

(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  
19. September 2002 (19.09.2002)

PCT

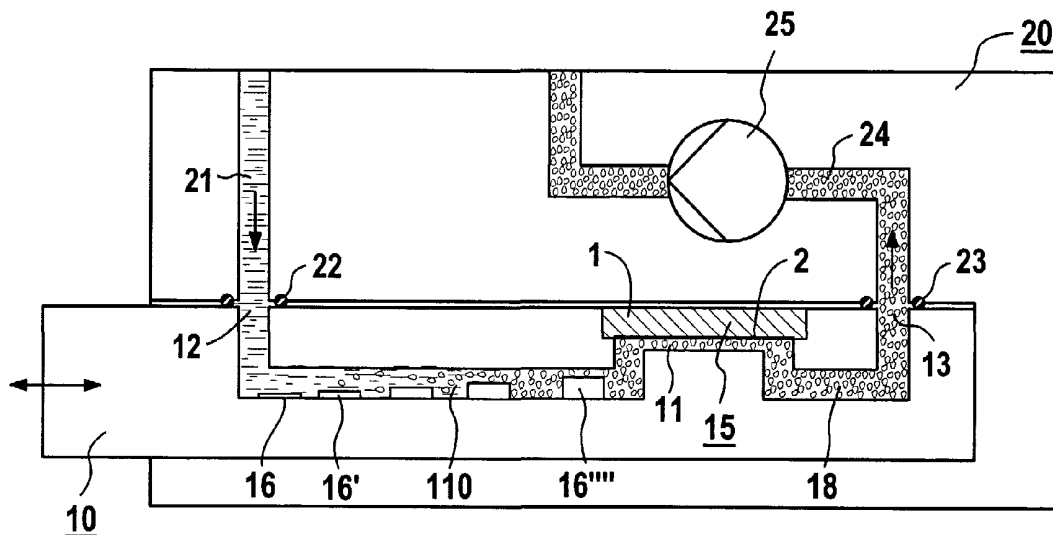
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 02/072262 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: B01L 3/00, (72) Erfinder; und  
G01N 27/28 (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GUMBRECHT, Walter [DE/DE]; In der Röte 1, 91074 Herzogenaurach (DE).  
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE02/00837 STANZEL, Manfred [DE/DE]; Taunusstrasse 100, 91056 Erlangen (DE).  
(22) Internationales Anmeldedatum: 8. März 2002 (08.03.2002) (74) Gemeinsamer Vertreter: SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT; Postfach 22 16 34, 80506 München (DE).  
(25) Einreichungssprache: Deutsch (81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, US.  
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).  
(30) Angaben zur Priorität: 101 11 457.5 9. März 2001 (09.03.2001) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Wittelsbacherplatz 2, 80333 München (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: ANALYSIS DEVICE

(54) Bezeichnung: ANALYSEEINRICHTUNG



(57) Abstract: The invention relates to a microfluidic diagnosis-kit for use in biochemical analysis wherein a premeasured amount of reagents is provided in an applicator for an analysis system. According to the invention, the required reagents are preportioned as non-volatile agents (16, 16', 16'') and a microfluidic system is provided, whereby the reagents are automatically dissolved in a solvent and fed to a sensor module (15) in order to carry out measurement.

(57) Zusammenfassung: Bei einem sog. mikrofluidischen Diagnose-Kit zur Anwendung in der biochemischen Analytik werden in einem Applikator für ein Analysesystem Reagenzien in einer vordosierten Menge bereit-gestellt. Erfindungsgemäß sind die benötigten Reagenzien (16, 16', 16'') als nichtflüchtige Stoffe in einem Mikrofluid-System vorhanden, wobei die Reagenzien zur Durchführung einer Messung automatisch gelöst und dem Sensor-Modul (15) zugeführt werden.



WO 02/072262 A1

**Erklärungen gemäß Regel 4.17:**

- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die folgenden Bestimmungsstaaten CA, JP, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR)
- Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

**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.

Beschreibung

Analyseeinrichtung

5 Die Erfindung bezieht sich auf eine Analyseeinrichtung zur Anwendung in der biochemischen Analytik, mit einem Applikator zum dezentralen Einsatz, enthaltend ein erstes Gehäuse, ein Fluidik-System und einen Sensor-Modul, der zusammen mit einem zweiten Gehäuse ein Mess- und Analysesystem bildet.

10

Die Dezentralisierung von chemisch-biologischen Analysen in der Medizintechnik erfordert unter anderem eine flexible Bereitstellung von Reagenzien. Dezentral bedeutet in vorliegendem Zusammenhang, dass die Analysen häufig nicht mit hohem  
15 Durchsatz wie im klinischen Großlabor durchgeführt werden. Reagenzien für die chemisch-biologische Analyse sind häufig sehr kostspielig und in ihrer Lebensdauer/Verwendbarkeit, zumindest nach Öffnen des Behältnisses, z.B. Ausgasen von O<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> aus Blutgas-Kalibrierlösungen oder Zersetzung von  
20 biochemischen Komponenten, stark eingeschränkt, so dass eine effiziente, kostengünstige Nutzung erschwert bzw. unmöglich wird.

Dezentrale Analysen werden deshalb besonders vorteilhaft mit  
25 sog. Einmal-Kits durchgeführt, bei welchen die Reagenzien in einer vordosierten, individuell verpackten, gerade benötigten Menge bereitgestellt werden. Bekannt ist z.B. ein System (i-STAT Corporation, 303A College Road East, Princeton, New Jersey 08540; US Patent Nr. 5 096 669), bei dem eine zur Kalibrierung von Blut-Gas/-Elektrolyt-Sensoren benötigte Kalibrierlösung in einem gasdichten Alu/Kunststoffbeutelchen mit  
30 einem Inhalt < 1 ml für einen Einmalsensor bevorratet und im Betrieb des Einmalsensors durch „Anstechen“ der Beutelwand geöffnet wird.

35

Ein derartiges Konzept der Bereitstellung von Kalibrierlösungen ist nicht geeignet bei Verwendung von Reagenzien,

die in gelöster Form einem Verfallsprozess ausgesetzt sind, wie z. B. Enzyme, empfindliche organische Stoffe, wie insbesondere p-Aminophenylphosphat, p-Aminophenyl- $\beta$ -Galactosid. Diese Vorgehensweise ist außerdem aufwendig und teuer, ferner besteht das Risiko, dass die Beutelchen undicht sein könnten und somit z.B. austretende Gase die gesamte Diagnostik bei der Blutgasanalyse verfälschen. Weiterhin wird beim Stand der Technik nur eine einzige Kalibrierlösung realisiert und somit nur eine Einpunkt-Eichung ermöglicht, was die Verlässlichkeit der Ergebnisse in Frage stellt und somit die Akzeptanz beim Kunden reduziert. Zwar ist in US 5 096 669 A die theoretische Möglichkeit der Bereitstellung von mehr als einer Kalibrierlösung erwähnt; dies würde aber die Komplexität und damit die Herstellungskosten des Einmalartikels erhöhen.

15

Weiterhin ist in der US 5 096 669 A die Möglichkeit der Zumischung von trockenen Reagenzien zur Probe, d.h. z.B. zur Blutprobe, erwähnt. Dies löst aber nicht die Probleme der Reagenzienbereitstellung, wenn für komplexe Diagnosevorgänge mehrere Reagenzlösungen seriell vor und/oder nach Zutritt der Probenflüssigkeit über eine Sensoreinrichtung, z.B. einem Sensor-Chip oder Sensor-Modul, geführt werden müssen, beispielsweise bei Analysen unter Zuhilfenahme von sog. enzymatischer Verstärkung: Dabei erfolgt eine sequenzielle Zuführung von 1. Pufferlösung, 2. Probe, 3. Pufferlösung, 4. Enzym-Label-Reagenz, 5. Pufferlösung, 6. Enzym-Substrat.

25

Weiterhin wird in Dirks, G. et al. „Development of a disposable biosensor chipcard system“, Sens. Technol. Neth., Proc. Dutch Sens. Conf, 3<sup>rd</sup> (1988), S. 207 bis 212, ein Messsystem für biomedizinische Anwendungen beschrieben, bei dem eine sogenannte Chipkarte aus einem Flachbehälter mit mehreren Kavitäten und einem System von Flüssigkeitskanälen realisiert wird, wobei in das Kanalsystem ein ISFET eingebracht ist, der als Sensor dient. Bei diesem System geht es insbesondere darum, aus separaten Behältern eine Messflüssigkeit einerseits und eine Kalibrier- bzw. Reagenzflüssigkeit zum Sensor sepa-

35

rat zuzuführen. Des Weiteren werden in der Monographie Lange-  
reis, G.R. „An integrated sensor system for monitoring wa-  
shing process, ISBN 90, Systeme mit Sensoren beschrieben, bei  
denen es um die Integration von Sensoren, deren Signale elek-  
trisch abgegriffen werden, in Fluidikeinrichtungen geht.  
5

Die Probleme der Reagenzzuführung sind beim Stand der Technik  
nicht befriedigend gelöst. Ausgehend vom Stand der Technik  
ist es daher Aufgabe der Erfindung, eine Analyseeinrichtung  
10 der eingangs genannten Art für eine dezentrale Anwendung zu  
verbessern.

Die Aufgabe ist erfindungsgemäß durch die Merkmale des Pa-  
tentanspruches 1 gelöst. Weiterbildungen sind in den abhängi-  
gen Patentansprüchen angegeben. Insbesondere sind auch geeig-  
nete Anwendungsmöglichkeiten der erfindungsgemäßen Analyse-  
einrichtung angegeben.  
15

Bei der Erfindung werden im Applikator die Reagenzien als  
20 Feststoff vorportioniert in einem Mikrofluidik-System bereit-  
gehalten und in Kombination mit einer geeigneten Betriebswei-  
se insbesondere aus einem einzigen Lösungsmittel-Reservoir  
für mindestens einen gesamten Analyse-Durchlauf, bestehend  
aus mehreren Teilschritten, automatisch gelöst und dem Analy-  
sesystem zugeführt. Die Reagenzlösungen werden also im zuge-  
führten Lösungsmittel ‚in situ‘ erzeugt und erst unmittelbar  
25 vor ihrer Verwendung bereitgestellt.

Mit der Erfindung wird vorteilhafterweise - im Gegensatz zum  
30 Stand der Technik - eine technische Realisierung von mehreren  
Reagenzlösungen aus nur einem Lösungsmittel-Reservoir für  
mindestens einen Analyse-Durchlauf erreicht. Beim Stand der  
Technik und speziell in der US 5 096 669 A wird nicht ausge-  
führt, ob und insbesondere wie eine sequenzielle Bereitstel-  
lung von mehreren, unterschiedlichen Reagenzlösungen aus tro-  
35 ckenen Reagenzien erfolgen könnte.

Bei der Erfindung werden die Reagenzien vorzugsweise in fester Form bzw. gelöst in einem festen Hilfsstoff, z.B. wasserlösliches Polymer, bereitgehalten. Ein Beispiel ist die Bereitstellung von Mitteln zur Vorgabe eines definierten  $pCO_2$ - Wertes für die medizinische Diagnostik: Dazu wird neben den benötigten Salzen, wie u.a. NaCl und KCl auch eine Feststoff-Base, z.B.  $NaHCO_3$ , sowie eine Feststoff-Säure, z.B. Zitronensäure, vorgelegt. Beim Auflösen der Reagenzien reagieren die Feststoff-Base und Feststoff-Säure wie beispielsweise beim Stand der Technik von Brause-Tabletten bekannt und erzeugen eine definierte Menge  $CO_2$ . Da deutlich geringere Konzentrationen als bei Brause-Tabletten benötigt werden, erfolgt keine Blasenbildung.

Weiterhin ist die Bereitstellung von mehreren Reagenzlösungen bei komplexen Analysen-Durchläufen möglich. Ein vorteilhaftes Beispiel ist ein Immuno-Assay mit enzymatischer Verstärkung. Dabei muss nach Aufbringen der Probenflüssigkeit auf den Sensor bzw. einem Sensor-Modul evtl. ein Wasch-Schritt mit Pufferlösung erfolgen. Diese kann entweder direkt aus dem Reservoir oder vorteilhaft durch Auflösen von fester Puffer-Substanz, beispielsweise gelöst in wasserlöslichem Polymer und platziert in einem Mikrodurchflusskanal aus einem Wasser-Reservoir, der im Applikator oder im zweiten Gehäuse platziert sein kann, erfolgen. Dann folgt die Zufuhr von Enzym-Label und zwar vorteilhafterweise ebenfalls als Feststoff, gegebenenfalls gelöst in wasserlöslichem Polymer im Mikrodurchflusskanal platziert, das nun seinerseits aus dem Puffer-Reservoir oder vorteilhaft aus dem gleichen Wasser-Reservoir gelöst wird. Schließlich erfolgt in Analogie zu den vorhergehenden Schritten die Herstellung und Zufuhr von Enzym-Substrat-Lösung.

Chemische Gleichgewichte sowie die Reaktionsgeschwindigkeit chemischer bzw. biochemischer enzymatischer Reaktionen unterliegen einem starken Temperatureinfluss. So sind z.B. die Partialdrücke der gelösten Blutgase  $O_2$  und  $CO_2$  von der Tempe-

ratur abhängig und werden deshalb bei Laborgeräten, den sog. Blutgas-Analysatoren, stets bei 37°C gemessen. Mit Sensoren auf der Basis von Siliziumtechnologie und mikroelektronischer Schaltungstechnik ist es nunmehr möglich, die Temperatur des Sensorchips und damit auch die Temperatur der Probe zu messen als auch zu regeln. Eine Einschränkung bestand dabei bisher in der Tatsache, dass man einen Silizium-Chip zwar elektrisch aufheizen kann, z.B. durch Widerstandsheizung, jedoch nicht elektrisch kühlen kann. Dies wird durch eine vorteilhafte Weiterbildung der Erfindung erreicht.

Eine weitere vorteilhafte Anwendungsmöglichkeit der Erfindung ist die Amplifikation von DNA/RNA (Desoxyribo-nukleinsäure/Ribonukleinsäure)-Proben mittels der exponentiellen Vervielfältigungsmethode bei der sog. PCR (Polymer Chain Reaction), d.h. der Polymerase-Kettenreaktion-Methode. Dazu muss die Probenflüssigkeit 20 bis 40 mal zwischen zwei Temperaturen, typischerweise zwischen 40°C und 95°C, zyklisiert werden. Nach dem Stand der Technik ist bei dieser Thermozyklisierung der Abkühlungsprozess geschwindigkeits-bestimmend.

Auch letztere Probleme können mit der Erfindung in praxisgerechter Weise gelöst werden: Für eine konkrete Anwendung kommt als Applikator eine besonders vorteilhafte Ausführungsform nach Art des Chip-Moduls einer Chip-Karte in Betracht.

Beim Chipkarten-Modul ist der Silizium-Chip vorteilhafterweise auf einer nur etwa 50 µm dicken, vergoldeten Kupferschicht montiert. Es handelt sich dabei um das mittlere Metall-Feld von bekannten Chipkarten-Modulen, das für elektrische Kontaktierungen im Karten-Lesegerät dort nicht benutzt wird. Dieses freie Feld kann somit im Kartenlesegerät, das hier gleichermaßen als Auswertegerät fungiert, genutzt werden, um direkt ein Kühlelement, z.B. einen Peltierkühler, an die entsprechende Stelle des Chipkarten-Moduls zu kontaktieren. Aufgrund der Platzierung (50 µm metallischer Kontakt zum Chip) ist somit ein effizienter Wärmeübergang möglich, so dass eine defi-

nierte Temperatur, insbesondere auch durch Abkühlung, sehr schnell einstellbar ist.

Weitere Vorteile und Einzelheiten der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Figurenbeschreibung von Ausführungsbeispielen anhand der Zeichnung in Verbindung mit den Patentansprüchen. Es zeigen

- Figur 1 bis Figur 3 drei verschiedene Ausführungsformen eines sog. Diagnose-Kits aus Applikator und Auslesegerät in Schnittdarstellung,
- Figur 4 in Schnittdarstellung ein Auslesegerät mit integriertem Kühlelement zur direkten thermischen Ankopplung an ein Chipkarten-Kontaktierungsfeld,
- Figur 5 die Draufsicht auf das Kontaktierungsfeld des Moduls gemäß Figur 4,
- Figur 6 in Draufsicht eine Proben- und Mehrkanal-Reagenzienzuführung mit Verteilungssystem im Auslesegerät und
- Figur 7 und Figur 8 in Draufsicht eine gegenüber Figur 6 abgewandelte Mehrkanalreagenzzuführung durch Verschieben der Chipkarte in zwei Positionen.

In den Figuren sind gleiche bzw. gleich wirkende Teile mit den gleichen bzw. sich entsprechenden Bezugszeichen versehen. Die Figuren werden teilweise gemeinsam beschrieben.

In den Figuren 1 bis 4 ist ein Applikator mit Sensor-Modul durchgehend mit 10 bezeichnet, während in den Figuren 6 und 7 ein modifizierter Applikator mit 60 oder 70 bezeichnet ist. Zur Messung wird ein derartiger Applikator 10, 60 bzw. 70 in ein Auslesegerät 20 bzw. 80 eingeschoben.

In den Figuren 1 bis 3 ist im Applikator 10 ein Sensor-Modul 15 eingebracht, beispielsweise ein Silizium-Chip 1 mit sensibler Fläche 2, verkapselt und elektrisch kontaktiert auf einem Träger. Ein solches Sensor-Modul ist u.a. Gegenstand ei-



ner korrespondierenden Patentanmeldung mit gleicher Priorität. Am Sensor-Modul 15 ist ein Mikrofluidikkanal 11 vorhanden, zu dem von einem Einlass 12 mit Ventilanordnung/Dichtung ausgehend ein Kanal 110, in dem Reagenzien bzw. Hilfsstoffe  
5 16, 16', ..., 16'''' angeordnet sind, führt. Hinter dem Sensor-Modul 15, d.h. nach der Messung, wird die Substanz von einen Auslasskanal 18 aufgenommen.

Das Auslesegerät 20 hat im Gehäuse Fluidikkanäle 21, wobei in  
10 dem ersten Kanal 21 beispielsweise Wasser von einem Lösungsmittelvorrat außerhalb oder innerhalb des Gerätes über eine Dichtung 22 in den Applikator 10 gebracht wird. Über die Dichtung des Auslasses 23 wird mittels einer Pumpe 25 die  
15 verbrauchte Messflüssigkeit zu einem in der Figur 1 nicht dargestellten Abfallbehälter innerhalb oder außerhalb des Auslesegerätes gepumpt.

Die Anordnung gemäß Figur 2 entspricht im Wesentlichen der  
Figur 1 mit den Abwandlungen, dass im zweiten Gehäuse des  
20 Auslesegerät ein Lösungsmittel-Reservoir 29 platziert ist und nach dem Sensor-Modul 15 der Mikrofluidkanal 11 eine Erweiterung bzw. Verlängerung als Sammelbehälter 28 zwecks Aufnahme  
der verbrauchten Lösung bzw. analysierten Probe hat. Gegebenfalls ist eine solche Erweiterung als Reservoir für Abfall  
25 hinreichend. In das Auslesegerät gelangt in diesem Fall mittels der Pumpe 25 über den Auslass 13 mit Ventilen bzw. Dichtungen 13 bzw. 23 nur Luft.

In entsprechender Weiterbildung beinhaltet der Applikator 10  
30 gemäß Figur 3 einen separaten Behälter 39 für einen Lösungsmittelvorrat, d.h. für Wasser. Die Wasserzufuhr vom externen Gerät 20 ist dabei nicht notwendig. Es ist lediglich das Ventil 12 aus Figur 1 speziell als Belüftungsventil 38 ausgebildet.

35

In der Figur 4 ist der Applikator mit Sensor-Modul im Wesentlichen entsprechend Figur 1 ausgebildet. Speziell im Auslese-

gerät ist an der Position des Sensor-Moduls 15 bei eingeschobenem Applikator ein Heiz- und/oder Kühl-Element z.B. ein Peltierelement 30 angeordnet. Das Peltierelement 30 hat ein Kühlblech 31. Mit dem Peltierelement 30 ist eine effektive und schnelle Kühlung des Sensor-Moduls 15 auf eine definierte Temperatur möglich.

Diese Anordnung kann vorzugsweise auch eingesetzt werden zur Amplifikation von DNA/RNA (Desoxyribonukleinsäure/Ribonukleinsäure) mittels der exponentiellen Vervielfältigungs-Methode der sog. PCR (Polymer Chain Reaction). Dazu werden die DNA/RNA-Probe sowie benötigte Reagenzien wie z.B. Nukleotidtriphosphate, Primer-DNA und Polymerase in Pufferlösung über die mikrofluidischen Kanäle der sensitiven Fläche des Sensorchips 15 zugeführt. Der Reaktionsraum (Raum über der sensitiven Fläche des Chips mit einer Höhe von bis zu wenigen hundert  $\mu\text{m}$ ) wird dann circa 20 bis 40 mal zwischen zwei Temperaturen, typischerweise zwischen  $40^\circ\text{C}$  und  $95^\circ\text{C}$ , zyklisiert. Bei dieser Anordnung kann der gesamte DNA/RNA-Vervielfältigungsprozess in 20 wenigen Minuten durchgeführt werden.

Die Funktionsweise des Chip-Moduls 15 und insbesondere des eigentlichen Sensor-Chips wird in Figur 5 verdeutlicht. Auf der elektrischen Kontaktseite 3, d.h. der Rückseite des Moduls 15 mit Sensor-Chip 1, sind Kontaktierungsfelder  $3^I$ , ...,  $3^{VIII}$  als einzelne Anschlüsse ersichtlich, die den üblichen Kontaktierungen für kartenintegrierbare Chips entsprechen. Auf der sensitiven Seite 2 des Chips 1 verlaufen von Bond-Pads aus den Ecken des Chips zu den Kontakten der Kontaktierungsfelder  $3^I$ , ...,  $3^{VIII}$ .

Letztere Anordnung ist Gegenstand einer parallelen Anmeldung mit gleichem Prioritätsdatum (DE-AZ 101 11 458.5-52 vom 09.03.2001), auf deren Offenbarung ausdrücklich hingewiesen wird.

Aus Figur 5 ist in der Draufsicht ersichtlich, dass für den Fall der Chipkarten-Technologie mit Silicium-Chip und rückseitigen Flächenkontakten  $3^I$  bis  $3^{VIII}$ , wie es von üblichen Chipkarten bekannt ist, das Peltierelement 30 unmittelbar rückseitig die wirksame Fläche des Sensors berührt und somit  
5 einen effektiven Wärmeübergang bewirkt.

In der Figur 6 ist in der Draufsicht eine Chipkarte 60 dargestellt, die ein Sensor-Modul 15 mit rückseitigem Peltierelement 30 und elektrischen Chip-Kontakten  $3'$  bis  $3^{VIII}$  aufweist. Es ist ein Proben-Port 68 als Probenzugabeöffnung sowie ein Probenkanal 69 zur Zuführung der Probe zum Sensor-Modul 15 vorhanden. Außerdem sind Reagenzkanäle mit nichtflüchtigen Reagenzien in vordosierter Menge vorhanden. Es ist ein erster  
10 Reagenzkanal 61 vorhanden, der mit einem Wassereinlass 62 verbunden ist. Weiterhin ist ein zweiter Reagenzkanal  $61'$  vorhanden, der parallel zum ersten Reagenzkanal 61 verläuft und in der Darstellung der Figur 6 im Gegensatz zum Reagenzkanal 61 noch nicht mit Lösungsmittel gefüllt ist und somit  
15 noch keine Reagenzlösung enthält. Der zweite Reagenzkanal  $61'$  ist mit einem zweiten Wassereinlass  $62'$  verbindbar. Es können weitere parallelgeschaltete Reagenzkanäle  $61''$  mit Wassereinlässen  $62''$  vorgesehen sein, die jeweils parallelgeschaltet sind, so dass insgesamt n-Reagenzkanäle und n-Wassereinlässe  
20 vorhanden sind. Nach dem Vorbeiströmen am Sensor-Modul 15 ist ein Auslass 63 vorhanden. Im Auslesegerät 20 ist ein Wasser-verteilsystem mit Ventilen vorhanden.

Anhand zweier Teilfiguren 7 und 8 ist die Funktionsweise einer gegenüber der Anordnung von Figur 6 abgewandelten Anordnung verdeutlicht. Auf dem Applikator 70 sind wiederum als Proben-Port eine Probenzugabeöffnung 78, sowie ein Probenkanal 79 zur Zuführung der Probe zum Sensor-Modul 15 vorhanden. Weiterhin sind Reagenzkanäle 71 bis  $71n'$  vorhanden und ein  
30 Auslass 73. Bei dieser Anordnung ist ein einziger Zuflusskanal im Auslesegerät 80 vorhanden, der eine einzige Zuflussöffnung 81 und eine einzige Auslassöffnung 83 aufweist. In  
35

der Position gemäß Figur 7a befindet sich der erste Reagenzkanal 71 in Deckung mit der Zuflussöffnung 81, während in der Position b sich der zweite Reagenzkanal 71' in Deckung mit der Zuflussöffnung 81 befindet. Die Auslassöffnung 83 ist in diesem Fall als Schlitzöffnung ausgebildet, so dass in beiden Positionen des Applikators und auch in weiteren Positionen immer der Auslass 73 zum Auslass 83 des Auslesegerätes 80 möglich ist.

Bei den beschriebenen Anordnungen ist für das mikrofluidische Analyse/Diagnosesystem wesentlich, dass eine Bevorratung je einer definierten Menge von mindestens einem Reagenz, eine Bevorratung des Reagenz in einer lagerstabilen Form, eine Bevorratung des Reagenz als reiner Feststoff oder eine Bevorratung des Reagenz gelöst oder gemischt in einem weiteren Stoff (Hilfsstoff) möglich ist. Ein solcher Hilfsstoff kann fest oder flüssig sein. Ein fester Hilfsstoff kann z.B. ein wasserlösliches Polymer wie Polyvinylalkohol sein. Der Hilfsstoff kann dazu dienen, Reagenz zu verdünnen (z.B. beim Einsatz von Enzymen, die in sehr geringen Mengen eingesetzt werden sollen) und/oder geometrisch definiert sowie gut haftend im Behältnis zu platzieren.

Unabhängig von der Darstellung in den Figuren weist der Applikator als Plastikgehäuse eine definierte Geometrie auf. Im Plastikgehäuse sind Mikrokanäle mit z.B. 1 mm x 0,1 mm Querschnitt und einige mm Länge, die ein Fluidsystem bilden. Im Hilfsstoff gelöstes Reagenz kann in einem definierten Mengen-Gradienten entlang eines Mikrokanals platziert werden. Das Plastikgehäuse kann einen definierten Vorrat an Lösungsmittel enthalten. Weiterhin kann das Plastikgehäuse ein definiertes Leer-Volumen zur Entsorgung des Abfalls enthalten.

Bei allen Beispielen erlauben das Plastikgehäuse als Applikator in Verbindung mit Auslesegerät und die geeignete Betriebsweise die Zusammenführung von Reagenz und Lösungsmittel. Das Plastikgehäuse wird mit mindestens einem Mikrokanal

an ein Auslesegerät angeschlossen. Das Auslesegerät enthält einen Vorratsbehälter, in dem sich im einfachsten Fall Wasser befindet, ausreichend für mehrere Analysen. Das Auslesegerät kann Behälter zur Entsorgung des Abfalls von mehreren Analysen enthalten und enthält weiterhin Mittel zur Förderung des Lösungsmittels durch die Mikrokanäle zum Sensor-Modul und weiter zum Abfallbehälter im Plastikgehäuse oder im Auslesegerät. Das Lösungsmittel, egal aus welchem Vorrat, wird derart über die geometrisch platzierte Reagenz-Hilfsstoffmischung geführt, dass eine definierte Lösung entstehen kann, unter Umständen durch Verweilen des Lösungsmittels über dem Feststoff, vor und zurückpumpen, Erwärmen od. dgl..

Auf diese beschriebene Weise können auch unkritische Reagenzlösungen, wie Puffer-Lösungen od. dgl., im Analyse-Kit generiert werden. Lagerstabile Pufferlösungen könnten zwar auch aus einem Vorratsbehälter im Auslesegerät zugeführt werden, jedoch sind die Schnittstellen zwischen Auslesegerät und Applikator bei entferntem Applikator anfällig für Verdunstung des Lösungsmittels und somit Ausfällung von Feststoff (z.B. Salz) und Verschmutzung/Verkrustung der Fluidik-Schnittstellen. Dies ist im Falle einer reinen Lösungsmittelbevorratung im Auslesegerät nicht zu befürchten. Außerdem können durch diese Methode auf einfache Weise mehrere Reagenzlösungen durch Parallelisierung der Reagenzkanäle aus lediglich einem Lösungsmittel-Reservoir realisiert werden.

Ein besonderer Fall liegt bei der Reagenz-Bereitstellung für Sensoren von gelösten Gasen vor, z.B. bei Sensoren zur Bestimmung von den Blutgasen Sauerstoff und Kohlendioxid. Hier müssen die Sensoren mit Medien, z.B. Lösungen, geeicht werden, die eine definierte Konzentration der jeweiligen Gase aufweisen.

Im Fall von Blutgassensoren, die z.B. für die sog. „Point of Care Diagnostik“ vor ihrem einmaligen Gebrauch einmal geeicht werden müssen, müssen die Sensoren für  $pO_2$  sowie  $pCO_2$  mit

Pufferlösungen von bekannten  $pO_2$ - sowie  $pCO_2$ -Werten in Kontakt gebracht werden. Während beim Stand der Technik eine einzige, bereits bei der Herstellung des Moduls zubereitete Lösung mit bekannten  $pO_2$ - und  $pCO_2$ -Werten in ein kleines gasdichtes Beutelchen eingefüllt und in das Diagnose-Modul eingesetzt wird, kann nunmehr die Eichung beliebig, insbesondere als Zweipunkt-Eichung, erfolgen.

Es ist somit eine Analyseeinrichtung geschaffen, die in der biochemischen Analytik z.B. für den Einsatz in der medizinischen Diagnostik, der Forensik, für die Lebensmittelüberwachung sowie für die Umweltmesstechnik in vielfältiger Weise einsetzbar ist. Die dezentrale Anwendung von Applikator und Auslesegerät erlaubt insbesondere in der Klinik und beim niedergelassenen Arzt eine zeitsparende kostengünstige Vor-Ort-Untersuchung von z.B. Blut, Liquor, Speichel und Abstrichen nach z.B. Erregern von Infektionskrankheiten. Dabei kann, falls erforderlich, nicht nur eine einfache Typisierung der Keime sondern auch die Bestimmung etwaiger Antibiotikaresistenzen erfolgen, was die Qualität der Therapie deutlich verbessert und damit die Krankheitsdauer und -Kosten reduzieren kann. Neben der Diagnose von Infektionskrankheiten eignet sich das Diagnosesystem in der Medizin z.B. auch zur Blutgas/Blutelektrolytanalyse, zur Therapiekontrolle, zur Früherkennung von Krebs sowie zur Bestimmung genetischer Prädispositionen.

## Patentansprüche

1. Analyseeinrichtung zur Anwendung in der biochemischen Analytik, mit einem Applikator zum dezentralen Einsatz, enthaltend ein erstes Gehäuse, ein Mikrofluidik-System und ein Sensor-Modul, der zusammen mit einem zweiten Gehäuse ein Mess- und Analysesystem bildet, wobei das Sensormodul eine mikrofluidisch zugängliche, sensitive Fläche aufweist, **d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t**, dass im Fluidik-System (11, 12, 13; 110) des Applikators (10, 60, 70) mit dem Sensor-Modul (15) Reagenzien in vorportionierter Menge als feste, nichtflüchtige Stoffe vorhanden sind und dass das Fluidik-System (11, 12, 13; 110) eine Verbindung zu einem Lösungsmittel-Reservoir (29, 39) zwecks automatischer Bereitstellung von Lösungsmittel und Auflösung der portionierten Menge an festem Reagenz aufweist, wobei wenigstens eine aus dem Reagenz und dem Lösungsmittel hergestellte Reagenzlösung der sensitiven Fläche (2) des Sensor-Moduls (15) zuführbar ist.
2. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, **d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t**, dass das Sensormodul (15) rückseitig ein elektrisches Kontaktierungsfeld zur Zuführung und Abnahme von elektrischen Signalen aufweist.
3. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, **d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t**, dass das Lösungsmittel-Reservoir (29) im dem Applikator (10, 60, 70) zugeordneten zweiten Gehäuse (20, 80) mit Auslesegerät angeordnet ist.
4. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, **d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t**, dass das Lösungsmittel-Reservoir (39) im Applikator (10, 60, 70) angeordnet ist.
5. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, **d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t**, dass im Applikator (10, 60,

6. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, da durch  
gekennzeichnet, dass die Reagenzien in einer  
lagerstabilen Form bevorratet sind.

5

7. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, da durch  
gekennzeichnet, dass wenigstens ein Reagenz  
als reiner Feststoff bevorratet ist.

10 8. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, da durch  
gekennzeichnet, dass wenigstens ein Reagenz  
gelöst oder gemischt in einem Hilfsstoff bevorratet ist.

15 9. Analyseeinrichtung nach Anspruch 8, da durch  
gekennzeichnet, dass der Hilfsstoff fest oder  
flüssig ist.

20 10. Analyseeinrichtung nach Anspruch 9, da durch  
gekennzeichnet, dass der Hilfsstoff ein was-  
serlösliches Polymer ist.

25 11. Analyseeinrichtung nach Anspruch 8, da durch  
gekennzeichnet, dass mit dem Hilfsstoff das  
Reagenz verdünnt und/oder geometrisch definiert, gut haftend  
in einem Behältnis des Applikators (10, 60, 70) platziert  
ist.

30 12. Analyseeinrichtung nach Anspruch 11, da durch  
gekennzeichnet, dass das Behältnis im Appli-  
kator (10, 60, 70) eine definierte Geometrie aufweist, bei-  
spielsweise als Mikrokanal (11) mit definiertem Querschnitt  
und definierter Länge.

35 13. Analyseeinrichtung nach Anspruch 12, da durch  
gekennzeichnet, dass das in einem Hilfsstoff  
gelöste Reagenz in einem definierten Mengen-Gradienten ent-  
lang des Mikrokanals (11) platziert ist.



14. Analyseeinrichtung nach Anspruch 1, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass der Applikator (10, 60,  
70) mit erstem Gehäuse eine mit mikrofluidischen Komponenten  
5 versehene Plastikkarte ist.

15. Analyseeinrichtung nach Anspruch 14, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass die Plastikkarte (10,  
60, 70) eine Chip-Karte ist.

10

16. Analyseeinrichtung nach Anspruch 15, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass das zweite Gehäuse (20,  
80) ein Auslesegerät mit einer Auswerteeinheit realisiert, in  
das der Applikator (10, 60, 70), enthaltend das erste Gehäuse  
15 und das Sensor-Modul (15), einführbar ist.

17. Analyseeinrichtung nach Anspruch 16, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass der Applikator (10, 60,  
70) in Verbindung mit dem Auslesegerät (20, 80) bei vorgege-  
20 bener Betriebsweise die Zusammenführung von Reagenz und Lö-  
sungsmittel erlaubt.

18. Analyseeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprü-  
che, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass  
25 der Applikator (10, 60, 70) über mindestens einen Mikrokanal  
(11) an das Auslesegerät (20, 80) angeschlossen ist.

19. Analyseeinrichtung nach Anspruch 18, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass das Lösungsmittel-  
30 Reservoir (29) im Auslesegerät (20, 80) zur Aufnahme des Lö-  
sungsmittels, z.B. Wasser, für mehrere Analysen ausgebildet  
ist.

20. Analyseeinrichtung nach Anspruch 18, d a d u r c h  
35 g e k e n n z e i c h n e t , dass ein Behälter (28) zur  
Entsorgung von Probenmaterial und verbrauchten Reagenzien  
vorhanden ist.

21. Analyseeinrichtung nach Anspruch 20, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass der Behälter (28) zur  
Entsorgung von Probenmaterial und verbrauchten Reagenzien im  
5 ersten Gehäuse des Applikators (10, 60, 70) und/oder im zwei-  
ten Gehäuse des Auslesegerätes (20, 80) angeordnet ist.
22. Analyseeinrichtung nach Anspruch 18, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass das Auslesegerät (20,  
10 80) Mittel (25) zur Förderung des Lösungsmittels durch die  
Mikrokanäle zum Sensor-Modul und zum Abfallbehälter im Appli-  
kator (10, 60, 70) und/oder Auslesegerät (20, 80) enthält.
23. Analyseeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprü-  
15 che, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass  
das Lösungsmittel über die geometrisch platzierte Reagenz-  
Hilfsstoffmischung (16, 16', ...) geführt wird, so dass eine  
definierte Lösung entsteht.
- 20 24. Analyseeinrichtung nach Anspruch 23, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass das Lösungsmittel auf  
einer definierten Temperatur gehalten wird.
- 25 25. Analyseeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24,  
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass Mittel  
zur Einstellung einer definierten Temperatur am Sensor-Modul  
(15), insbesondere zur Kühlung, vorhanden sind.
- 30 26. Analyseeinrichtung nach Anspruch 25, d a d u r c h  
g e k e n n z e i c h n e t , dass ein Peltierelement (30)  
im zweiten Gehäuse (20, 80) vorhanden ist, das eine Thermo-  
statier-, insbesondere Kühlwirkung auf das Sensor-Modul (15)  
ausübt.
- 35 27. Analyseeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprü-  
che, g e k e n n z e i c h n e t durch einen Einsatz in  
der biochemischen Analytik.

28. Analyseeinrichtung nach Anspruch 27, g e k e n n -  
z e i c h n e t in der Anwendung bei der DNA-Analyse.
- 5 29. Analyseeinrichtung nach Anspruch 27, g e k e n n -  
z e i c h n e t in der Anwendung zur Beschleunigung der Ab-  
kühlphase in der PCR-Technik.
30. Analyseeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24,  
10 g e k e n n z e i c h n e t durch einen Einsatz in der Le-  
bensmittelüberwachung.
31. Analyseeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24,  
g e k e n n z e i c h n e t durch einen Einsatz in der Um-  
15 weltmesstechnik.
32. Analyseeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24,  
g e k e n n z e i c h n e t durch einen Einsatz in der Fo-  
rensik.  
20
33. Analyseeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24 ,  
g e k e n n z e i c h n e t durch einen Einsatz in der me-  
dizinischen Diagnostik.
- 25 34. Analyseeinrichtung nach Anspruch 33, g e k e n n -  
z e i c h n e t durch einen Einsatz bei der Blutgas-/Blut-  
elektrolyt-Analyse.
- 35 35. Analyseeinrichtung nach Anspruch 33, g e k e n n -  
z e i c h n e t durch einen Einsatz bei der Diagnostik von  
30 Infektionskrankheiten.
36. Analyseeinrichtung nach Anspruch 33, g e k e n n -  
z e i c h n e t durch einen Einsatz bei der Therapiekon-  
35 trolle.

37. Analyseeinrichtung nach Anspruch 33, g e k e n n -  
z e i c h n e t durch einen Einsatz zur Früherkennung von  
Krankheiten

1/4

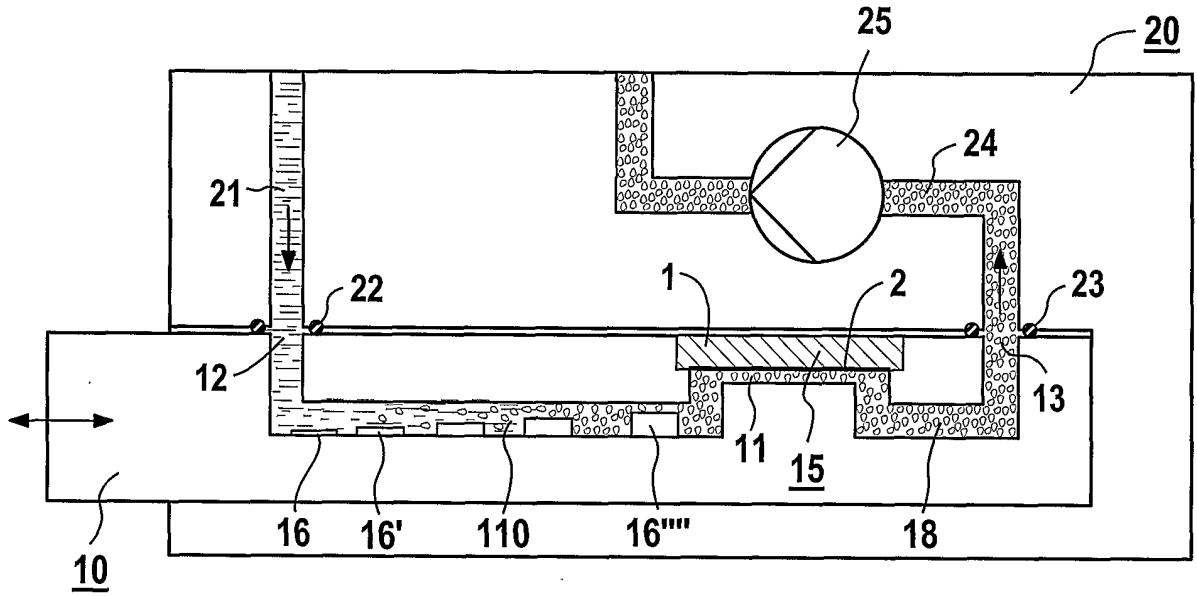


FIG 1

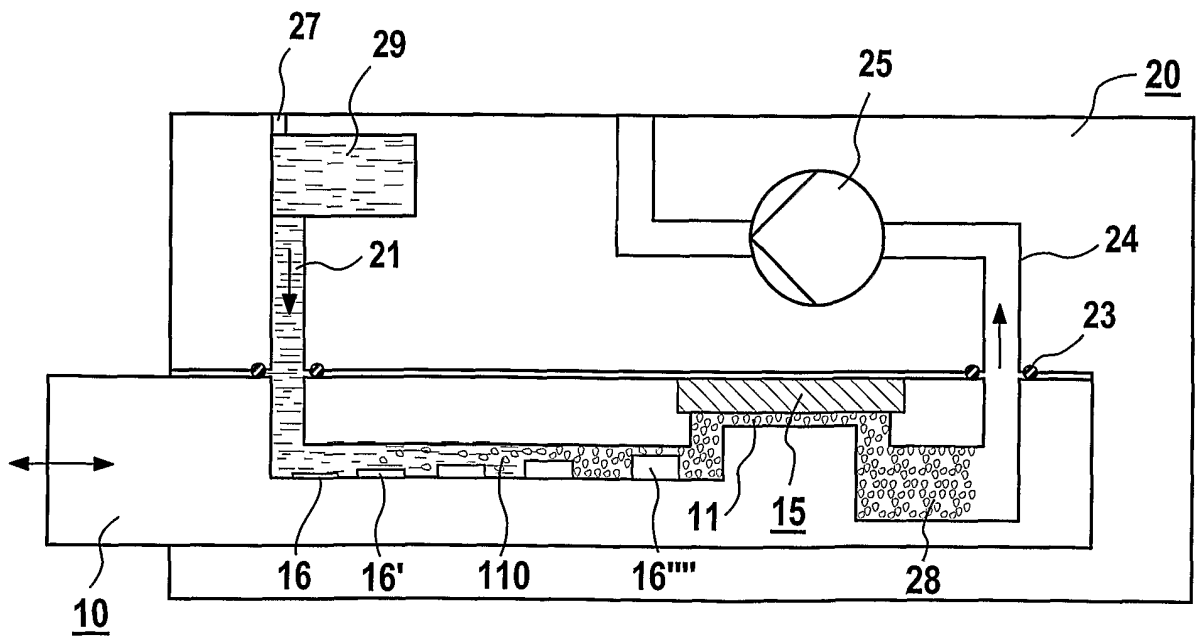


FIG 2

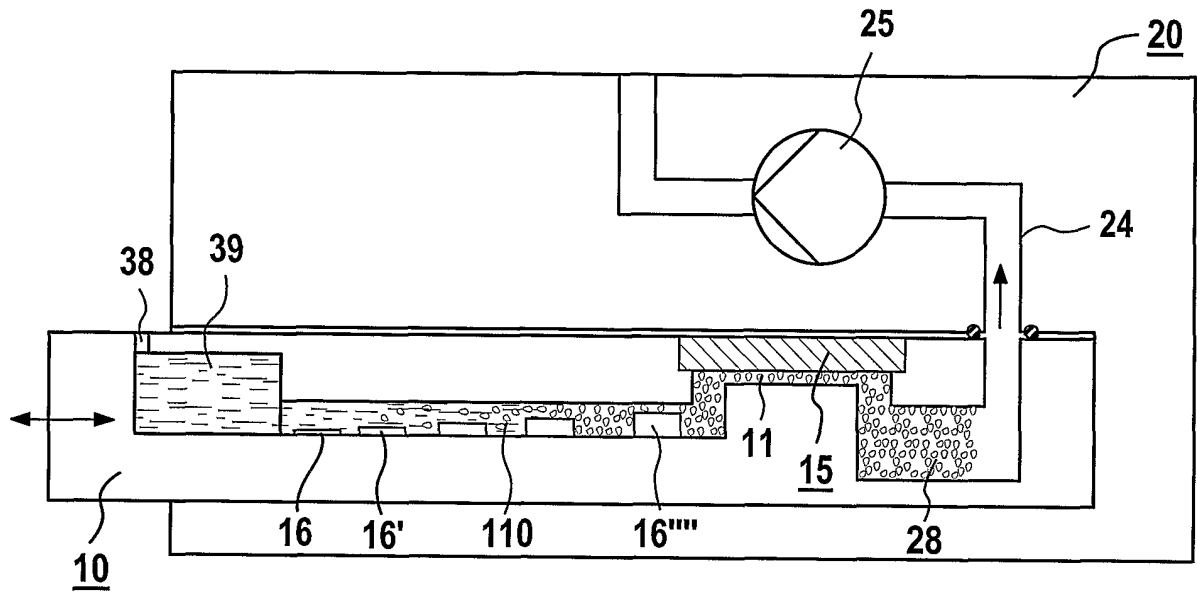


FIG 3

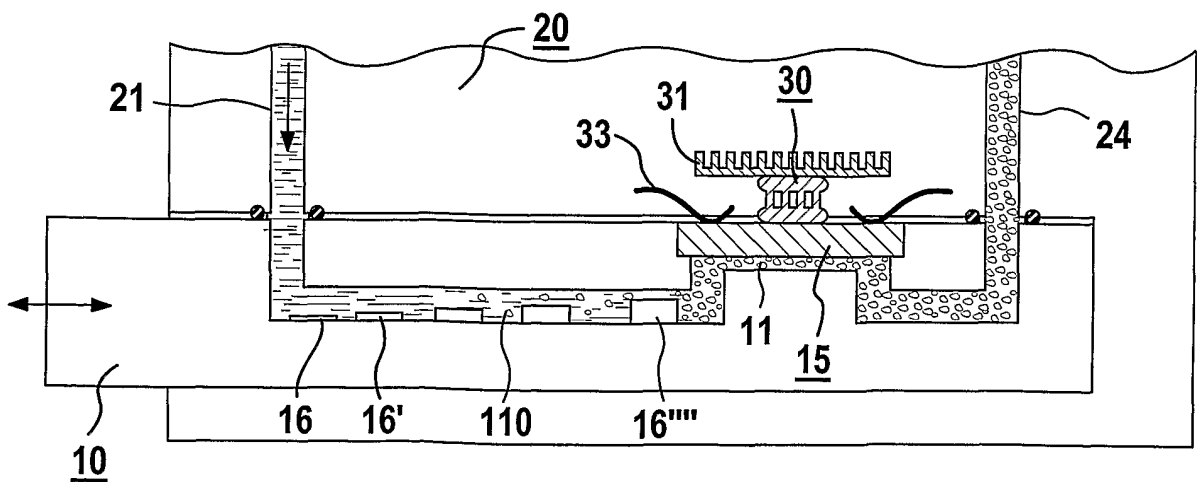


FIG 4

3/4

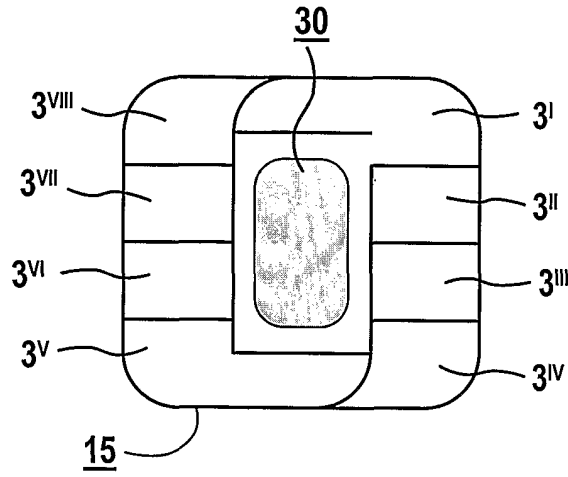


FIG 5

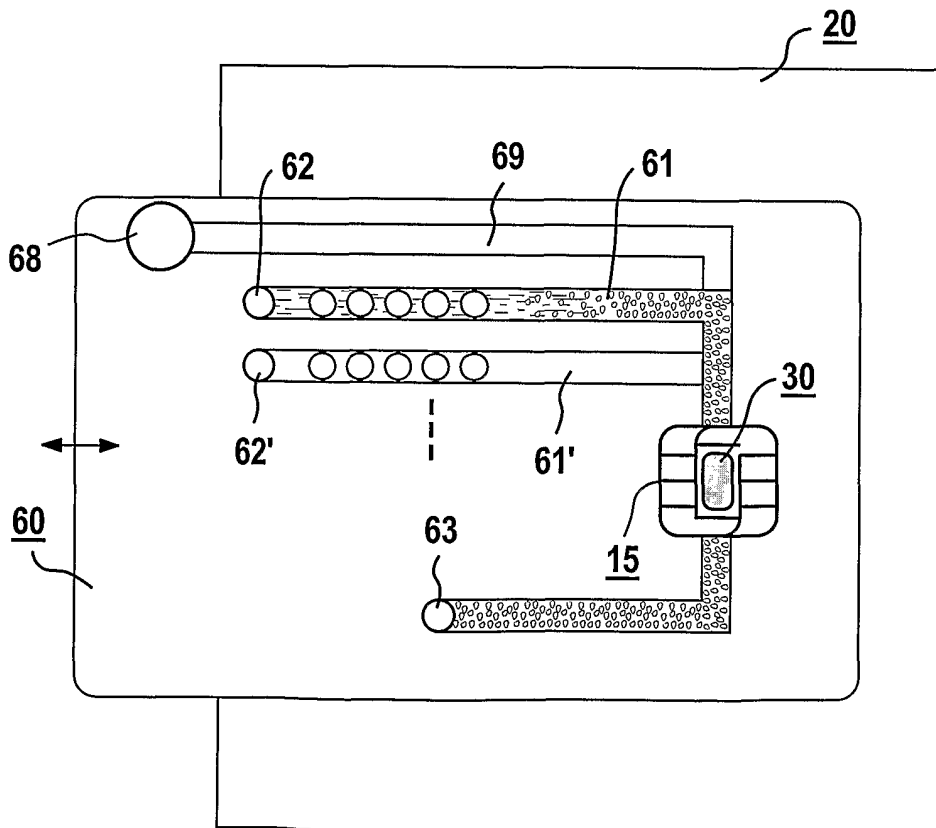


FIG 6

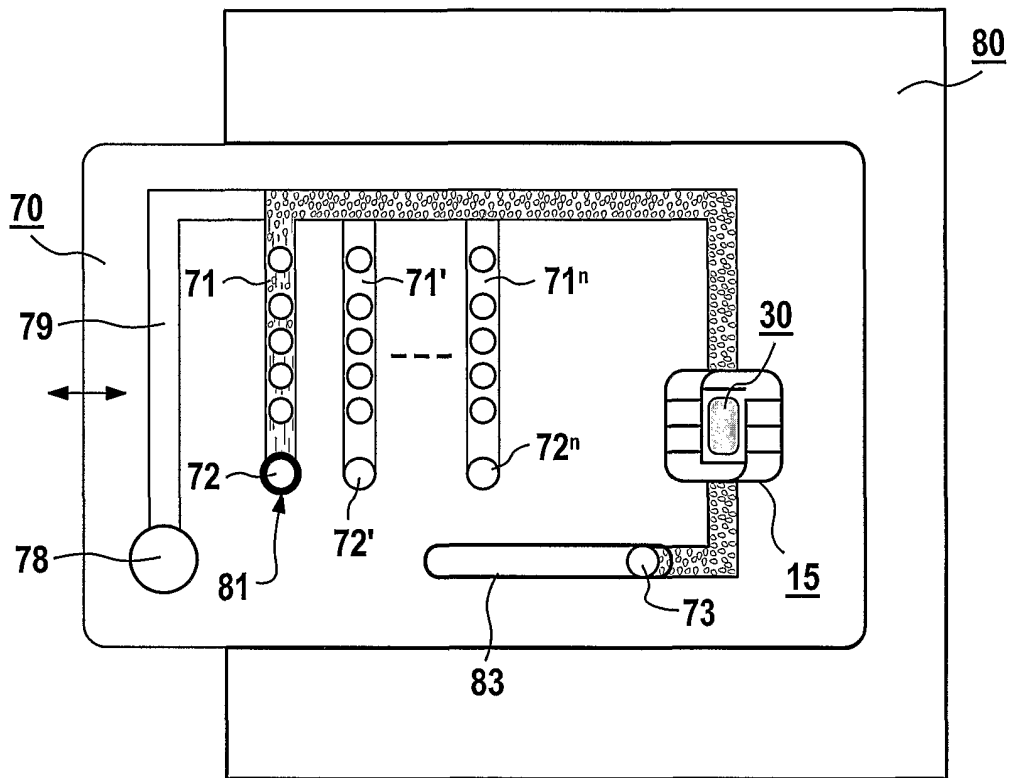


FIG 7

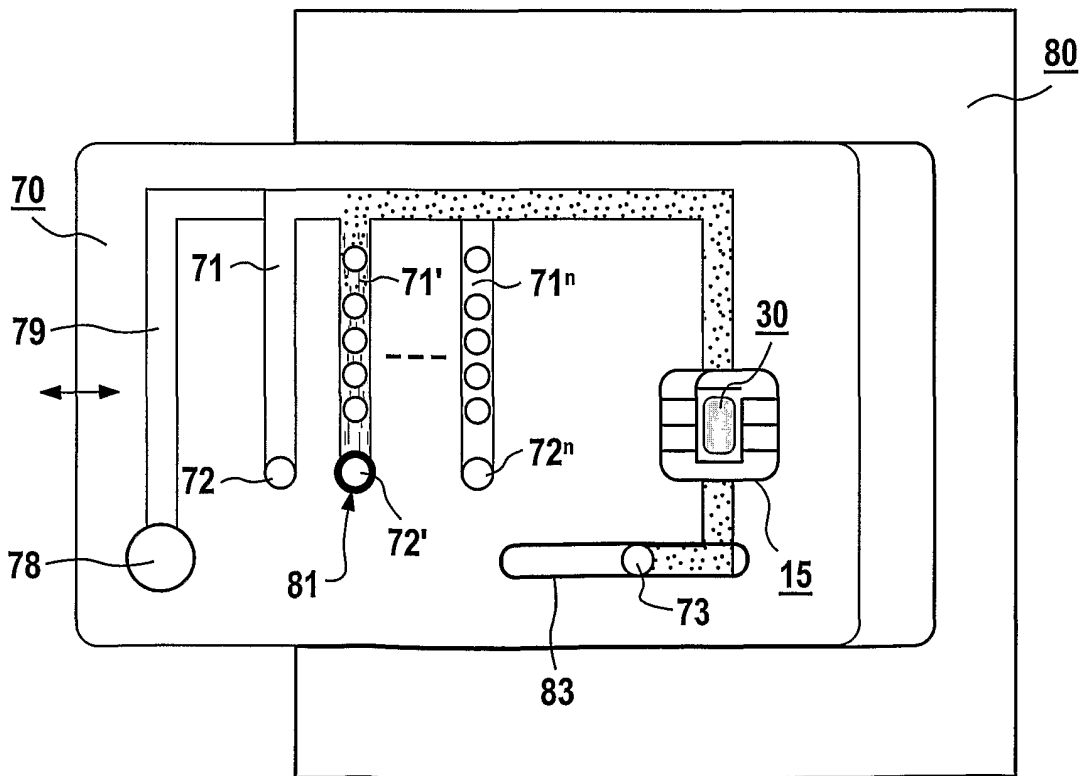


FIG 8



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC 1/0E 02/00837

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 7 B01L3/00 G01N27/28

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 B01L G01N

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)

WPI Data, EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 096 669 A (WIECK HENRY J ET AL) 17 March 1992 (1992-03-17) claims 1,2	1-37
A	DE 199 03 705 C (FRESENIUS MEDICAL CARE DE GMBH) 6 July 2000 (2000-07-06) column 2, line 23 -column 5, line 51	1-37
A	DE 195 46 535 A (INST CHEMO BIOSENSORIK) 19 June 1997 (1997-06-19) column 12, line 64 -column 14, line 54	1-37

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

4 July 2002

Date of mailing of the international search report

11/07/2002

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

Tragoustis, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 02/00837

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5096669	A	17-03-1992	AT 130092 T	15-11-1995
			CA 1330888 A1	26-07-1994
			DE 68924782 D1	14-12-1995
			DE 68924782 T2	21-03-1996
			EP 0434742 A1	03-07-1991
			HK 1007797 A1	23-04-1999
			JP 8020398 B	04-03-1996
			JP 4501768 T	26-03-1992
			KR 143558 B1	15-07-1998
			WO 9002938 A1	22-03-1990
DE 19903705	C	06-07-2000	DE 19903705 C1	06-07-2000
DE 19546535	A	19-06-1997	DE 19546535 A1	19-06-1997
			WO 9721381 A2	19-06-1997

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PC1/DE 02/00837

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 B01L3/00 G01N27/28		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b>		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 B01L G01N		
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) WPI Data, EPO-Internal		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 096 669 A (WIECK HENRY J ET AL) 17. März 1992 (1992-03-17) Ansprüche 1,2	1-37
A	DE 199 03 705 C (FRESENIUS MEDICAL CARE DE GMBH) 6. Juli 2000 (2000-07-06) Spalte 2, Zeile 23 -Spalte 5, Zeile 51	1-37
A	DE 195 46 535 A (INST CHEMO BIOSENSORIK) 19. Juni 1997 (1997-06-19) Spalte 12, Zeile 64 -Spalte 14, Zeile 54	1-37
<input type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> 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 *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 4. Juli 2002		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 11/07/2002
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 Tragoustis, M

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 02/00837

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5096669	A	17-03-1992	AT	130092 T	15-11-1995
			CA	1330888 A1	26-07-1994
			DE	68924782 D1	14-12-1995
			DE	68924782 T2	21-03-1996
			EP	0434742 A1	03-07-1991
			HK	1007797 A1	23-04-1999
			JP	8020398 B	04-03-1996
			JP	4501768 T	26-03-1992
			KR	143558 B1	15-07-1998
			WO	9002938 A1	22-03-1990
DE 19903705	C	06-07-2000	DE	19903705 C1	06-07-2000
DE 19546535	A	19-06-1997	DE	19546535 A1	19-06-1997
			WO	9721381 A2	19-06-1997