instance du premier degré afin de maintenir le brevet avec les revendications

soumises à la procédure orale du 4 octobre 2001 et une description qui doit y être adaptée.

Le Greffier:

Le Président:

P. Cremona

L. Galligani