

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. Januar 2002 (10.01.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/02152 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61L 2/00, 2/10
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/02410
- (22) Internationales Anmeldedatum:
4. Juli 2001 (04.07.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
100 31 851.7 4. Juli 2000 (04.07.2000) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BLUTSPENDEDIENST DER LANDESVERBÄNDE DES DEUTSCHEN ROTEN KREUZES NIEDERSACHSEN, SACHSEN-ANHALT, OLDENBURG UND BREMEN GGMBH** [DE/DE]; Eldagsener Str. 38, 31830 Springe (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **MOHR, Harald** [DE/DE]; Rühmkorffstr. 11, 30177 Hannover (DE).
- (74) Anwälte: **SCHUPFNER, Georg, U.** usw.; Müller, Schupfner & Gauger, Parkstrasse 1, 21244 Buchholz (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht:**
- mit internationalem Recherchenbericht
 - vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.



WO 02/02152 A1

(54) Title: PHOTODYNAMIC TREATMENT AND UV-B IRRADIATION OF A THROMBOCYTE SUSPENSION

(54) Bezeichnung: PHOTODYNAMISCHE BEHANDLUNG UND UV-B- BESTRAHLUNG EINER THROMBOZYTEN-SUSPENSION

(57) Abstract: The invention relates to a method for inactivating viruses and for killing leukocytes in thrombocyte suspensions by a combination of photodynamic treatment and UV-B irradiation.

(57) Zusammenfassung: Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Inaktivierung von Viren und Abtöten von Leukozyten in Thrombozyten-Suspensionen durch eine Kombination von photodynamischer Behandlung und UV-B-Bestrahlung.

Photodynamische Behandlung und UV-B- Bestrahlung einer Thrombozyten-Suspension

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Inaktivierung von Viren und zum Abtöten
5 von Leukozyten in Thrombozyten-Suspensionen durch eine Kombination von photodynamischer Behandlung und UV-B-Bestrahlung.

Es ist bekannt, dass die therapeutische Anwendung von Blutpräparaten das Risiko
birgt, dass die Empfänger des Blutpräparates mit Viren infiziert werden. Genannt
10 seien z.B. die Viren Hepatitis-Viren B (HBV) und C (HCV) sowie die Aids-Erreger HIV-1 und HIV-2. Das Risiko besteht immer dann, wenn bei der Herstellung des Präparates kein Schritt zur Virusinaktivierung bzw. Viruseliminierung Anwendung findet.

Bei gereinigten Plasmaproteinkonzentraten wie z.B. Albumin, Faktor-VIII- und
Faktor-IX-Präparaten werden Verfahren zur Virusinaktivierung bzw. Viruseli-
minierung angewandt, so dass diese inzwischen als virussicher gelten. Auch das Vi-
rusrisiko von Frischplasma lässt sich durch Anwendung unterschiedlicher Metho-
den zumindest reduzieren. Eine Methode ist z.B. die Quarantänelagerung. Hierbei
20 wird das Plasma für 3 bis 6 Monate tiefgefroren gelagert und erst dann zur Anwen-
dung freigegeben, wenn eine neue Blutprobe des betreffenden Spenders erneut auf
die üblichen Marker für HBV, HCV, HIV-1 und HIV-2 geprüft und als negativ be-
funden wurde. Eine derartige Methode ist für zelluläre Blutprodukte, wie z.B. E-
rythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate nicht anwendbar, da diese nur eine
25 Haltbarkeitsdauer von ca. 7 Wochen bzw. 5 Tagen besitzen. Zelluläre Blutprodukte
können aus naheliegenden Gründen auch nicht durch eine Solvent/Detergens-
Behandlung virussicher gemacht werden, wie dies bei Plasmaprotein-Konzentraten
und auch bei Plasma möglich ist: Erythrozyten und Thrombozyten würden hier-
durch lysiert.

30 Es wird intensiv daran gearbeitet, zelluläre Blutprodukte mittels photodynamischer
Verfahren zu dekontaminieren. Die photodynamische Virusinaktivierung beruht
darauf, dass das betreffende Präparat in Lösung bzw. Suspension in Gegenwart ei-
ner photoaktiven Substanz, eines Photosensitizers, belichtet wird. Das eingestrahlte
35 Licht muss eine Wellenlänge aufweisen, die von der photoaktiven Substanz absor-
biert wird. Er wird dadurch aktiviert und überträgt diese Aktivierungsenergie ent-
weder direkt auf ein Substrat, das dadurch zerstört bzw. geschädigt wird oder aber
auf Sauerstoffmoleküle: Aktivierte Sauerstoff-Spezies, d.h. Sauerstoffradikale oder

Singlet-Sauerstoff wirken stark viruzid. Im günstigen Fall besitzt die eingesetzte photoaktive Substanz eine große Affinität zu Virusbestandteilen, z.B. zur viralen Nukleinsäure und nur eine geringe zu sonstigen Komponenten, die im betreffenden Präparat enthalten sind. So werden Viren inaktiviert und andere Komponenten nicht alteriert. Breitere Verwendung findet derzeit nur ein photodynamisches Verfahren gemäß dem Europäischen Patent 0 491 757-B1 (H. Mohr und B. Lambrecht, Verfahren zur Inaktivierung von Viren in Blut und Blutprodukten). Es wird zur Virusinaktivierung bei Frischplasma eingesetzt. Als photoaktive Substanz dient in der technischen Anwendung vor allem der Phenothiazin-Farbstoff Methylenblau. Anstelle von Methylenblau kann auch Toluidinblau verwendet werden. Auch die Demethylierungsprodukte von Methylenblau, d.h. die Azurfarbstoffe A, B und C sowie Thionin sind photodynamisch aktiv und zur photodynamischen Virusinaktivierung geeignet.

Das U.S.-Patent 5,545,516 (S. J. Wagner: Inactivation of extracellular enveloped viruses in blood and blood components by phenothiazin-5-ium dyes plus light) beschreibt die Inaktivierung extrazellulärer Viren mit Hilfe von Phenothiazinfarbstoffen in Kombination mit sichtbarem Licht. Nach der US 5,545,516 werden die Präparate vor der photodynamischen Behandlung mittels spezieller Filter von Leukozyten befreit, da die Virusinaktivierungsmethode keine zellassozierten Viren bzw. Proviren erfasst. Die Methode ist gleichfalls nicht imstande, die im Blut vorkommenden kleinen nicht umhüllten Viren, wie z.B. Hepatitis-A-Viren (HAV) zu inaktivieren. Freie Viren, die Lipidhüllen besitzen, wie z.B. der Aids-Erreger HIV-1 und die Hepatitis-Viren B und C (HBV, HCV), sind dagegen gemäß diesem Verfahren inaktivierbar.

Leukozyten in Blutprodukten können mittels UV-Bestrahlung abgetötet werden. Bei Thrombozytensuspensionen hat sich hierfür die Bestrahlung mit UV-B (Wellenlängenbereich 290-320 nm) als sinnvoll erwiesen, da zur Leukozytendepletion ein Energieeintrag von 1 bis 3 J/cm² in der Regel ausreicht, der die Thrombozyten noch nicht all zu sehr beeinträchtigt, so dass sie therapeutisch einsetzbar bleiben.

Ein Energie-Eintrag durch Bestrahlung mit UV-B von größer 10 J/cm² wirkt zusätzlich viruzid (K.N. Prodoux; J.C. Fratanoni, E.J. Boone und R.F. Bonner in Blood, 70 (2), 589-592 (1987): Use of Laser-UV for inactivation of virus in blood products. Allerdings werden Thrombozyten hierbei derart geschädigt, dass ihre Anwendbarkeit in Frage gestellt werden muss (J.C. Fratanoni und K.N. Prodoux in Transfusion 30(6); 480-481 (1990): Viral inactivation of blood products).

Aufgabe der Erfindung ist es somit, eine effektive Methode zur Inaktivierung humanpathogener Viren und von Leukozyten in Thrombozyten-Suspensionen, insbesondere Thrombozytenkonzentraten (TK), zur Verfügung zu stellen. TK werden aus
5 Blutspenden durch Differentialzentrifugation oder direkt von Spendern durch maschinelle Trombozytapherese gewonnen.

Überraschend wurde gefunden, dass die Kombination von photodynamischer Behandlung mit einer UV-B-Bestrahlung in Thrombozyten-Suspensionen bzw. TK
10 effektiv die der photodynamischen Virusinaktivierung zugänglichen Viren erfasst und gleichzeitig die in den Medien enthaltenen Leukozyten abzutöten vermag und somit das Infektionsrisiko durch zellassoziierte Viren bzw. Proviren beseitigt. Weiterhin wurde überraschenderweise gefunden, dass durch die Kombination der Methoden die zum Abtöten der Leukozyten erforderliche Menge an UV-B-Strahlung
15 bedeutend geringer sein kann als bei der Bestrahlung mit UV-B allein. Gleichfalls überraschend war, dass die zusätzliche Behandlung der Thrombozytensuspensionen mit UV-B mit einer Intensität, die für sich allein fast wirkungslos bei der Inaktivierung von Viren ist, die Effizienz der photodynamischen Behandlung deutlich steigert.

20 Das erfindungsgemäße Verfahren zur Behandlung einer Thrombozyten-Suspension ist wie folgt gekennzeichnet:

- (A) Aussetzen der Suspension einer Strahlung eines Wellenlängenbereiches von
25 400 bis 750 nm, vorzugsweise 550 bis 700 nm, in Gegenwart einer oder mehrerer photoaktiver Substanzen, welche in dem Wellenlängenbereich ein oder mehrere Absorptionsmaxima aufweisen, und
- (B) Aussetzen der Suspension einer Strahlung eines Wellenlängenbereiches von
270 bis 330 nm, vorzugsweise 290 bis 320 nm,

wobei die Schritte (A) und (B) in beliebiger Reihenfolge, Abfolge erst (A) dann (B)
30 oder Abfolge erst (B) dann (A), und/oder zeitlich überlappend angewandt werden können. Bevorzugte Ausführungsformen sind Gegenstand der Unteransprüche.

Die Thrombozyten-Suspension weist vorzugsweise eine Konzentration von mehr
35 5×10^8 Thrombozyten pro ml, besonders bevorzugt von mehr als 10^9 /ml auf. Die Thrombozyten können z.B. in Plasma oder in einem Thrombozyten-Lagerungsmedium mit beliebigem Plasma-Gehalt suspendiert sein.

Schritt A beinhaltet eine photodynamische Behandlung der Thrombozyten-Suspension in Gegenwart einer photoaktiven Substanz mit sichtbarem Licht; Schritt B beinhaltet die Bestrahlung des Präparats – der thrombozytenhaltigen Suspension - mit Licht im Wellenlängenbereich von UV-B. Als UV-B Bereich der Bestrahlung im Sinne der Erfindung wird der Wellenlängenbereich 270 nm bis 330 nm angesehen.

Die Konzentration der eingesetzten photoaktiven Substanz und der Energie-Eintrag durch die Belichtung und die UV-B-Bestrahlung sind so bemessen, dass eventuell vorhandene Viren inaktiviert und die in den Thrombozyten-Suspensionen enthaltenen Leukozyten abgetötet werden, die Funktionsfähigkeit der Thrombozyten aber erhalten bleibt.

Als Behältnisse zur Behandlung der Thrombozyten-Suspensionen dienen UV-B-durchlässige Behältnisse, die vorzugsweise aus Kunststoff bestehen und z.B. die Form von Beuteln haben können. Es ist aber auch denkbar, die photodynamische und die UV-B-Behandlung in unterschiedlichen Behältnissen durchzuführen.

Denkbar ist auch, die UV-B-Behandlung der Thrombozyten-Suspensionen durchzuführen, während die Thrombozyten-Suspensionen von einem Behältnis in ein anderes überführt wird.

Als photoaktive Substanzen können z.B. die Phenothiazin-Farbstoffe Methylenblau, Azur A, B, C und Thionin benutzt werden. Andere photoaktive Substanzen sind, z.B. in den für die Virusinaktivierung in Blutprodukten aus der Literatur bekannten Konzentrationen, ebenfalls vorteilhaft einsetzbar. Bei Phenothiazin-Farbstoffen wie Thionin liegt der denkbare Konzentrationsbereich zwischen ca. 0,1 und 10 μM , bevorzugt zwischen ca. 0,5 und 5 μM oder 1 und 5 μM .

Als Lichtquelle für die photodynamische Behandlung, insbesondere beim Einsatz von Thionin, dienen vorzugsweise Niederdruck-Natriumdampf lampen, deren Lichtemissionsmaximum bei 590 nm liegt. Dies entspricht in etwa dem Absorptionsmaximum von Thionin, das in wässriger Lösung ca. 595 nm beträgt. Es sind aber auch andere Lichtquellen denkbar, insbesondere dann, wenn eine photoaktive Substanz verwendet wird, die Licht in einem anderen Wellenlängenbereich absorbiert als beispielsweise Thionin.

Für die Bestrahlung mit UV-B können spezielle Röhren, Lampen oder Laser eingesetzt werden, die ultraviolettes Licht im Wellenlängenbereich zwischen ca. 270 – 330 nm emittieren. Der Energie-Eintrag durch die UV-B-Behandlung kann zwischen 0,1 und 10 J/cm², vorzugsweise zwischen 0,3 und 6 J/cm², besonders bevorzugt zwischen 0,5 und 3 J/cm² liegen.

Versuchsbeispiele

1. Allgemeines:

10

Die nachstehend beschriebenen Versuche wurden mit TK durchgeführt, die aus einzelnen Blutspenden isoliert wurden und in Blutplasma suspendiert waren. Als photoaktive Substanz wurde Thionin (Th) eingesetzt. Ähnliche Ergebnisse lassen sich aber auch mit anderen photoaktiven Substanzen erzielen, beispielsweise den Phenothiazin-Farbstoffen Methyleneblau und dessen Abkömmlingen Azur A, B und C. Die Erfindung wird durch die Versuchsbeispiele lediglich erläutert, nicht aber in ihrem Umfang beschränkt.

15

2. Materialien und Methoden

20

Die bei den Versuchen eingesetzten TK wurden in Thrombozytenrotatoren für bis zu 5 Tage gelagert. Lagerbehältnisse waren kommerziell erhältliche PVC-Beutel. Zur photodynamischen und zur UV-B-Behandlung wurden die TK in Plastikbeutel aus Poly-Olefin überführt, deren Folienmaterial durchlässig für UV-B ist. Zur Belichtung in der Gegenwart von Thionin wurde eine Anlage benutzt, die mit Niederdruck-Natrium-Dampflampen ausgestattet ist. Die TK wurden von beiden Seiten belichtet. Zur Bestrahlung mit UV-B wurde ein Flächenstrahler eingesetzt, der mit UV-Röhren versehen war, die vornehmlich UV-Licht im Wellenlängenbereich zwischen 290 und 320 nm emittierten.

25

30

Als Testvirus wurde im allgemeinen Vesicular Stomatitis-Virus (VSV) eingesetzt, das leicht in der Zellkultur propagierbar und demzufolge auch in CPE-Assays quantifizierbar ist (CPE = cytopatischer Effekt). Im Versuch 1 wurden darüber hinaus noch eine Reihe anderer Viren eingesetzt. VSV wurde in Vero-Zellen propagiert. Die selben Zellen wurden auch für die Infektiositätsassays eingesetzt, mit denen die Virustiter bestimmt wurden. Das benutzte Zellkulturmedium war RPMI 1640 mit 10 % fötalem Kälberserum und Antibiotika. Die Assays wurden in Mikrotiterplatten durchgeführt. Die betreffenden Proben wurden in 1 zu 3er-

35

Schritten herunterverdünnt. Pro Verdünnung wurden 8 Replikate getestet. Die Virustiter sind als $\log_{10}TCID_{50}$ ausgedrückt (TCID = Tissue Culture Infective Doses) und wurden entsprechend der Vorgabe von Kärber und Spearman berechnet (G. Kärber in Naunym-Schmiedebers Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 162, 480-483
5 (1931): Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche; C. Spearman in Br.J.Psychol. 2, 277-282 (1908): The method of „right and wrong cases“ (“constant stimuli“) without Gauss for mulae).

10 Als Funktionstests für Thrombozyten wurden die hypotone Schockreaktion und die Collagen-induzierte Aggregation verwendet.

Mononukleäre Zellen wurden mittels Dichtegradienten-Zentrifugation aus Spenderblut isoliert. Bei den betreffenden Experimenten wurden diese in einer Konzentration von $5 \times 10^5/ml$ den Thrombozytensuspensionen zugesetzt. Nach der photodynamischen Behandlung bzw. UV-B-Bestrahlung wurden Aliquots der Suspensionen niedrigtourig zentrifugiert (1500 rpm für 4 min.). Die pelletierten Zellen wurden dreimal mit Zellkulturmedium gewaschen (RPMI 1640 mit 10 % fötalem Kälberserum und Antibiotika) und dann im selben Medium resuspendiert. Die Zellkonzentration wurde auf $5 \times 10^5/ml$ eingestellt. Für den Proliferationsassay wurden die
15 Zellen mit Concanavalin A (ConA, 2 $\mu g/ml$) stimuliert und in 200 μl -Aliquots für 3 - 4 Tage bei 37 °C im CO₂-begasteten Brutschrank kultiviert. Dann wurde den Zellkulturen zugegeben. Vier Stunden später wurde die BRDU-Einbaurrate (BRDU = Brom-Deoxyuridin) spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm (OD₄₅₀) bestimmt. Die Extinktionswerte sind dem BRDU-Einbau und damit der
20 Viabilität der Zellen proportional.

Versuch 1: Inaktivierung von Viren in TK durch Behandlung mit Thionin/Licht.

30 Eine Reihe von Viren wurde daraufhin untersucht, ob und in welchem Ausmaß sie durch die Behandlung mit Thionin/Licht inaktivierbar sind. Die Konzentration der photoaktiven Substanz war 1 μM . Wie die in der Tab. 1 zusammengefassten Ergebnisse zeigen, erwiesen sich verschiedene Viren als unterschiedlich empfindlich: so waren die Modellviren für das menschliche Hepatitis-C-Virus BVDV und CSFV
35 sowie das Togavirus SFV nach 5 Minuten Belichtung bereits völlig inaktiviert, während die Infektiösität von VSV und von SV-40 auch nach 30 Minuten noch nicht vollständig beseitigt worden war.

Versuch 2: Inaktivierung von VSV in TK durch Bestrahlung mit UV-B

Wie aus der Tab. 2 hervorgeht, ist VSV sehr resistent gegenüber der Bestrahlung mit UV-B. Noch nach 60 min. bzw. einem Energie-Eintrag von ca. 20 J/cm² war das Virus noch nicht völlig inaktiviert. Ab ca. 10 min. bzw. 3 J/cm² wirkte sich demgegenüber die UV-B-Bestrahlung negativ auf Funktionen und Lagerfähigkeit von Thrombozyten aus (nicht gezeigt).

10

Virus	VSV	CSFV	BVDV	SFV
Familie	Rhabdo	Flavi	Flavi	Toga
Genom	ssRNA	ssRNA	ssRNA	ssRNA
Belichtungszeit (min)	30	5	5	5
Reduktion des Virustiters	4,4	≥5,5	≥4,9	≥5,2

15

Virus	HIV-1	SHV-1	SV-40
Familie	Retro	Herpes	Papova
Genom	ssRNA	dsDNA	DsDNA
Belichtungszeit (min)	30	10	30
Reduktion des Virustiters*	≥5,7	≥3,6	3,9

20

Tab. 1: Photodynamische Inaktivierung von Viren in TK durch Thio-
 nin/Lichtbehandlung. VSV = Vesicular Stomatitis-Virus; CSFV = Classical
 Swine Fever-Virus; BVDV = Bovines Virales Diarrhoe-Virus; SFV = Semli-
 ki Forest-Virus; HIV-1 = Humanes Immundefizienz-Virus, Typ 1; SHV-1 =
 Suid Herpes-Virus, Typ 1; SV-40 = Simian-Virus 40; ssRNA = Single Strand
 RNA; dsDNA = Double Strand DNA, * Reduktion des Virustiters in
 $\log_{10}TCID_{50}$.

25

30

	UV-B		Virus-Titer	Reduktionsfaktor
	Min.	J/cm ²	(log ₁₀ TCID ₅₀)	(log ₁₀ TCID ₅₀)
5	0	0	6,44	0
	10	3,25	5,48	0,96
	20	6,5	4,53	1,91
	30	9,75	4,35	2,09
	40	13	3,28	3,16
10	50	16,25	2,33	4,11
	60	19,5	1,61	4,83

Tab. 2: Inaktivierung von VSV in Thrombozytenkonzentraten durch Bestrahlung mit UV-B

15

Versuch 3: Inaktivierung von VSV in TK durch die Kombination Thionin / Licht und UV-B Strahlung

20

Bei diesen Versuchen betrug die Konzentration von Thionin wiederum 1 µM und die Belichtungszeit 30 min. Der Energie-Eintrag durch UV-B Strahlung betrug 2,4 J/cm² (Bestrahlungszeit: 8 min). Durch die photodynamische Behandlung allein wurde die Infektiösität um 4 bzw. 4,42 log₁₀ reduziert, durch UV-B Strahlung allein um 1,97 bzw. 2,21 log₁₀. In der Kombination wurde im ersten Versuch die Infektiösität völlig beseitigt ($\geq 7,04$ log₁₀), im zweiten um 6,26 log₁₀ reduziert (Tab. 3).

25

	Infektiösität (log₁₀LTCID₅₀)			
	Thionin/Licht	UV-B	Versuch 1	Versuch 2
	-	-	7,28 ± 0,29	6,68 ± 0,21
	+	-	2,86 ± 0,31	2,68 ± 0,12
30	-	+	5,07 ± 0,12	4,71 ± 0,17
	+	+	≤0,24 ± 0,00	0,42 ± 0,21

Tab. 3: Inaktivierung von VSV in TK durch Thionin/Licht, UV-B und die Kombination beider Arbeitsschritte.

Versuch 4: Einfluss der Behandlung mit Thionin / Licht in Kombination mit UV-B auf die Thrombozytenfunktionen.

5 Wie die Tab. 4 und 5 zeigen, werden sowohl die HSR (Hypotone Schockreaktion) als auch die Collagen-induzierte Aggregation von TK durch die kombinierte Behandlung mit Thionin/Licht und UV-B (Versuchsbedingungen: s. Versuch 3) nicht wesentlich stärker beeinflusst als durch die photodynamische Behandlung allein.

10	Nr. Behandlung	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3	
		Tag 1	Tag 3	Tag 1	Tag 3	Tag 1	Tag 3
	1 Kontrolle	71,98	63,07	66,71	60,78	78,16	62,59
	2 THIONIN/Licht	65,49	49,16	56,24	52,61	69,30	55,49
	3 UV-B (2,4 J/cm ²)	61,06	57,09	56,26	48,80	65,67	52,49
15	4 Thionin/Licht+UV-B	47,86	51,16	42,37	30,26	54,45	48,31

Tab. 4: Einfluss der Behandlung von Thrombozytensuspensionen mit Thionin/Licht ± UV-B auf die HSR (in % ausgedrückt) gemessen am Tag 1 und am Tag 3 nach der Behandlung.

20	Nr. Behandlung	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3	
		Tag 1	Tag 3	Tag 1	Tag 3	Tag 1	Tag 3
	1 Kontrolle	88,00	23,00	83,33	30,00	79,67	30,33
	2 THIONIN/Licht	73,25	13,75	84,67	27,67	69,67	15,67
	3 UV-B (2,4 J/cm ²)	76,25	11,25	73,33	24,50	75,67	20,00
25	4 Thionin/Licht+UV-B	69,75	16,75	76,67	53,50	58,33	30,33

Tab. 5: Einfluss der Behandlung von Thrombozytensuspensionen mit Thionin / Licht ± UVB auf die Collagen-induzierte Aggregation (in %, ausgedrückt), gemessen am Tag 1 und am Tag 3 nach der Behandlung.

30 Versuch 5: Inaktivierung von T-Lymphozyten in TK durch UV-B; Einfluss von Thionin/Licht.

TK wurden mononukleäre Zellen in einer Konzentration von 5×10^5 /ml zugefügt; dann wurden sie für verschiedene Zeiten mit UV-B bestrahlt bzw. allein oder zusätzlich mit Thionin/Licht behandelt (Farbstoff-Konzentration: 2 µM; Belichtungsdauer: 30 min.). Wie die in der Tab. 6 zusammengestellten Ergebnisse zeigen, war zur völligen Inaktivierung der Zellen eine Bestrahlungszeit von mindestens 4 min.

(1,2 J/cm²) notwendig. Wurden die TK zusätzlich mit Thionin/Licht behandelt, konnte sie auf ca. 3 min. verkürzt werden, obwohl Thionin/Licht allein keinen Einfluss auf die Proliferation der Zellen hatte.

	Nr.	UV-B (J/cm ²)	Th/Licht	ConA- Aktivierung	Absorption OD _{450nm}	Bemerkungen
	1	0	0	-	0,276	Negativ-Kontrolle
	2	0	0	+	0,269	Positiv-Kontrolle
5	3	0,6	-	+	1,767	
	4	0,9	-	+	0,747	
	5	1,2	-	+	0,297	
	6	0,6	+	+	1,020	
	7	0,9	+	+	0,387	
10	8	1,2	+	+	0,240	

Tab. 6: Inaktivierung von T-Lymphozyten in Thrombozytenkonzentraten durch Bestrahlung mit UV-B. Verstärkung der Wirkung durch vorherige Behandlung mit Th/Licht für 30 min. Die Zellen wurden nach der Bestrahlung bzw. Th/Licht-Behandlung mit ConA stimuliert. Die OD_{450nm}-Werte sind Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen. Sie repräsentieren die Einbaurate von BRDU in die Zellen nach einer Kultivierungszeit von 3 Tagen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Behandlung einer Thrombozyten-Suspension umfassend die folgenden Schritte:
 - 5 (A) Aussetzen der Suspension einer Strahlung eines Wellenlängenbereiches von 400 bis 750 nm in Gegenwart einer oder mehrerer photoaktiver Substanzen, welche in dem Wellenlängenbereich ein oder mehrere Absorptionsmaxima aufweisen, und
 - (B) Aussetzen der Suspension einer Strahlung eines Wellenlängenbereiches von
10 270 bis 330 nm,
wobei die Schritte (A) und (B) in beliebiger Reihenfolge und/oder zeitlich überlappend angewandt werden.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die
15 photoaktive Substanz ein Phenothiazin-Farbstoff ist.
3. Verfahren gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass als Phenothiazin-Farbstoffe Thionin, Methylenblau, Toluidinblau und/oder die Azurfarbstoffe A, B und C eingesetzt werden.
20
4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass die photoaktive Substanz in Schritt (A) in einer Konzentration von 0,5 und 10 μM , vorzugsweise 0,5 bis 5 μM eingesetzt wird.
- 25 5. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Intensität der Strahlung im Schritt (B) so bemessen ist, dass die Proliferationsfähigkeit von T-Lymphozyten, die in den Thrombozytenkonzentraten enthalten sind, um wenigstens 50 % reduziert wird, vorzugsweise um mehr als 75 %.
- 30 6. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt (B) der Energieeintrag 0,1 bis 10 J/cm^2 , vorzugsweise 0,5 bis 3 J/cm^2 beträgt.
- 35 7. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt (B) keine photoaktive Substanz anwesend ist, die ein Absorptionsmaximum im Wellenlängenbereich der Strahlung gemäß Schritt (B) aufweist.

8. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Thrombozyten-Suspensionen Thrombozytenkonzentrate sind.

5 9. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Thrombozyten-Suspensionen bzw. Thrombozytenkonzentrate aus Blutspenden oder durch Thrombozytapherese gewonnen wurden.

10 10. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Behandlung der Suspension gemäß Schritt (A) und/oder Schritt (B) in für die jeweilige Strahlung durchlässigen Kunststoffbehältnissen erfolgt.

15 11. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Behandlung der Suspension gemäß Schritt (A) und/oder Schritt (B) in einer für die jeweilige Strahlung durchlässigen Durchfluss-Apparatur erfolgt.

20 12. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Viruskonzentration der Suspension um mindestens 5, vorzugsweise um mindestens 6 \log_{10} Stufen erniedrigt wird.

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In national Application No
 PCT/DE 01/02410

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 A61L2/00 A61L2/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 7 A61L A61K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 04930 A (COBE LAB) 3 February 2000 (2000-02-03) page 6, line 18 -page 7, line 12 page 8, line 25,26 page 14 -page 15 page 19, line 10-17,23 page 21, line 14-20 page 24 page 26, line 15-18 ---	1-12
A	US 5 545 516 A (WAGNER STEPHEN J) 13 August 1996 (1996-08-13) cited in the application column 3, line 19-33,44,47,66,67 column 5, line 1-7 column 6, line 1-32 column 7, line 54-56 --- -/--	1-4,6,12

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *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 when the document is taken alone
- *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

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

5 December 2001

14/12/2001

Name and mailing address of the ISA
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Böhm, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCI/DE 01/02410

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 96 08965 A (CRYOPHARM CORP) 28 March 1996 (1996-03-28) page 2, line 13-23 page 3, line 12-19 page 4, line 13-18 page 7, line 15-19 page 15, line 11-26 page 17, line 13-21 page 21, line 8-13 page 33, line 3-8,21-25 page 36, line 22-25; example 1</p>	1-6,8,9
A	<p>WO 97 03706 A (CROIX ROUGE DE BELGIQUE ;GIAMBATTISTA MARIO DI (BE); LAUB RUTH (BE) 6 February 1997 (1997-02-06) page 1 -page 3 page 4, line 28-32 page 5, line 14-28 page 6, line 28-32 page 7, line 8-12 page 9, line 2-8</p>	1,7
A	<p>WO 98 31219 A (AMERICAN NAT RED CROSS ;ROWLAND INST FOR SCIENCE (US)) 23 July 1998 (1998-07-23) abstract page 6, line 18-20 page 7, line 1-6 page 8, line 24-27</p>	1-6,8
A	<p>US 6 077 659 A (RYWKIN SHANTI ET AL) 20 June 2000 (2000-06-20) column 1, line 35-41 column 3, line 30 -column 4, line 23</p>	1,6
A	<p>DE 39 30 510 A (BLUTSPENDEDIENST DT ROTE KREUZ) 21 March 1991 (1991-03-21) abstract the whole document</p>	1-3,5,6, 8,9,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 01/02410

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0004930	A	03-02-2000	US 6258577 B1	10-07-2001
			AU 5219899 A	14-02-2000
			BG 104362 A	30-04-2001
			CN 1287496 T	14-03-2001
			EE 200000172 A	16-04-2001
			EP 1047458 A2	02-11-2000
			HU 0004907 A2	28-05-2001
			NO 20001440 A	19-05-2000
			PL 340630 A1	12-02-2001
			SK 5832000 A3	18-01-2001
			WO 0004930 A2	03-02-2000
			US 6277337 B1	21-08-2001
US 5545516	A	13-08-1996	AU 7954691 A	27-11-1991
			WO 9116911 A1	14-11-1991
WO 9608965	A	28-03-1996	US 5516629 A	14-05-1996
			US 6251644 B1	26-06-2001
			US 5789601 A	04-08-1998
			US 5869701 A	09-02-1999
			AU 691672 B2	21-05-1998
			AU 3638595 A	09-04-1996
			CA 2199372 A1	28-03-1996
			EP 0782388 A1	09-07-1997
			JP 10506391 T	23-06-1998
			NO 971350 A	22-05-1997
			WO 9608965 A1	28-03-1996
			US 6169109 B1	02-01-2001
			US 5798238 A	25-08-1998
US 5955256 A	21-09-1999			
WO 9703706	A	06-02-1997	WO 9703706 A1	06-02-1997
			CA 2225470 A1	06-02-1997
			DE 69512416 D1	28-10-1999
			DE 69512416 T2	17-02-2000
			EP 0771324 A1	07-05-1997
			EP 0840624 A1	13-05-1998
			JP 10506607 T	30-06-1998
			JP 11509210 T	17-08-1999
			US 5834420 A	10-11-1998
			US 6190608 B1	20-02-2001
			WO 9831219	A
EP 0973383 A1	26-01-2000			
JP 2001514617 T	11-09-2001			
US 6030767 A	29-02-2000			
WO 9831219 A1	23-07-1998			
US 6077659	A	20-06-2000	US 5232844 A	03-08-1993
			US 5120649 A	09-06-1992
			AU 687993 B2	05-03-1998
			AU 1699395 A	21-08-1995
			BR 9506717 A	23-09-1997
			CA 2180977 A1	10-08-1995
			CN 1140410 A	15-01-1997
			EP 0796094 A1	24-09-1997
			JP 3029048 B2	04-04-2000
			JP 9508630 T	02-09-1997

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 01/02410

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
US 6077659	A	WO 9520961 A1	10-08-1995		
		US 5858643 A	12-01-1999		
		AU 696246 B2	03-09-1998		
		AU 7048594 A	20-12-1994		
		CA 2163636 A1	08-12-1994		
		EP 0702719 A1	27-03-1996		
		FI 955690 A	22-01-1996		
		JP 11503601 T	30-03-1999		
		KR 258377 B1	01-06-2000		
		NO 954815 A	26-01-1996		
		WO 9428120 A1	08-12-1994		
		US 6087141 A	11-07-2000		
		US 5658722 A	19-08-1997		
		US 5981163 A	09-11-1999		
		US 5712086 A	27-01-1998		
		US 6214534 B1	10-04-2001		
		US 5789150 A	04-08-1998		
		ZA 9403754 A	09-02-1995		
		US 6294361 B1	25-09-2001		
		AT 204602 T	15-09-2001		
		AU 660411 B2	29-06-1995		
		AU 7646991 A	21-11-1991		
		CA 2042494 A1	16-11-1991		
		DE 69132696 D1	27-09-2001		
		EP 0457196 A2	21-11-1991		
		FI 911389 A	16-11-1991		
		JP 2831155 B2	02-12-1998		
		JP 4226919 A	17-08-1992		
		KR 180917 B1	01-04-1999		
		NO 911876 A	18-11-1991		
		ZA 9103513 A	29-04-1992		
		DE 3930510	A 21-03-1991	DE 3930510 A1	21-03-1991
				AT 161681 T	15-01-1998
				AU 635068 B2	11-03-1993
		AU 6339190 A	18-04-1991		
		CA 2065842 A1	14-03-1991		
		CS 9200766 A3	12-08-1992		
		WO 9103933 A1	04-04-1991		
		DE 59010793 D1	12-02-1998		
		DK 491757 T3	07-09-1998		
		EP 0491757 A1	01-07-1992		
		EP 0593098 A2	20-04-1994		
		ES 2113347 T3	01-05-1998		
		FI 99192 B	15-07-1997		
		HU 60142 A2	28-08-1992		
		HU 215131 B	28-09-1998		
		JP 2965695 B2	18-10-1999		
		JP 5500366 T	28-01-1993		
		NO 300911 B1	18-08-1997		
		RU 2036235 C1	27-05-1995		

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/02410

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 A61L2/00 A61L2/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 A61L A61K C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
 EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 00 04930 A (COBE LAB) 3. Februar 2000 (2000-02-03) Seite 6, Zeile 18 -Seite 7, Zeile 12 Seite 8, Zeile 25,26 Seite 14 -Seite 15 Seite 19, Zeile 10-17,23 Seite 21, Zeile 14-20 Seite 24 Seite 26, Zeile 15-18	1-12
A	US 5 545 516 A (WAGNER STEPHEN J) 13. August 1996 (1996-08-13) in der Anmeldung erwähnt Spalte 3, Zeile 19-33,44,47,66,67 Spalte 5, Zeile 1-7 Spalte 6, Zeile 1-32 Spalte 7, Zeile 54-56	1-4,6,12

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *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 allein aufgrund dieser Veröffentlichung 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

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. Dezember 2001

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

14/12/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Böhm, I

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In nationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/02410

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>WO 96 08965 A (CRYOPHARM CORP) 28. März 1996 (1996-03-28) Seite 2, Zeile 13-23 Seite 3, Zeile 12-19 Seite 4, Zeile 13-18 Seite 7, Zeile 15-19 Seite 15, Zeile 11-26 Seite 17, Zeile 13-21 Seite 21, Zeile 8-13 Seite 33, Zeile 3-8, 21-25 Seite 36, Zeile 22-25; Beispiel 1</p>	1-6, 8, 9
A	<p>WO 97 03706 A (CROIX ROUGE DE BELGIQUE ;GIAMBATTISTA MARIO DI (BE); LAUB RUTH (BE) 6. Februar 1997 (1997-02-06) Seite 1 -Seite 3 Seite 4, Zeile 28-32 Seite 5, Zeile 14-28 Seite 6, Zeile 28-32 Seite 7, Zeile 8-12 Seite 9, Zeile 2-8</p>	1, 7
A	<p>WO 98 31219 A (AMERICAN NAT RED CROSS ;ROWLAND INST FOR SCIENCE (US)) 23. Juli 1998 (1998-07-23) Zusammenfassung Seite 6, Zeile 18-20 Seite 7, Zeile 1-6 Seite 8, Zeile 24-27</p>	1-6, 8
A	<p>US 6 077 659 A (RYWKIN SHANTI ET AL) 20. Juni 2000 (2000-06-20) Spalte 1, Zeile 35-41 Spalte 3, Zeile 30 -Spalte 4, Zeile 23</p>	1, 6
A	<p>DE 39 30 510 A (BLUTSPENDEDIENST DT ROTE KREUZ) 21. März 1991 (1991-03-21) Zusammenfassung das ganze Dokument</p>	1-3, 5, 6, 8, 9, 12

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung

, die zur selben Patentfamilie gehören

In - onales Aktenzeichen

PCT/DE 01/02410

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0004930	A	03-02-2000	US	6258577 B1	10-07-2001
			AU	5219899 A	14-02-2000
			BG	104362 A	30-04-2001
			CN	1287496 T	14-03-2001
			EE	200000172 A	16-04-2001
			EP	1047458 A2	02-11-2000
			HU	0004907 A2	28-05-2001
			NO	20001440 A	19-05-2000
			PL	340630 A1	12-02-2001
			SK	5832000 A3	18-01-2001
			WO	0004930 A2	03-02-2000
			US	6277337 B1	21-08-2001
			US 5545516	A	13-08-1996
WO	9116911 A1	14-11-1991			
WO 9608965	A	28-03-1996	US	5516629 A	14-05-1996
			US	6251644 B1	26-06-2001
			US	5789601 A	04-08-1998
			US	5869701 A	09-02-1999
			AU	691672 B2	21-05-1998
			AU	3638595 A	09-04-1996
			CA	2199372 A1	28-03-1996
			EP	0782388 A1	09-07-1997
			JP	10506391 T	23-06-1998
			NO	971350 A	22-05-1997
			WO	9608965 A1	28-03-1996
			US	6169109 B1	02-01-2001
			US	5798238 A	25-08-1998
US	5955256 A	21-09-1999			
WO 9703706	A	06-02-1997	WO	9703706 A1	06-02-1997
			CA	2225470 A1	06-02-1997
			DE	69512416 D1	28-10-1999
			DE	69512416 T2	17-02-2000
			EP	0771324 A1	07-05-1997
			EP	0840624 A1	13-05-1998
			JP	10506607 T	30-06-1998
			JP	11509210 T	17-08-1999
			US	5834420 A	10-11-1998
			US	6190608 B1	20-02-2001
			WO 9831219	A	23-07-1998
EP	0973383 A1	26-01-2000			
JP	2001514617 T	11-09-2001			
US	6030767 A	29-02-2000			
WO	9831219 A1	23-07-1998			
US 6077659	A	20-06-2000	US	5232844 A	03-08-1993
			US	5120649 A	09-06-1992
			AU	687993 B2	05-03-1998
			AU	1699395 A	21-08-1995
			BR	9506717 A	23-09-1997
			CA	2180977 A1	10-08-1995
			CN	1140410 A	15-01-1997
			EP	0796094 A1	24-09-1997
			JP	3029048 B2	04-04-2000
			JP	9508630 T	02-09-1997

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung und die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 01/02410

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung			
US 6077659	A	WO 9520961 A1	10-08-1995			
		US 5858643 A	12-01-1999			
		AU 696246 B2	03-09-1998			
		AU 7048594 A	20-12-1994			
		CA 2163636 A1	08-12-1994			
		EP 0702719 A1	27-03-1996			
		FI 955690 A	22-01-1996			
		JP 11503601 T	30-03-1999			
		KR 258377 B1	01-06-2000			
		NO 954815 A	26-01-1996			
		WO 9428120 A1	08-12-1994			
		US 6087141 A	11-07-2000			
		US 5658722 A	19-08-1997			
		US 5981163 A	09-11-1999			
		US 5712086 A	27-01-1998			
		US 6214534 B1	10-04-2001			
		US 5789150 A	04-08-1998			
		ZA 9403754 A	09-02-1995			
		US 6294361 B1	25-09-2001			
		AT 204602 T	15-09-2001			
		AU 660411 B2	29-06-1995			
		AU 7646991 A	21-11-1991			
		CA 2042494 A1	16-11-1991			
		DE 69132696 D1	27-09-2001			
		EP 0457196 A2	21-11-1991			
		FI 911389 A	16-11-1991			
		JP 2831155 B2	02-12-1998			
		JP 4226919 A	17-08-1992			
		KR 180917 B1	01-04-1999			
		NO 911876 A	18-11-1991			
		ZA 9103513 A	29-04-1992			
		<hr/>				
		DE 3930510	A	21-03-1991	DE 3930510 A1	21-03-1991
					AT 161681 T	15-01-1998
AU 635068 B2	11-03-1993					
AU 6339190 A	18-04-1991					
CA 2065842 A1	14-03-1991					
CS 9200766 A3	12-08-1992					
WO 9103933 A1	04-04-1991					
DE 59010793 D1	12-02-1998					
DK 491757 T3	07-09-1998					
EP 0491757 A1	01-07-1992					
EP 0593098 A2	20-04-1994					
ES 2113347 T3	01-05-1998					
FI 99192 B	15-07-1997					
HU 60142 A2	28-08-1992					
HU 215131 B	28-09-1998					
JP 2965695 B2	18-10-1999					
JP 5500366 T	28-01-1993					
NO 300911 B1	18-08-1997					
RU 2036235 C1	27-05-1995					