



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 34 829 T2** 2006.03.23

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 869 835 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 34 829.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US96/03362**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 909 670.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 96/032178**

(86) PCT-Anmeldetag: **12.03.1996**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **17.10.1996**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **14.10.1998**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **08.06.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **23.03.2006**

(51) Int Cl.⁸: **B01D 67/00** (2006.01)

B01D 39/16 (2006.01)

B01D 71/08 (2006.01)

B01D 71/12 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

422274 **13.04.1995** **US**

(73) Patentinhaber:

Travenol Laboratories (Israel) Ltd., Ashdod, IL

(74) Vertreter:

**Patentanwälte Eder & Schieschke, 80796
München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

DE, ES, FR, GB, IT, NL

(72) Erfinder:

**KRAUS, A., Menahem, 76100 Rehovot, IL;
GAMLIELI, Yephet, 75233 Rishon Lezion, IL;
YONATH, Jacob, 76287 Rehovot, IL; HAZAN, Roni,
67420 Tel Aviv, IL**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR LEUKOZYTENFILTRATION**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

GEBIET UND HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren und Filter zur Entfernung von Leukozyten aus Vollblut oder Plättchenkonzentraten.

[0002] Es ist allgemein bekannt, dass es für die überwiegende Mehrheit von Transfusionstherapien wünschenswert ist, die Leukozyten aus gespendetem Blut zu entfernen – üblicherweise durch Filtration –, bevor die Transfusion der verschiedenen Blutkomponenten bei einem Patienten durchgeführt wird.

[0003] Es ist wünschenswert, die Leukozyten zu entfernen, da ihr Vorhandensein negative Auswirkungen für den Patienten haben kann. So können Leukozyten beispielsweise nicht-hämolytische febrile Reaktionen und/oder HLA-Alloimmunisierung verursachen. Außerdem können Leukozyten Reaktionen von Transplantaten gegen den Wirt auslösen. Darüber hinaus können Leukozyten, die in verunreinigtem Blut vorhanden sind, verschiedene Viren beherbergen. Gleichzeitig hat die Entfernung der Leukozyten im Allgemeinen keine negativen Auswirkungen für den Empfänger, da die Leukozyten bei der überwiegenden Mehrheit der Transfusionen keinen nützlichen Zweck erfüllen.

[0004] Die derzeit gängige Praxis besteht darin, die Leukozyten aus den verschiedenen Blutkomponenten zu entfernen, nachdem diese aus Vollblut abgesondert worden sind. Somit wird jeder Anteil des Vollbluts üblicherweise zunächst abgesondert, beispielsweise durch Zentrifugieren und/oder Filtration, so dass eine Anzahl von Komponenten oder Fraktionen entsteht, hauptsächlich (1) Erythrozytenkonzentrat (rote Blutkörperchen); (2) Plättchenkonzentrat; und (3) Plasma. Jede der Fraktionen wird dann einer separaten Behandlung unterzogen – üblicherweise Filtration –, um die Leukozyten zu entfernen, die in dieser Fraktion vorhanden sind.

[0005] So beschreiben die Erfinder der vorliegenden Anmeldung beispielsweise in der WO-A-9417894 einzigartige Filter auf Membranbasis zur Entfernung von Leukozyten aus Konzentraten von roten Blutkörperchen oder zur Entfernung von Leukozyten und Blutplättchen aus Vollblut. Die in dem Dokument PCT/US94/01413 beschriebenen Filter fangen auch Blutplättchen auf und sind daher nicht dazu geeignet, Leukozyten aus Plättchenkonzentraten oder aus Vollblut zu entfernen.

[0006] Bei Filtern, wie sie in der WO-A-9417894 offenbart sind, besteht eine Schwierigkeit darin, dass sie statt der Behandlung von Vollblut auf die Behandlung spezieller Blutfraktionen beschränkt sind. Diese Einschränkung macht es notwendig, eine Anzahl separater Filtrationen durchzuführen, wobei bei jeder ein spezieller Filter verwendet wird, um die Leukozyten separat aus jeder der Blutfraktionen zu entfernen.

[0007] Es wäre vorteilhaft, einen effizienten Filter zu haben, der in der Lage ist, Leukozyten selektiv aus Vollblut zu entfernen, d.h. einen Filter, der wirksam Leukozyten auffangen und gleichzeitig die anderen Blutkomponenten einschließlich des Plasmas, der roten Blutkörperchen und der Blutplättchen wirksam passieren lassen würde.

[0008] Die Fähigkeit, Leukozyten selektiv aus Vollblut zu entfernen und dabei rote Blutkörperchen und Blutplättchen zurückzugewinnen, hätte signifikante Vorteile in Bezug auf die Behandlungsvorgänge und die Kosten. In der Praxis würde das Vollblut dann nur einmal gefiltert, um Leukozyten zu entfernen, vorzugsweise in der Blutbank. Nach dieser Filtration würde das leukozytenfreie Blut beispielsweise durch Zentrifugieren in leukozytenfreie Fraktionen aufgeteilt und in der üblichen Weise verarbeitet.

[0009] Die Entfernung von Leukozyten aus Vollblut erfordert einen speziellen Filter, der Leukozyten auffängt, aber rote Blutkörperchen und Blutplättchen passieren lässt. Derzeit ist kein Filter dieser Art im Handel erhältlich, obwohl mindestens ein solcher Filter in der Literatur beschrieben wird. Im Besonderen ist ein Vollblut-Leukozytenfilter in dem Dokument US-A-4,985,153 offenbart. Die Leistung dieses Filters, wie er in dem vorstehend genannten Patent beschrieben wird, ist jedoch alles andere als zufriedenstellend, wenn man derzeitige, international akzeptierte Standards in Betracht zieht. Die derzeitigen internationalen Standards fordern, dass nicht mehr als 5×10^6 Leukozyten pro Bluteinheit übrig bleiben. Bei der Rückgewinnung von Blutplättchen erwartet man einen Wert von nicht weniger als 70%.

[0010] Somit wäre es höchst vorteilhaft, einen Universalfilter zu haben, der eine hohe Rückgewinnungsrate von Blutplättchen und eine sehr hohe Leukozytenauffangrate bietet, wofür eine entsprechende Nachfrage besteht.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0011] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zum selektiven Entfernen von Leukozyten aus einer Suspension, die auch Plättchen enthält, geschaffen, bei welchem die Suspension durch einen Filter geleitet wird, der eine vernetzte, wasserunlösliche Beschichtung des Polysaccharid-Typs aufweist.

[0012] Darüber hinaus wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Filter zum selektiven Entfernen von Leukozyten aus einer Suspension, die auch Plättchen enthält, geschaffen, mit: (a) einem Substrat; und (b) einer Beschichtung auf dem Substrat, die eine vernetzte, wasserunlösliche Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs enthält.

[0013] Schließlich wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Anfertigen eines Filters zum selektiven Entfernen von Leukozyten aus einer Suspension, die auch Plättchen enthält, geschaffen, mit folgenden Schritten: (a) Schaffen einer Beschichtungslösung, die eine Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs, ein Vernetzungsmittel und ein Lösungsmittel enthält; (b) Auftragen der Beschichtungslösung auf ein Substrat; und (c) Trocknen des beschichteten Substrats, um ein trockenes, beschichtetes Substrat zu bilden.

[0014] Gemäß weiteren Merkmalen in bevorzugten Ausführungsformen der nachfolgend beschriebenen Erfindung weist die Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs einen oder mehrere der Stoffe Hydroxypropylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Hydroxybutylmethylcellulose, Dextran und Hydroxyethylstärke auf.

[0015] Die vorliegende Erfindung widmet sich erfolgreich den Mängeln der bisher bekannten Strukturen, indem sie ein Verfahren und eine Vorrichtung zum wirksamen selektiven Entfernen von Leukozyten aus Suspensionen, wie z.B. Blut und Blutfraktionen, die auch Plättchen enthalten, schafft.

[0016] Zu dem Verfahren bzw. zu der Vorrichtung gehört die Verwendung einer Membran und/oder eines nicht gewebten Materials, das mit einer Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs beschichtet ist und durch das eine Suspension, die sowohl Leukozyten als auch Plättchen enthält, geleitet wird. Es wurde festgestellt, dass bei diesem Verfahren bzw. dieser Vorrichtung wirksam die Plättchen hindurchgeleitet und gleichzeitig die Leukozyten zurückgehalten werden.

BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0017] Die vorliegende Erfindung schafft ein Verfahren und eine Vorrichtung, um effizient und selektiv Leukozyten aus Vollblut oder aus einer Blutfraktion, die Plättchen enthält, zu entfernen.

[0018] Die Grundlagen und die Wirkungsweise der vorliegenden Erfindung werden durch die nachfolgende Beschreibung und die Beispiele besser verständlich.

[0019] In der Literatur ist bekannt, dass zur Rückgewinnung von Plättchen aus leukozytenfreiem Blut die Filtration unter Verwendung sehr spezieller Oberflächenbehandlungen des Filtermediums angewandt werden kann. Unterbleiben diese Behandlungen, so hält der Filter einen großen Anteil der Plättchen zurück.

[0020] In der Literatur werden zwei Arten dieser Oberflächenbehandlungen beschrieben. Das Dokument US-A-4,936,998 offenbart die Oberflächenbeschichtung vorgeformter Acryl-Copolymere, wie z.B. Copoly(hydroxyethyl methacrylat-diethylaminoethyl methacrylat). Das Dokument US-A-4,880,548 offenbart das Aufpropfen bestimmter Monomere, wie z.B. Acrylat, auf die Oberfläche. Hierbei wird beiläufig angemerkt, dass das Dokument US-A-4,880,548 geltend macht, dass zum Erreichen einer effizienten Plättchenfiltration ein Filter erforderlich ist, der eine kritische Oberflächenbenetzungsspannung von 90 dyn/cm oder mehr aufweist.

[0021] Keiner der im Handel erhältlichen Leukozytendepletionsfilter für Plättchenkonzentrat ist dazu geeignet, Plättchen aus Vollblut zurückzugewinnen, da das Vorhandensein von roten Blutkörperchen zusammen mit Blutplättchen dazu führt, dass diese Filter schnell verstopft werden.

[0022] Es wurde unerwartet festgestellt, dass die Beschichtung eines geeigneten Filtermediums unter Verwendung einfacher, im Handel erhältlicher Polysaccharide und Polysaccharid-Derivate (hier einzeln und zusammenfassend als „Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs“ bezeichnet) es ermöglicht, hoch effiziente Plättchenfilter zu konstruieren, die die Wirkung haben, Leukozyten aus Plättchenkonzentraten zu entfernen. Ähnliche Behandlungen können verwendet werden, um einen hoch effizienten Universalfilter herzustellen, der

Leukozyten wirksam aus Vollblut entfernt. Somit sind Verfahren und Filter gemäß der vorliegenden Erfindung mit geringfügigen Änderungen sowohl für die Plättchen- als auch für die Vollblutfiltration zum Entfernen von Leukozyten geeignet.

[0023] Für ein Verfahren und einen Filter gemäß der vorliegenden Erfindung sind verschiedene Zusammensetzungen des Polysaccharid-Typs geeignet. Zu den Beispielen zählen verschiedene Cellulosederivate, einschließlich – ohne dass hierin eine Einschränkung zu sehen wäre – Hydroxypropylcellulose (HPC), Hydroxyethylcellulose (HEC), Hydroxybutylmethylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Dextran und Hydroxyethylstärke. Zu den bevorzugten Zusammensetzungen des Polysaccharid-Typs gehören Hydroxypropylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose und Hydroxybutylmethylcellulose. Die am meisten bevorzugte Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs ist Hydroxypropylcellulose. Die verschiedenen Zusammensetzungen des Polysaccharid-Typs sind im Allgemeinen in Wasser und in einer Anzahl anderer Lösungsmittel, wie z.B. Ethanol, löslich.

[0024] Eine verdünnte Lösung, üblicherweise in Wasser, eines oder mehrerer dieser Polymere wird als Beschichtungslösung verwendet, um die Oberfläche des Filtersubstrats oder -mediums zu beschichten. Eine bevorzugte Lösung ist eine wässrige HPC-Lösung mit einer HPC-Konzentration von etwa 0,1 bis etwa 10 Gew./Vol.%. Am meisten bevorzugt wird eine Konzentration von etwa 0,5 bis etwa 3 Gew./Vol.%.

[0025] Das Filtersubstrat kann jedes geeignete Medium sein, vorzugsweise eine oder mehrere nicht gewebte Materialbahnen oder eine oder mehrere Membranen. Am meisten zu bevorzugen ist, dass das Filtersubstrat sowohl eine oder mehrere nicht gewebte Materialbahnen als auch eine oder mehrere Membranen aufweist. So wie der Begriff „Membran“ hier verwendet wird, soll er eine ununterbrochene, nicht faserige, poröse Matrix umfassen.

[0026] Membranen, die bei der vorliegenden Erfindung verwendet werden, können aus jeglichem geeigneten Material bestehen, einschließlich – ohne dass hierin eine Einschränkung zu sehen wäre – Polycarbonat, Acryl-Copolymer, Polyvinylchlorid, Nylon und Nitratcellulose. Die Membran hat vorzugsweise eine Porengröße von etwa 2 bis etwa 20 μ .

[0027] Nicht gewebte Materialien zur Verwendung bei der vorliegenden Erfindung können aus jeglichem geeigneten Material bestehen, einschließlich – ohne dass hierin eine Einschränkung zu sehen wäre – Polyester, Cellulose, Nylon und Polypropylen.

[0028] Um ein in geeigneter Weise beschichtetes Filtermedium, üblicherweise eine Membran und/oder ein nicht gewebtes Material, herzustellen, wird eine Beschichtungslösung, üblicherweise in Wasser oder Ethanol, die eine Polysaccharid-Zusammensetzung und ein Vernetzungsmittel aufweist, geschaffen. Das Filtersubstrat wird dann, beispielsweise durch Eintauchen, mit der Beschichtungslösung beschichtet. Dann wird der Filter bei einer geeigneten Temperatur getrocknet, beispielsweise annähernd bei Raumtemperatur oder bei erhöhten Temperaturen, um das Lösungsmittel zu verdampfen und ein trockenes, beschichtetes Substrat zu bilden.

[0029] Um für eine bessere Verbindung zwischen der Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs und dem Substrat zu sorgen, ist ein Vernetzungsmittel in der Beschichtungslösung enthalten. Es kann jedes geeignete Vernetzungsmittel verwendet werden, einschließlich – ohne dass hierin eine Einschränkung zu sehen wäre – einem Melamin, wie z.B. Hexamethoxymethylmelamin, einem Polyepoxid, oder einem Polyaldehyd. Nach dem Trocknen reagiert das Vernetzungsmittel mit der Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs und macht diese unlöslich. Abhängig von der Chemie des Substrats kann das Vernetzungsmittel auch mit dem Substrat reagieren, was dazu dient, die Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs eng an das Substrat zu binden, um die Möglichkeit auszuschließen, dass die Beschichtung von dem Substrat getrennt wird.

[0030] Wahlweise kann es auch wünschenswert sein, das trockene, beschichtete Substrat mit einem geeigneten Waschmedium, beispielsweise Wasser oder Ethanol, zu waschen und dann das gewaschene, beschichtete Substrat noch einmal zu trocknen.

[0031] Es wurde festgestellt, dass die Beschichtung des Filtersubstrats, wie sie oben beschrieben wurde, eine drastische, vorteilhafte Wirkung auf die Durchlässigkeit des Filters für Blutplättchen hat, obwohl das beschichtete Substrat eine Oberflächenspannung von nur etwa 70 dyn/cm hat.

[0032] Während viele nicht behandelte Filtermedien, wie z.B. Polyester, Nylon, Nitratcellulose, mit einer Porengröße von 2–20 μ m alle oder einen sehr signifikanten Anteil der Blutplättchen zurückhalten, liegt nach der

Behandlung mit einer Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs die Rückgewinnungsrate von Blutplättchen üblicherweise zwischen etwa 80 und etwa 100%.

[0033] Obwohl durch die Behandlung auch das Zurückhalten der weißen Blutkörperchen zeitweise geringfügig reduziert wird, ist die Wirkung nicht annähernd so ausgeprägt wie der Anstieg der Plättchenrückgewinnung. Auf diese Weise kann eine gute Trennung zwischen Leukozyten und Blutplättchen erreicht werden.

[0034] Wegen ihrer flexiblen Membran und der geringen Adhäsion werden rote Blutkörperchen leicht durch Filter der vorliegenden Erfindung geleitet. Somit wird ein Universalfilter erzielt, der in der Lage ist, Leukozyten selektiv aus allen anderen Blutkomponenten zu entfernen.

[0035] Wie in den nachfolgenden Beispielen gezeigt wird, können mit der geeigneten Anzahl und der geeigneten Porosität von Schichten von Filtermedien hoch effiziente Filter zur Leukozytenentfernung für Plättchenkonzentrate und für Vollblut konstruiert werden.

[0036] Die am meisten bevorzugte Filterstruktur weist zwei Schichten auf: (1) eine nicht gewebte Filterschicht und eine Membranfilterschicht. Jede der Schichten kann mehrere Filtermaterialbahnen aufweisen. Beide Schichten werden mit der Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs, wie sie oben beschrieben ist, behandelt. Ein typischer Filter, der in der beschriebenen Weise hergestellt wurde, ergibt sowohl bei der Plättchenkonzentrat-Filtration als auch bei der Vollblutfiltration eine Rückgewinnungsrate von Blutplättchen von mehr als 70% und eine Leukozytenauffangrate von mehr als 99%.

BEISPIELE

[0037] Die Beispiele 1–23 beziehen sich auf die Filtration von Plättchenkonzentraten, während die Beispiele 24–28 sich auf die Filtration von Vollblut beziehen.

Beispiele 1–6: Wirkung der Beschichtung auf die Leistung der Membran (nicht erfindungsgemäß)

[0038] Es wurden verschiedene Membranen behandelt, indem sie in eine Lösung von 1% Hydroxypropylcellulose (HPC) in Wasser getaucht wurden. Dann ließ man die Membranen unter Umgebungsbedingungen trocknen. Die behandelten Membranen und nicht behandelte Kontrollobjekte wurden auf ihre Durchlässigkeit für Blutplättchen und weiße Blutkörperchen aus Standard-Plättchenkonzentraten getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Wie man deutlich erkennen kann, verbessert die Behandlung die Durchlässigkeit für Blutplättchen und die Fließrate drastisch.

Tabelle 1: Filtration von Plättchenkonzentraten (PC) durch beschichtete Membranfilter

Beisp.	Membran	Porengröße (µm)	Behandlung	Anzahl der Schichten	Fließrate ml/min	Durchlässigkeit	
						Plättchen %	weiße Bl. %
1	Polycarbonat (PC, Poretics)	2	nicht beh. beschichtet	1	0	0	0
				1	0,3	100	30
2	Acryl-Copolymer (Versapore, Gelman)	3	nicht beh. beschichtet	1	0	1	0
				1	0,5	75	17
3	PVC (GLA-5000, Gelman)	5	nicht beh. beschichtet	1	0	0	0
				1	0,3	32	0
4	Nylon (Magna-Nylon, MSI)	10	nicht beh. beschichtet	1	0,1	13	0
				1	0,8	75	14
5	Nylon (Magna-Nylon, MSI)	20	nicht beh. beschichtet	1	0,9	77	32
				2	3,8	96	11
6	Nitratcellulose (NC, AE100, S&S)	12	nicht beh. beschichtet	2	0,7	32	18
				2	9,0	92	13

Beispiele 7–10: Wirkung der Beschichtung auf die Leistung des nicht gewebten Filters (nicht erfindungsgemäß)

[0039] Es wurden verschiedene nicht gewebte Polyesterfilter behandelt, indem das Filtersubstrat in 1% wässrige oder Ethanol-HPC-Lösung getaucht und getrocknet wurde.

[0040] Zum Filtern von Plättchenkonzentraten wurden mehrschichtige Anordnungen behandelter Filter und nicht behandelter Kontrollobjekte verwendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

[0041] Es ist deutlich zu sehen, dass die Durchlässigkeit für Blutplättchen nach der Behandlung in sehr hohem Maße verbessert wird, während die Durchlässigkeit für weiße Blutkörperchen in sehr viel geringerem Maße zunimmt.

Tabelle 2: Filtration von Plättchenkonzentraten durch beschichtetes, nicht gewebtes Material

Beispiel	Filter	Behandl.	Anzahl d. Schichten	Fließrate ml/min	Durchlässigkeit	
					Plättchen %	weiße Bl. %
7	Polyester 80 g/m ² , Sodoca	unbehand.	10	86	55	15
		beschichtet	10	40	100	35
		beschichtet	30	6	94	5
8	Polyester 100 g/m ² , Sodoca	unbehand.	10	7	24	9
		beschichtet	10	3	100	29
9	Polyester 120 g/m ² , Freudenberg	unbehand.	10	3*	19	0
		beschichtet	10	3*	86	9
10	Cellulose 11µ (Whatman)	unbehand.	6	0,7	83	20
		beschichtet	6	2	96	40

*Fließrate auf 3 ml/min eingestellt

Beispiele 11–15: Wirkung der Konzentration der Beschichtungslösung (nicht erfindungsgemäß)

[0042] Der Beschichtungseffekt ist abhängig von der Konzentration, wie in Tabelle 3 dargestellt. Die verwendeten Modellfilter waren eine Kombination von Membranen und nicht gewebten Materialbahnen. Wie dargestellt, gewährleistet eine HPC-Konzentration von 0,5% (Gew./Vol.%) und mehr eine gute Fließrate, eine gute Plättchen-Durchlässigkeit und eine geringe Undichtheit für weiße Blutkörperchen.

Tabelle 3: Wirkung der HPC-Beschichtungskonzentration auf die Leistung des Filters

Filterzusammensetzung: Polyester-Materialbahnen 120 g/m² (6 Schichten)
 Nitratcellulosemembran: AE100 (3 Schichten)
 Filterbehandlung: HPC-Beschichtung
 Fließrate: eingestellt auf 1,0–1,5 ml/min

Beispiel	HPC-Konzentration (%)	vor dem Verstopfen gefiltertes Vol. (ml)	Durchlässigkeit	
			Plättchen %	weiße Blutk. %
11	0	< 6	9	2
12	0,25	< 23	79	4
13	0,5	> 30	84	5
14	1,0	> 30	85	3
15	2,0	> 30	89	5

Beispiele 16–18: Wirkung der Vernetzung der Beschichtung

[0043] Zur Verbesserung der Stabilität wurde die Filterbeschichtung vernetzt. Das verwendete Vernetzungsmittel war Hexamethoxymethylmelamin. Die Tabelle 4 fasst die Ergebnisse aus einer Anzahl von Behandlungsvariablen zusammen.

[0044] Wie ersichtlich, hat die Vernetzung – entweder für sich genommen oder im Zusammenhang mit nachfolgendem Waschen – offenbar nur eine geringe Wirkung auf die Durchlässigkeit für Plättchen oder weiße Blutkörperchen. Jedoch wird die Menge des extrahierbaren Materials, das nach dem Waschen verloren geht, wesentlich reduziert.

Tabelle 4: Zellenseparation nach verschiedenen Filterbehandlungen

Filterzusammensetzung:

Polyester-Materialbahnen 120 g/m² (8 Schichten) und AE (3 Schichten)

Beispiel	Filter und Behandlung	Durchlässigkeit	
		Plättchen %	weiße Blutk. %
16	2% HPC	89	3
17	2% HPC + Vernetzung	87	2
18	2% HPC + Vernetzung + Waschen	88	2

Beispiele 19–23: Filter zum umfassenden Filtern von Plättchen

[0045] Filter zum umfassenden Filtern von Plättchen, geeignet für 4 bis 5 zusammengefasste Einheiten, wurden aus einer Schichtstruktur aus oberflächenbehandelten, nicht gewebten Materialien und behandelten Membranen konstruiert. Die Konstruktion und die Daten über die Leistung sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Leistung der Filter zum umfassenden Filtern von Plättchen

Bsp.	Filterzusammensetzung	Anzahl der Schichten	Gefiltertes Vol. (ml)	Rückgew. von Plättchen (%)	Entfern. von weißen Blutk. (%)	übrige weiße Blutk.	
						pro µl	gesamt
19	Polyester 80g/m ²	32	200	98	99,95	0,25	0,1x10 ⁶
	AE-100 (12µ)	3					
20	Polyester 100g/m ²	20	250	94	99,83	1,1	0,25x10 ⁶
	AE-100 (12µ)	4					
21	Polyester 100g/m ²	16	200	95	99,74	1,4	0,27x10 ⁶
	AE-100 (12µ)	5					
22	Polyester 100g/m ²	20	200	100	99,70	1,6	0,32x10 ⁶
	AE-100 (12µ)	5					
23	Polyester 100g/m ²	20	230	88	99,81	1,1	0,25x10 ⁶
	AE-100 (12µ)	5					

Behandlung

- a. Filter 19 und 21 –
- b. Filter 20 und 22 –
- c. Filter 23 –

Beschichtung (1% HPC) (nicht erfindungsgemäß)
 Beschichtung und Vernetzung (0,025% Melamin)
 Beschichtung, Vernetzung und Waschen

Beispiel 24: Hydroxypropylcellulose-Beschichtung (Vollblut) (nicht erfindungsgemäß)

[0046] Es wurde eine wässrige Lösung (0,1%) von Hydroxypropylcellulose (HPC) mit einem Molekulargewicht von 370000 verwendet. Zu den Filtermaterialien zählten Nitratcellulosemembranen mit einer Nennporengröße von 12 und 8 Mikrometer und ein nicht gewebter Polyesterstoff (120 g/m²).

[0047] Die Filtermaterialien wurden fünf Minuten lang bei Raumtemperatur in die HPC-Lösung getaucht. Der nicht gewebte Stoff wurde ausgedrückt, um überschüssige Lösung zu entfernen. Die Membranen wurden ähnlich behandelt, aber nicht ausgedrückt. Nachdem die Materialien 24 Stunden lang bei Raumtemperatur trockneten, wurde ein Filter in einem Kunststoffhalter mit 43 cm² Filterfläche konstruiert. Der Filter bestand aus zwei Schichten aus einer 8 µ-Membran, zwei Schichten aus einer 12 µ-Membran und 20 Schichten aus nicht gewebtem Stoff, der als Vorfilter dient. Weitere vier Schichten des gleichen, nicht gewebten Stoffs wurden zwischen benachbarte Membranen eingeführt, um als Trennmittel zu dienen. 470 ml Vollblut wurden unter Verwendung einer CPD-Antikoagulanzlösung in einem Standard-Sammelbeutel gesammelt und sechs Stunden nach der Spende gefiltert. Die Filtrationszeit betrug 27 Minuten bei einer Druckhöhe von 0,09 atm. Der Leukozytengehalt wurde von 6300/µl im ursprünglichen Blut auf 4/µl im gefilterten Blut reduziert. 72 Prozent der ursprünglichen Plättchen (185000/µl) wurden zurückgewonnen. Der Erythrozytengehalt des gefilterten Blutes wurde nur um 0,5% verringert. Als das gleiche Experiment wiederholt wurde, ohne dass eine HPC-Beschichtung auf die Filterschichten aufgebracht wurde, wurden nur 1–5% der Plättchen zurückgewonnen.

Beispiel 25: Wirkung des Waschens (Vollblut) (nicht erfindungsgemäß)

[0048] Das Verfahren des Beispiels 24 wurde wiederholt, allerdings ohne die 8 µ-Membran und unter Verwendung einer 1%igen HPC-Lösung. Darüber hinaus wurden die durch Eintauchen beschichteten Membranen und Vorfilter nach dem Trocknen gewaschen, indem sie 20 Minuten lang mit Wasser bei 22°C durchtränkt wurden. Zwanzig Stunden altes Vollblut wurde mit einer Rate von 485 ml/1 l min in diesem System gefiltert. Es ergab sich eine Leukozytenreduktion von 5000/µl auf 15/µl. Von 282000/µl Plättchen im ursprünglichen Blut wurden 216000/µl zurückgewonnen.

[0049] Die Wiederholung dieses Experiments ohne Aufbringen der HPC-Beschichtung führte nur zu einer Plättchen-Rückgewinnung von 1–5%.

Beispiel 26: Hydroxypropylmethylcellulose-Beschichtung (Vollblut)

[0050] Die gleiche Filterstruktur wie bei dem Beispiel 24 wurde für die Filtration von sechs Stunden altem Vollblut verwendet. Es erfolgte eine Beschichtung unter Verwendung einer wässrigen Lösung (0,6%) von Hydroxypropylmethylcellulose (Molekulargewicht: 86000; Hydroxypropylgehalt: 10%, Methylgehalt: 30%), die 0,016% Glyoxal als Vernetzungsmittel enthielt. Nach dem Eintauchen wurden die Membranen und Vorfilter 40 Minuten lang einer Wärmebehandlung bei 108–115°C unterzogen, gewaschen und getrocknet wie in dem Beispiel 25.

[0051] Die Filtrationsrate betrug 470 ml/33 min. Es ergab sich eine Leukozytenreduktion von 5600/µl auf 7/µl und von 216000/µl Plättchen im ursprünglichen Blut wurden 182000/µl zurückgewonnen.

Beispiel 27: Hydroxybutylmethylcellulose-Beschichtung (Vollblut) (nicht erfindungsgemäß)

[0052] Das Verfahren des Beispiels 26 wurde wiederholt, mit Ausnahme dessen, dass vier 12 µ-Membranen verwendet wurden und dass als Beschichtungslösung eine 0,5%ige Hydroxybutylmethylcellulose-Lösung in einer 9:1-Wasser-Ethanol-Mischung verwendet wurde. Es wurde kein Vernetzungsmittel verwendet, und die Schritte der Wärmebehandlung und des Waschens entfielen. In 25 Minuten wurden 440 ml Vollblut gefiltert. Es wurden 73% Plättchen zurückgewonnen, und der Leukozytengehalt wurde von 7800/µl auf 300/µl reduziert.

Beispiel 28: Hydroxyethylcellulose-Beschichtung (Vollblut)

[0053] Das Verfahren des Beispiels 26 wurde wiederholt, wobei vier 12 µ-Membranen verwendet wurden, sowie eine Beschichtungslösung, die aus einer wässrigen, 1%igen Hydroxyethylcellulose-Lösung bestand, welche 0,04% Glyoxal als Vernetzungsmittel enthielt. 530 ml sechs Stunden altes Vollblut wurden in 19 Minuten gefiltert. Die Leukozytenrate wurde von 6200/µl auf 300/µl reduziert und die Rückgewinnung von Plättchen betrug 45%.

Patentansprüche

1. Verfahren zum selektiven Entfernen von Leukozyten aus einer Suspension, die auch Plättchen enthält, bei welchem die Suspension durch einen Filter geleitet wird, der eine vernetzte, wasserunlösliche Beschichtung des Polysaccharid-Typs aufweist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die Beschichtung des Polysaccharid-Typs einen oder mehrere der Stoffe Hydroxypropylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Hydroxybutylmethylcellulose, Dextran und Hydroxyethylstärke aufweist.
3. Filter zum selektiven Entfernen von Leukozyten aus einer Suspension, die auch Plättchen enthält, mit:
 - (a) einem mehrschichtigen Substrat, das mindestens eine nicht gewebte Materialschicht und mindestens eine Membranschicht aufweist; und
 - (b) einer Beschichtung auf dem Substrat, die eine vernetzte, wasserunlösliche Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs enthält.
4. Filter nach Anspruch 3, bei dem die Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs einen oder mehrere der Stoffe Hydroxypropylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Hydroxybutylmethylcellulose, Dextran und Hydroxyethylstärke aufweist.
5. Filter nach Anspruch 3 oder 4, bei dem die Membran eine Porengröße von etwa 2 bis etwa 20 μm hat.
6. Filter nach einem der Ansprüche 3, 4 oder 5, bei dem die Membran Material aufweist, das ausgewählt wird aus Polycarbonat, Acryl-Copolymer, Polyvinylchlorid, Nylon, Nitratcellulose und Celluloseestern.
7. Filter nach einem der Ansprüche 3 bis 6, bei dem das nicht gewebte Material ein Polyester ist.
8. Verfahren zum Anfertigen eines Filters zum selektiven Entfernen von Leukozyten aus einer Suspension, die auch Plättchen enthält, mit folgenden Schritten:
 - (a) Schaffen einer Beschichtungslösung, die eine Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs, ein Vernetzungsmittel und ein Lösungsmittel enthält;
 - (b) Auftragen der Beschichtungslösung auf ein mehrschichtiges Substrat, das mindestens eine nicht gewebte Materialschicht und mindestens eine Membranschicht aufweist; und
 - (c) Trocknen des beschichteten, mehrschichtigen Substrats, um ein trockenes, beschichtetes, mehrschichtiges Substrat mit einer vernetzten, wasserunlöslichen Beschichtung des Polysaccharid-Typs zu bilden.
9. Verfahren nach Anspruch 8, bei dem das Vernetzungsmittel ausgewählt wird aus Melamin, Polyepoxid und Polyaldehyd.
10. Verfahren nach Anspruch 8 oder 9, bei dem die Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs einen oder mehrere der Stoffe Hydroxypropylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Hydroxybutylmethylcellulose, Dextran und Hydroxyethylstärke aufweist.
11. Verfahren nach Anspruch 10, bei dem die Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs Hydroxypropylcellulose in einer Konzentration von etwa 0,1 bis etwa 10% (Gew./Vol.) in dem Lösungsmittel aufweist.
12. Verfahren nach Anspruch 11, bei dem die Konzentration der Hydroxypropylcellulose in dem Lösungsmittel zwischen etwa 0,5 und etwa 3% (Gew./Vol.) liegt.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 12, bei dem die Membran eine Porengröße von etwa 2 bis etwa 20 μm hat.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 13, bei dem die Membran Material aufweist, das ausgewählt wird aus Polycarbonat, Acryl-Copolymer, Polyvinylchlorid, Nylon und Nitratcellulose.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 14, bei dem das nicht gewebte Material ein Polyester ist.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 15, das außerdem folgende Schritte aufweist:
 - (d) Waschen des trockenen beschichteten Substrats; und
 - (e) Trocknen des gewaschenen beschichteten Substrats.

17. Verwendung eines Filters mit:

(a) einem Substrat; und

(b) einer Beschichtung auf dem Substrat, die eine vernetzte, wasserunlösliche Zusammensetzung des Polysaccharid-Typs aufweist,

um selektiv Leukozyten aus einer Suspension zu entfernen, die auch Plättchen enthält.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen