РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

(19) BG (11) 108123 A

7(51) A 61 L 24/10, 15/32

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 108123
(22) Заявено на 21.08.2003
(24) Начало на действие на патента от:

Приоритетни данни

(31) 2001 00135 (32) 25.01.2001 (33) DK
2001 00235 13.02.2001 DK

(41) Публикувана заявка в бюлетин № 9 на 30.09.2004
(45) Отпечатано на
(46) Публикувано в бюлетин № на
(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(71) Заявител(и):
NYCOMED PHARMA AS, ASKER (NO)

(72) Изобретател(и):
Alfred Schaufler, Puchenau (AT)

(74) Представител по индустриална собственост:
Георги Цветанов Перев, 1124 София, ул. "Леонардо да Винчи" 3

(86) № и дата на PCT заявка:
PCT/IB2002/001454, 25.01.2002

(87) № и дата на PCT публикация:
WO2002/058750, 01.08.2002

(54) СУСПЕНЗИЯ, СЪДЪРЖАЩА ФИБРИНОГЕН, ТРОМБИН И АЛКОХОЛ, МЕТОД ЗА ИЗГОТВЯНЕ НА ТАЗИ СУСПЕНЗИЯ, МЕТОД ЗА ПОКРИВАНЕ НА НОСИТЕЛ С ТАЗИ СУСПЕНЗИЯ, МЕТОД ЗА ИЗСУШАВАНЕ НА ПОКРИТИЕТО НА НОСИТЕЛЯ И ПОКРИТА КОЛАГЕНОВА ПОРЕСТА МАСА

(57) Суспензията от фибриноген, тромбин, алкохол и незадължително апротинин се получава чрез смесване на фибриноген в алкохол с тромбин в алкохол. Тя съдържа частици фибриноген и тромбин със среден диаметър по Folk Ward 25-100 μm. Тромбинът може да бъде човешки, говежди или рекомбинантен, а фибриногенът - човешки или рекомбинантен. Изобретението се отнася и до метод за покриване на носител, като колагенова пореста маса, със суспензия и до метод за изсушаване на покритието. Покритият колагенов носител може да се използва като готов за употреба адсорбируем състав за залепване на тъкан, затваряне на тъкан и спиране на кръвотечение, при което носителят е покрит със здраво прикрепени компоненти от фибриново лепило, т.е. фибриноген и тромбин.

68 претенции, 11 фигури

BG 108123 A

СУСПЕНЗИЯ СЪДЪРЖАЩА ФИБРИНОГЕН, ТРОМБИН И АЛКОХОЛ; МЕТОД ЗА ИЗГОТВЯНЕ НА ТАКАВА СУСПЕНЗИЯ; МЕТОД ЗА ПОКРИВАНЕ НА НОСИТЕЛ С ТАКАВА СУСПЕНЗИЯ; МЕТОД ЗА ИЗСУШАВАНЕ НА ПОКРИТИЕТО НА НОСИТЕЛЯ И ПОКРИТА КОЛАГЕНОВА ПОРЕСТА МАСА

ОБЛАСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Настоящето изобретение се отнася до суспензия, съдържаща фибриноген, тромбин, алкохол и незадължително апротинин. Изобретението допълнително се отнася до изготвяне на такава суспензия и до метод за покриване на носител с такава суспензия. Носителят може да е колагенов носител, като колагенова пореста маса. Изобретението допълнително се отнася и до метод за изсушаване на покрития носител, по специално на колагенов носител, покрит със суспензия съгласно изобретението, и така се получава покрит колагенов носител, притежаващ активни субстанции, здраво прикрепени към носителя.

Покритият колагенов носител може да се употребява като готов за употреба адсорбируем състав за залепяне на тъкан, затваряне на тъкан и спиране на кръвотечение, характеризиращ се с това, че се състои основно от носител, покрит със здраво прикрепени компоненти от фибриново лепило: фибриноген и тромбин. Тази фиксирана комбинация може да се прилага директно към напр. наранена повърхност. При контакт с кръв, телесни течности или физиологични солеви разтвори механизмът на тази система имитира последния етап на коагулационната каскада, при който тромбинът катализира превръщането на фирбиногена във фибрин и активирането на фактор XIII до превръщането му в XIIIa. Веднъж

получен фактор XIIIa стабилизира фибриновото покритие чрез ковалентно напречно свързване.

Като двукомпонентен адхезив, нараненатa повърхност и носителят се слепват заедно чрез полимеризация. По време на този процес, който продължава приблизително между 3 до 5 минути, съставът, съгласно изобретението, за предпочитане се притиска върху нараненатa област. Компонентите на състава, съгласно изобретението, се разграждат ензимно за 4 – 6 месеца след прилагането им.

ПРЕДХОДНО НИВО НА ТЕХНИКАТА

Търговските фибринови лепила, които имитират последната стъпка на коагулационната каскада, се състоят от силно концентриран фибриногенов разтвор, смесен с разтвор на тромбин преди прилагането му върху съществуваща хирургична рана. Тези смеси съдържат инхибитор на фибринолизиса, напр. апротинин или ε-аминокапроева киселина за предотвратяване на преждевременното разтваряне на фирбиновото покритие от фирбинолитичния ензим плазмин. Тези двукомпонентни фибринови лепила са безценни при различни хирургични процедури, но могат да се отмиват преди настъпване на спиране на кръвотечението, ако кървенето е силно. Двукомпонентните фибринови лепила в допълнение изискват някои подготвителни стъпки, включващи топене или разтваряне. По този начин те са твърде непрактични и тромави за работа и е необходим опит за успешната употреба на тези лепила.

През последното десетилетие множество техники с фибринови лепила станаха предпочитани методи в хирургията при редица

показания. Обаче, в болшинството от случаите с фибринови лепила допълнително се прилага колагенов мъх за подобряване на спиране на кръвотечението и прилепващите качества, което показва техните недостатъци и ограничената им употреба от хирурзите.

Колагенът е употребяван като кръвоспиращ агент от края на шестдесетте. Колагенът е най-често срещащият се структурен белтък във всички бозайници. Мономерният белтък от около 300 kDa (тропоколаген) е ковалентно напречно свързан на специфични места. Зрелият белтък следователно, е неразтворим и образува характерни влакна с висока якост на скъсване. Описани са многобройни подкласове колаген, между които най-често срещащият се е колаген тип I, основният тип колаген на кожата, сухожилията, костите и роговицата. Колагенът е фибрилен белтък, състоящ се от тройна спирала с дължина от около 290 nm. Пет такива тройни спирали (тропоколагенови молекули), разположени зигзагообразно, образуват микрофибрила с диаметър от около 3.6 nm. Тези микрофибрили имат полярни и неполярни сегменти, които са лесно достъпни за специфични интер- и интраспецифични взаимодействия. Микрофибрилите се пакетират в тетрагонална решетка и образуват субфибрили с диаметър от около 30 nm. Тези субфибрили след това се опаковат в колагенова фибрила, основната единица на съединителната тъкан, която има диаметър от няколко стотин nm и следователно е видима със светлинен микроскоп като тънка линия, виж литературен източник 1. Колагеновият гел и колагеновата пореста маса, получавани при производствения процес, се състоят от такива фибрили като най-малки градивни елементи, както се доказва от микроскопирането.

Колагенът може да се използва като материал за затваряне на рани, възможно с покритие, характеризиращо се с това, че се състои от фибриново лепило. Фибриновите лепила, т.е. комбинация от фибриноген, тромбин и апротинин, успешно се прилагат за терапевтични цели от много години за залепяне на тъкан и нерви и за затваряне на повърхности, когато има малко кървене. Един недостатък на фибриновите лепила е, че в случай на обилно кървене лепилото обикновено се отмива преди да се извърши достатъчна полимеризация на фибрина. За преодоляване на проблема хирурзите ръчно прилагат течни фибринови лепила върху абсорбиращи носители, такива като колагенов мъх.

Независимо от забележителния успех на тези комбинирани приложения този метод все още не се прилага в голям мащаб поради някои недостатъци. Препаратът е относително обременителен, методът изисква опитен и умел персонал и препаратът не е лесно наличен при спешни случаи – времето за доставяне на препарата е 10 до 15 мин. Тези фактори стимулират разработването на подобрен продукт, като резултатът е получаването на фиксирана смес от колагенов носител, покрит с покритие от твърд фибриноген, твърд тромбин и твърд апротинин, като е описано в ЕР 0 059 265.

Функцията на колагеновия носител, представена в ЕР 0 059 265, е основно такава, че това е носител, който адсорбира и придава механична стабилност на коагулационния препарат, с който е покрит.

Разработен е един продукт, който комбинира кръвоспиращите характеристики на фибриновото лепило с качествата на колагена като носител, и се произвежда под търговската марка TachoComb®.

TachoComb® е готов за употреба и представлява лесно прилагаща се стабилна комбинация от колагенов пластир, покрит със следните активни компоненти на фибриново лепило: човешки фибриноген, говежди тромбин и говежди апротинин.

TachoComb® се продава от началото на 90те години на миналия век от Nycomed Pharma и е използван за клинични случаи в Европа при над 2500 пациенти. Продуктът допълнително е използван от над 700 пациента в Японската клинична програма при голямо разнообразие на случаи, като разрези на черен и бял дроб, хирургични операции на жлъчка, далак, бъбреци панкреас, УНГ хирургични намеси, гинекологични операции и съдова хирургия. Установено е, че TachoComb® е ефективен и безопасен.

Не са докладвани клинични усложнения, свързани с приложението на TachoComb®, по време на проведените клинични изпитания.

В WO97/37694 (Immuno France S.A.) в литературната справка е включен пример 4, при който когато се употребява колагенов продукт или TachoComb® не се наблюдава спиране на кръвотечението, водещо до кървене с летален изход при прилагане на TachoComb®, за разлика от спиране на кръвотечението в рамките на 5 минути, когато се приготви колагенов продукт без съдържание на тромбин, съгласно WO97/37694.

В WO96/40033 недостатъците на говеждия тромбин, използван в TachoComb® са показани с това, че употребата на тромбин от говежди или други източници може да доведе до сериозна вирусна зараза и възможно пренасяне на говежди заболявания, като напр. говеждия спонгиоформен енцефалит.

US 6,177,126 B1 включва устройство и процес за производство на материал за затваряне и зарастване на рани. Устройството се характеризира с това, че включва контейнер, който има в долната си част две перфорирани плочи, които са подвижни една спрямо друга, което позволява суспензията, съдържаща се в контейнера, да капе върху носителя, който преминава през контейнера под дъното му.

ОПИСАНИЕ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Обект на изобретението е осигуряване на подобрена суспензия, която е подходяща напр. за употреба като покритие на колагенов носител, с цел предоставяне на готов за употреба адсорбируем състав за залепяне на тъкан, затваряне на тъкан и спиране на кръвотечението. Изобретението допълнително се отнася до осигуряване на метод за получаване на такава суспензия. Допълнително изобретението се отнася и до предоставяне на подобрен метод за покриване на носител, като колагенов носител, със суспензия, съдържаща фибриноген и тромбин. Допълнителен обект на изобретението е осигуряване на метод за изсушаване на мокро покритие от суспензията, нанесена върху носител, с цел осигуряване на задоволително прикрепване на покритието към носителя. Допълнителен обект на изобретението е и осигуряване на покрита колагенова пореста маса с покритие от фибриноген и тромбин, което ефективно имитира последния етап на коагулационната каскада, при контакт на покритата колагенова пореста маса с кръв, телесни течности или физиологични солеви разтвори. Изобретението допълнително се отнася е до осигуряване на покрита колагенова пореста маса с горепосоченото покритие, която показва достатъчно прикрепване на покритието към

колагеновата пореста маса, т.е. задоволително ниска абразия на покритието, при подлагане на механичен натиск.

В първия си аспект изобретението осигурява суспензия, състояща се от фибриноген, тромбин и алкохол, получена по метод, характеризиращ се с това, че включва:
осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на суспензия, като суспензията съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm, като 35 – 80 μm, като 40 – 78 μm, като 40 – 75 μm, като 45 – 60 μm, като 47 – 55 μm, или като 60 – 100 μm, като 60 – 80 μm, като 65 – 75 μm, за предпочитане в границите на ±5 μm, като ± 4 μm, като ± 3.5 μm, като ± 2 μm, като ± 1.5 μm, като ± 1 μm, като ± 0.8 μm, като ± 0.6 μm, като ± 0.5 μm. Установено е, че такава суспензия, когато с нея се покрие носител, като колагенов носител, е ефикасна като готов за употреба адсорбируем състав за залепяне на тъкан, затваряне на тъкан и спиране на кръвотечение. Суспензията незадължително може да съдържа апротинин, добавен към фибриногенната смес като концентриран воден разтвор. Може да се добави и рибофлавин като оцветител, така че суспензията да бъде лесно идентифицируема, когато се постави върху носителя и изсуши.

Благодарение на физическите качества на суспензията, особено на седиментационното поведение на доста големите частици в алкохол, не е възможно стандартно измерване на вискозитета на течността на суспензията. Поради тази причина се прилага алтернативен метод за осигуряване на измерване на вискозитета. По този начин

суспензията може да има вискозитет такъв, че обем от 90 – 120 ml от суспензията, когато се повлиява само от гравитацията, излиза от долния отвор на контейнера, притежаващ:

- цилиндрична част с вътрешен диаметър от 40 – 50 mm и вътрешна височина от 55 – 65 mm и
- конична дънна част с височина 17 – 23 mm, която има кръгъл отвор на дъното в най-долния край на коничната част с диаметър от 2 – 3 mm,

за 25 – 75 секунди.

В случай, че контейнерът е направен от стомана, контейнерът и отворът имат следните размери:

- вътрешен диаметър на цилиндричната част: 46 mm,
- вътрешна височина на цилиндричната част: 60 mm,
- вътрешна височина на коничното дъно: 20.5 mm,
- вътрешен диаметър на отвора на дъното: 2.6 mm,
- дължина на прехода, прикрепен към отвора на дъното: 9 mm или

в случай, че контейнерът е направен от пластмаса, контейнерът и отворът имат следните размери:

- вътрешен диаметър на цилиндричната част: 50 mm,
- вътрешна височина на цилиндричната част: 41 mm,
- вътрешна височина на коничното дъно: 24 mm,
- вътрешен диаметър на отвора на дъното: 2.5 mm,
- дължина на прехода, прикрепен към отвора на дъното: по-малко от 5 mm

като гореспоменатата време за излизане на суспензията може да бъде 25 – 50 секунди, като 30 – 50 секунди, като 32 – 44 секунди, като 34 – 48 секунди.

Параметрите и характеристиките на суспензията, приложени по-долу във връзка с метода по втория аспект на изобретението, също важат и за суспензията по първия аспект на изобретението.

Във втори аспект изобретението осигурява метод за изготвяне на суспензия с фибриноген и тромбин, характеризиращ се с това, че включва:

- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия

като получената суспензия съдържа фибриногенови и тромбинови частици със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm. Параметрите и характеристиките, приложени по-горе във връзка с метода по първия аспект на изобретението, също важат и за метода по втория аспект на изобретението.

На етапа на осигуряване на фибриногенната смес, фибриногенът може да бъде предварително раздробен чрез подходящ метод, напр. пресяване, за получаване на частици със среден диаметър по Folk Ward 25 – 100 μm. Раздробеният фибриноген може например, да бъде разтворен в алкохол за получаване на въпросната фибриногенна смес. На стъпката на осигуряване на сместа, фибриногенът може да бъде също така директно хомогенизиран в алкохол, за предпочитане при температури между 0°C и 12°C, като напр. 2°C и 8°C. Температурата може да се понижава по време на хомогенизирането. Стъпката на смесване на фибриногенната смес и на тромбиновата смес може да се проведе с разбъркване на суспензията, като разбъркването може да се проведе при температури между 0°C и 12°C, като напр. 2°C и 8°C.

Тромбинът може да бъде човешки тромбин, говежди тромбин или рекомбинантен тромбин и фибриногенът може да бъде човешки фибриноген или рекомбинантен фибриноген. Алкохолът може да бъде органичен алкохол, като метанол, етанол, пропанол, изопропанол, като напр. анхидриран органичен алкохол, анхидриран етанол, анхидриран пропанол или анхидриран изопропанол. Човешкият фибриноген може да се достави в твърда лиофилизирана форма.

В трети аспект изобретението предоставя метод за покриване на носител със суспензия, състояща се от фибриноген и тромбин, характеризиращ се с това, че суспензията е получена по метод, включващ стъпките:

- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия

като получената суспензия съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm,

като методът на покриване се състои от

- осигуряване на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол в място близо до носителя,
- поставяне на въпросната суспензия върху покриващата повърхност на носителя.

Носителят може да бъде колагенов носител, като напр. колагенова пореста маса. Колагеновата пореста маса може да отговаря на поне един и за предпочитане на болшинството от следните критерии:

- pH стойност между 5.0 и 6.0,
- съдържание на млечна киселина най-много 5 %,
- съдържание на амоняк най-много 0.5 %,
- съдържание на разтворим белтък, изчислено като съдържание на албумин, най-много 0.5 %,
- съдържание на сулфатна пепел най-много 1.0 %,
- съдържание на тежки метали най-много 20 ppm,
- микробиологична чистота, най-много 10^3 CFU/g,
- съдържание на колаген от 75 % до 100 %,
- плътност от 1- 10 mg/cm^3,
- коефициент на еластичност в обхвата на 5 – 100 N/cm.

Колагеновата пореста маса може да се получи по метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- изготвяне на колагеновия гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсущаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm.

В настоящия контекст терминът "диаметър на камерата" трябва да се подразбира като най-дългото по права линия разстояние от стена до стена в камерата, т.е. като най-дългото по права линия диагонално разстояние в камерата. Камерата може да бъде с полигонална форма, напр. с октогонална форма. Беше установено, че диаметър на камерата по-голям от 0.75 mm и по-малък от 4 mm или диаметър на камерата от 3 mm прави колагеновата пореста маса

особено подходяща да бъде покрита със суспензия, съдържаща фибриноген и тромбин. Беше установено също така, че покритата колагенова пореста маса, изготвена съгласно горепосочения метод, е непропусклива за въздух и течности в смисъл, че веднъж приложена покритата колагенова пореста маса към раната, тя не позволява на въздух или течност да преминават през колагеновата пореста маса.

Стъпката на прилагане на суспензията върху носителя може да се извърши при стайна температура от 0° – 12°C, като напр. 1° – 10°C, като напр. 2° – 8°C. Допълнително стъпката на прилагане на суспензия върху носителя може да се проведе в нормална атмосфера с относителна влажност от 75 – 99 %, като напр. 85 – 95 %. Обем от 0.08 ml – 0.12 ml от суспензията за предпочитане се прилага върху носителя за cm^2 от покриващата повърхност. За осигуряване на равномерност в ефикасността на крайния покрит носител по продължение на цялата му повърхност, суспензията за предпочитане се разпределя равномерно по дадена дължина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25 %, напр. най-много с 20 %, напр. най-много с 15 %, напр. най-много с 10 %.

Може да се използва апликатор, най-малко с един кран, за полагане на суспензията върху носителя, като суспензията се изтласква през едноструйния отвор докато носителят и крана се движат един спрямо друг. Апликаторът може да представлява или да бъде поставен близо до конвейерен ремък, едно устройство за разбъркване, свързано с помпа или система от помпи към друг подхранващ апарат и кран или система от кранове, които се движат срещуположно, напр. под прав ъгъл към конвейерния ремък. В зависимост от специфичните характеристики на средата кранът или

системата от кранове може да има разнообразни форми и размери. Кранът или системата от кранове могат да бъдат свързани към зареждащото оборудване чрез тръби. Зареждащото оборудване може да подпомогне преминаването на покриващата среда от разбъркващото устройство към системата от кранове. По време на процеса на покриване системата от кранове може да се движи през носителя. В позиция на изчакване той може да се задържа от едната страна на конвейерната линия. Процесът на покриване може да се инициира чрез светлинна бариера, сензорно регистрираща наличието на носител в конвейерната линия и може по подобен начин да се спре чрез сигнал на светлинната бариера. Такъв апликатор притежава относително малък мъртъв обем и е лесен за манипулиране, включително лесен за почистване. Нещо повече, той притежава способността да прекъсва покриването по всяко време, приложим е в относително широк обхват на вискозитети и осигурява равномерно покритие.

Алтернативно, или в допълнение може да се използва апликатор, представляващ контейнер с множество отделни изходи, за полагане на суспензията върху носителя, характеризиращ се с това, че суспензията се изтласква със сила от контейнера през изходите върху носителя. Последният тип апликатор под формата на контейнер, притежаващ подвижни плочи на дъното си, е представен в US патент No 6,177,126 B1, включен тук като литературен източник. Благодарение на равномерното разпределение, осигурено от устройствата, съгласно US 6,177,126 B1, едно от тези устройства се прилага в предпочитан вариант на изобретението. Носителят и апликаторът за предпочитане се движат един спрямо друг в посока на преноса на суспензията, докато последната се полага върху носителя, като скоростта на движение може да бъде 0.025 m/s - 0.05

m/s, като напр. 0.03 – 0.04 m/s. Потокът на суспензията, приложена върху носителя през апликатора може да бъде 400 – 600 ml/min, като напр. 470 - 550 ml/min, като напр. 495 – 505 ml/min.

В четвърти аспект изобретението се отнася до метод за изсушаване на суспензията от фибриноген, тромбин и алкохол, приложена като мокро покритие върху покриващата повърхност на носителя, като методът се характеризира с това, че включва стъпка на подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност. Чрез прилагане на вакуум и използване на вакуум в процеса на изсушаване, могат да се поддържат ниска температура (2 – 10°C) и висока относителна влажност (80 – 95 %), като структурата и физическите качества на носителя, по-специално на носителя под формата на колагенова пяна, като напр. колагенова пореста маса, както и тези на фибриногена и тромбина, могат да се поддържат.

Суспензията може да се получи чрез:
- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия,

и носителят може да е колагенова пореста маса, получена по метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:
- изготвяне на колагеновия гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,

- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,

и покритието може да се приложи върху колагеновата пореста маса чрез:

- осигуряване на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол в място, близо до колагеновата пореста маса,
- полагане на суспензията върху покриващата повърхност на колагеновата пореста маса.

Методите за изготвяне на колагеновата пореста маса и за изготвяне на суспензията са обсъдени по-горе във връзка с методите по втория и трети аспекти на изобретението.

По време на изсушаването покритият носител може да се подложи на въпросното налягане при температура от 0°C – 12°C, като напр. 1°C – 10°C, като напр. 2°C – 8°C, и/или относителна влажност на заобикалящата го атмосфера от 75 – 99 %, като напр. 85 – 95 %. През покритият носител може да преминава поток от въздух по време на изсушаването, така че да отстранява парата от покрития носител.

С цел да завърши сушенето покритият носител за предпочитане се съхранява при въпросните условия за период от най-малко 1 час, като напр. най-малко 2 часа, като напр. най-малко 4 часа.

Поради свиване площта на изсушената покрита повърхност е по-малка от размера на площта на мократа покриваща повърхност В метода, съгласно изобретението, площта на изсушената покриваща повърхност е най-малко 75 % от размера на площта на мократа покриваща повърхност, като напр. 80 %.

С цел да се запазят активните компоненти стабилни при съхранение на покрития носител, носителят и изсушената покриваща повърхност заедно за предпочитане трябва да имат водно съдържание не повече от 12 % от теглото, като напр. не надвишаващо 8 % от теглото.

Всички параметри и характеристики на суспензията и на колагеновата пореста маса, включените тук методи на производство, обсъдени в контекста на други аспекти на изобретението, важат също и за четвъртия аспект на изобретението.

В пети контекст изобретението се отнася до покрита колагенова пореста маса с покритие от фибриноген и тромбин, като покритата колагенова пореста маса е получена чрез метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- осигуряване на колагенова пореста маса чрез метод, включващ:
- изготвяне на колагеновия гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,
- прилагане на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол върху покриваща повърхност на колагенова пореста маса и
- подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност, като покритата колагенова пореста маса има най-малко едно от следните качества:

- суспензията се разпределя равномерно по дадена ширина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25%,
- абразията на покритието е по-малка от 2.0 mg/cm^2, когато проба от покриващия материал се разтърси на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

Равномерното разпределение на суспензията върху покриващата повърхност подобрява ефикасността на покриващата повърхност, когато се прилага напр. за залепяне на тъкан, затваряне на тъкан или спиране на кръвотечение. Ниската абразия на покритието осигурява транспортирането на покритата колагенова пореста маса, манипулирането в ръцете на хирурга и/или от хирургически инструмент или манипулирането по който и да е друг начин без загуба на сухата суспензия, т.е. на покритието. Фибриногенната смес маже да представлява между 60 – 90 % от общото тегло на покритата колагенова пореста маса. Съставът обикновено съдържа около 50 – 60 % от теглото на следните субстанции: соли, аминокиселини и албумин. Самият фибриноген обикновено представлява 40 – 50 % от състава.

Суспензията за предпочитане притежава водно съдържание от 20 – 80 mg/ml, като напр. 24 - 32 mg/ml. Тромбиновото съдържание на суспензията може да бъде 20 – 40 I.U./ml, като напр. 24 – 33 I.U./ml. Средно, тромбиновото съдържание след покриването може да бъде 2 – 4 I.U./cm^2 в покриващата повърхност, като напр. 2.3 – 3.3 I.U./cm^2. може да е желателно тромбиновото съдържание да не надвишава 5 I.U./cm^2 в което и да е място от покриващата повърхност или да не

надвишава 3.8 I.U./cm^2 в което и да е място от покриващата повърхност.

Микробиологичната чистота на покрития носител за предпочитане е най-много 4 CFU/cm^2, като напр. 2.25 CFU/cm^2.

В допълнителен, независим аспект на изобретението, то се отнася до употреба на горепосочената покрита колагенова пореста маса за залепяне на тъкан, затваряне на тъкан и спиране на кръвотечение.

КРАТКО ОПИСАНИЕ НА ФИГУРИТЕ

Фигури 1 – 7 представят различни покрити носители и инструменти за прилагането им, както е описано в Пример VIII.

Фигура 8 е диаграма, илюстрираща верига от под-процеси за производство на суспензия за пакетиране на покрита колагенова пореста маса,

Фигура 9 е илюстрация на устройства, използвани за получаване на мярка за вискозитета на суспензията,

Фигури 10 и 11 съдържат диаграми, илюстриращи процеса на получаване на колагенова пореста маса.

ДЕТАЙЛНО ОПИСАНИЕ НА ФИГУРИТЕ

Предпочитани варианти на методите и продуктите, съгласно настоящето изобретение, са приложени по-долу, виж също Фиг. 8.

Суспензия, съдържаща фибриноген, тромбин и алкохол може да бъде произвеждана по метода за производство на суспензия, съгласно изобретението, както следва:

Фибриногенът се хомогенизира в 100 % етанол при 2 – 8°C, което води до получаване на смес от фибриноген и алкохол, като сместа представлява приблизително 80 % от обема на крайната суспензия. След това се добавя рибофлавин. Сместа се разбърква в затворен съд до последваща обработка.

Човешки или говежди тромбин се разтварят с вода за впръскване. Разтворът де добавя към 35 кратно количество от 100 % етанол при 0 – 8°C. Така получената тромбинова суспензия се хомогенизира при 0 – 8°C за 80 – 100 секунди.

Преди смесване на фибриногенната и тромбинова смеси към фибриногенната смес се добавят разтвор на апротинин и вода за впръскване. Крайният обем на суспензията се довежда чрез добавяне на 100 % етанол при 2 – 8°C.

Методи, включващи горепосочените стъпки, ще се наричат от тук нататък "методи от група I".

Като алтернатива, метод за производство на суспензия, съгласно изобретението, съдържаща фибриноген, тромбин и алкохол, се характеризира с това, че включва следните стъпки:

Фибриногенната смес се получава чрез добавяне на предварително раздробен фибриноген на частици със среден размер на диаметъра по Folk Ward 35 – 80 μm и рибофлавин, при разбъркване във 94 – 97% етанол при 2 – 8°C. Така получената смес от рибофлавин и етанол представлява около 70 – 80 % от крайния обем на суспензията. Фибриногенната смес допълнително се разбърква в затворен съд до по-нататъшна обработка.

Тромбиновата смес се получава чрез добавяне на тромбин към 94 – 97 % етанол при -30°C. Така получената тромбинова смес се хомогенизира за 80 – 100 секунди. Алтернативно, тромбиновата смес се получава чрез разтваряне на тромбина във вода за впръскване и след това така полученият разтвор на тромбин бавно се добавя към 17 – 35 кратно количество от 100 % етанол при -30°C. Суспензията се хомогенизира за 80 – 100 секунди.

Може да се използва оборудване UltraTurrax от IKA за хомогенизиране.

Тромбиновата смес се добавя към сместа, съдържаща фибриноген и рибофлавин. Добавя се 94 – 97 % етанол при 2 – 8°C.

Методи, включващи гореописаните стъпки, се наричат от тук нататък "методи от група II".

Горепосочените методи от група I и II могат да доведат до получаване на суспензия, съгласно изобретението, за предпочитане със следните характеристики:

- Концентрация на етанол: 94 – 97 %
- Време на излизане, измерено с апарат, показан в ляво на фиг. 9: 31.5 – 48 секунди
- Седиментационното поведение: обем от твърди частици като процент от тоталния обем:
  5 минути след началото на теста: повече от 85 %
  24 часа след началото на теста: 50 – 80 %
- Размер на частиците: среден диаметър по Folk Ward 35 – 80 μm.

В един вариант на метода за изсушаване, съгласно изобретението, ивици от колагенова пореста маса се инкубират при 2 – 8°C и относителна влажност 80 – 91 % за 2 – 30 часа преди покриване на носителя под формата на колагенова пореста маса. Апликаторът за

полагане на суспензията върху колагеновата пореста маса е описан по-горе. Веднъж покрити ивиците от колагенова пореста маса се инкубират при 2 – 8°C и относителна влажност 80 – 90 % за 8 – 60 минути. Ивиците от покрита колагенова пореста маса се изсушават във вакуум сушилня при температура на въздуха от 2 – 8°C и относителна влажност 80 – 90 %. Въздушният поток се прекарва през колагеновите ивици чрез аспирационна клапа при скорост на поток от 1.2 - 40 m^3 за час. Прилага се вакуум от 30 – 60 mbar, т.е. абсолютно налягане от около 970 mbar, в зависимост от атмосферното налягане и ивиците от покрита колагенова пореста маса се изсушават за 2 – 5 часа.

Мярка за вискозитета на суспензията се получава с използването на устройствата, посочени на фигура 9 и както са описани по-горе. Устройството, посочено в ляво на фигура 9 е направено от стомана и контейнерът и отвора на дъното има следните размери:

- вътрешен диаметър на цилиндричната част: 46 mm,
- вътрешна височина на цилиндричната част: 60 mm,
- вътрешна височина на коничното дъно: 20.5 mm,
- вътрешен диаметър на отвора на дъното: 2.6 mm,
- дължина на прехода, прикрепен към отвора на дъното: 9 mm.

Устройството, посочено в дясно на фигура 9 е направено от пластмаса и контейнерът и отворът на дъното имат следните размери:

- вътрешен диаметър на цилиндричната част: 50 mm,
- вътрешна височина на цилиндричната част: 41 mm,
- вътрешна височина на коничното дъно: 24 mm,
- вътрешен диаметър на отвора на дъното: 2.5 mm,

- дължина на прехода, прикрепен към отвора на дъното: по-малко от 5 mm.

Сурови източници на фибриноген

Компонент	% от общата съставка		
	Състав А	Състав Б	Състав В
Човешки фибриноген	36-52	42-47	36-52
Човешки албумин	16-24	20-24	16-24
Общ белтък	52-76	62-71	52-76
Натриев хлорид	8-14	0	8-14
Тринатриев цитрат	2-4	1-3	2-4
Аргинин (хидрохлорид)	15-26	15-21	15-26
Глицин	0	6-9	1-2
Хистидин	0	3-5	0
Захароза	0	0	1-2
Остатъчна влажност	<= 2	2-4	<= 1.5

Сурови източници на тромбин

Смес	Активност	Остатъчна влажност	Добавка на допълнителни съставки
Човешки тромбин А	360-540	<=3%	Човешки албумин, натриев хлорид, натриев цитрат
Човешки тромбин Б	7-10	<=3%	Човешки албумин, натриев хлорид, натриев цитрат

Човешки тромбин В	35-60	<=3%	Човешки албумин, натриев хлорид, натриев ацетат, глицин

Примерите I – VI, представено по-долу илюстрират различни процедури за изготвяне на покрита колагенова пореста маса с покритие от фибриноген и тромбин, съгласно изобретението. Процедурите включват методи за изготвяне на суспензия, съгласно изобретението, резултатът от които е представен по-долу, в суспензии, съгласно изобретението. Допълнително, приложени са методите за покриване, съгласно изобретението и методите за изсушаване, съгласно изобретението.

ПРИМЕР I

В настоящия пример суспензията съдържа човешки фибриноген, състав Б и човешки тромбин, състав Б.

Получава се суспензия с краен обем 3500 ml чрез метод от група II с прилагане на следните количества и параметри:

Фирбиногенна смес:

- 2800 ml етанол (94 % при 2°C – 8°C)
- 492.5 g човешки фирбиноген, състав Б
- 493.5 mg рибофлавин

Фибриногенната смес се съхранява за 20 часа при 2 – 8°C при разбъркване.

Тромбинова смес:

- 100 ml етанол (100 % при -30°C)
- 12.27 g човешки тромбин, състав Б

Тромбиновата смес се съхранява за 18 часа при -30°C.

Суспензия:

- 157 ml от тромбиновата смес се добавят към фибриногенната смес.
- 94 % етанол при 2 – 8°C се добавя за довеждане на обема на суспензията до 3500 ml.

Характеристики на суспензията:

1. Концентрация на етанол: 94.3 %
2. Време на излизане, измерено със стоманения апарат, показан в ляво на фиг. 9: 36.5 секунди
3. Седиментационно поведение:

а) седиментационен обем 5 мин след началото: 98 % от тест обема,

б) седиментационен обем 24 часа след началото: 64 % от тест обема.

4. Размер на частиците (среден диаметър по Folk Ward): 56.4 $\pm$ 1.3 μm.

Носителите под формата на колагенови ивици се покриват със суспензия. Първо, 48 ивици от колагенова пореста маса предварително се инкубират в охладителна камера при следните условия:

- Температура: 5.2°C
- Абсолютна влажност: 4.8 g вода за kg въздух
- Време на инкубиране: 18.5 часа

Използва се апликатор, съгласно US патент No 6,177,126 B1 за покриване на ивиците от колагенова пореста маса със суспензията.

Покритите ивици от колагенова пореста маса се изсушават както следва:

Покритите ивици се инкубират за 15 минути при температура от 5.2°C и абсолютна влажност от 4.8 g вода на kg въздух.

Покритите ивици след това се изсушават във вакуумна сушилня при следните условия на изсушаване:

- Овлажняване: температура 5.2°C, абсолютна влажност от 4.8 g вода на kg въздух
- Въздушен поток през аспирационната клапа: 23 m^3 на час
- Вакуум: 59 mbar
- Време на изсушаване: 4 часа

Абразията на полученото покритие от ивици колагенова пореста маса е приблизително 0.2 mg/cm^2, при разтърсване в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

ПРИМЕР II

В настоящия пример суспензията съдържа човешки фибриноген, състав В и човешки тромбин, състав В.

Получава се суспензия с краен обем 3500 ml по метод от група II, чрез прилагане на следните количества и параметри:

Фирбиногенна смес:

- 2252 ml етанол (94 % при 2°C – 8°C)
- 370.7 g раздробен човешки фирбиноген, състав В
- 493.5 mg рибофлавин

Фибриногенната смес се съхранява за 20 часа при 2 – 8°C при разбъркване.

Тромбинова смес:

- 188 ml етанол (100 % при -30°C)
- 12 ампули човешки тромбин, състав В/12 ml вода за впръскване.

Тромбиновата смес се съхранява за 18 часа при -30°C.

Суспензия:

- 164.5 ml от тромбиновата смес се добавят към фибриногенната смес.
- 94 % етанол при 2 – 8°C се добавя за довеждане на обема на суспензията до 3500 ml.

Характеристики на суспензията:

1. Концентрация на етанол: 94.1 %
2. Време на излизане, измерено със стоманения апарат, показан в ляво на Фиг. : 32.8 секунди
3. Седиментационно поведение:

а) седиментационен обем 5 мин след началото: 94 % от тест обема,

б) седиментационен обем 24 часа след началото: 71 % от тест обема.

4. Размер на частиците (среден диаметър по Folk Ward): 49.2 $\pm$ 0.93 μm.

Носителите под формата на колагенови ивици се покриват със суспензия. Първо, 48 ивици от колагенова пореста маса предварително се инкубират в охладителна камера при следните условия:

- Температура: 4.8°C
- Относителна влажност: 90.3 %
- Време на инкубиране: 22.25 часа

Използва се апликатор, съгласно US патент No 6,177,126 B1 за покриване на ивиците от колагенова пореста маса със суспензията.

Покритите ивици от колагенова пореста маса се изсушават както следва:

Покритите ивици се инкубират за 13 минути при температура от 4.9°C и абсолютна влажност от 4.8 g вода на kg въздух.

Покритите ивици след това се изсушават във вакуумна сушилня при следните условия на изсушаване:

- Овлажняване: температура 5.2°C, абсолютна влажност от 4.9 g вода на kg въздух
- Въздушен поток през аспирационната клапа: 25 m^3 на час
- Вакуум: 60 mbar
- Време на изсушаване: 4 часа

Абразията на полученото покритие върху колагеновата пореста маса е приблизително 0.2 mg/cm^2 при разтърсване в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

ПРИМЕР III

В настоящия пример суспензията съдържа човешки фибриноген, състав Б и човешки тромбин, състав Б и апротинин.

Получава се суспензия с краен обем 1000 ml по метод от група II, чрез прилагане на следните количества и параметри:

Фирбиногенна смес:

- 820 ml етанол (100 % при 2°C – 8°C), 39.4 ml вода за впръскване и 10.6 ml апротинин
- 90.67 g раздробен човешки фирбиноген, състав Б
- 141 mg рибофлавин

Фибриногенната смес се съхранява за 20 часа при 2 – 8°C при разбъркване.

Тромбинова смес:

- 50 ml етанол (100 % при -30°C)

- 3.75 g човешки тромбин, състав Б

Тромбиновата смес се съхранява за 20 часа при -30°C.

Суспензия:

Крайният обем на тромбиновата смес се добавя към фибриногенната смес. 100 % етанол при 2 – 8°C се добавя за довеждане на крайния обем на суспензията до 1000 ml.

Характеристики на суспензията:

1. Концентрация на етанол: 95 %
2. Време на излизане, измерено със стоманения апарат, показан в ляво на Фиг. 9: 35 секунди
3. Седиментационно поведение:

а) седиментационен обем 5 мин след началото: 89 % от тест обема,

б) седиментационен обем 24 часа след началото: 76 % от тест обема.

4. Размер на частиците (среден диаметър по Folk Ward): 74.4 $\pm$ 3.5μm.

Носителите под формата на колагенови ивици се покриват със суспензия. Първо, 16 ивици от колагенова пореста маса предварително се инкубират в охладителна камера при следните условия:

- Температура: 5.0°C
- Относителна влажност: 85 %
- Време на инкубиране: 17 часа

Използва се апликатор, съгласно US патент No 6,177,126 B1 за покриване на ивиците от колагенова пореста маса със суспензията.

Покритите ивици от колагенова пореста маса се изсушават както следва:

Покритите ивици се инкубират за 35 минути при температура от 5°C и относителна влажност 85 %.

Покритите ивици след това се изсушават във вакуумна сушилня при следните условия на изсушаване:

- Овлажняване: температура 5°C, относителна влажност 85 %
- Въздушен поток през аспирационната клапа: 1.2 m^3 на час
- Вакуум: 35 mbar
- Време на изсушаване: 4 часа

Абразията на полученото покритие върху колагеновата пореста маса е приблизително 0.2 mg/cm^2, при разтърсване на проба 1 x 5 cm^2 в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

ПРИМЕР IV

В настоящия пример суспензията съдържа човешки фибриноген, състав В и човешки тромбин, състав В.

Получава се суспензия с краен обем 780 ml по метод от група II чрез прилагане на следните количества и параметри:

Фирбиногенна смес:

- 700 ml етанол (94 % при 2°C – 8°C)
- 84.42 g човешки фирбиноген, състав В
- 110 mg рибофлавин

Фибриногенната смес се съхранява за 20 часа при 2 – 8°C при разбъркване.

Тромбинова смес:

- 35 ml етанол (100 % при -30°C)
- 0.54 g човешки тромбин, състав В

Тромбиновата смес се съхранява за 16 часа при -30°C.

Суспензия:

- 23.0 ml от тромбиновата смес се добавят към фибриногенната смес.
- 100 % етанол при 2 – 8°C се добавя за довеждане на обема на суспензията до 780 ml.

Характеристики на суспензията:

1. Концентрация на етанол: 94 %
2. Време на излизане, измерено със стоманения апарат, показан в ляво на Фиг. 9: 33.5 секунди
3. Седиментационно поведение:

а) седиментационен обем 5 мин след началото: 92 % от тест обема,

б) седиментационен обем 24 часа след началото: 72 % от тест обема.

4. Размер на частиците (среден диаметър по Folk Ward): 60.5 $\pm$ 0.5 μm.

Носителите под формата на колагенови ивици се покриват със суспензия. Първо, 8 ивици от колагенова пореста маса предварително се инкубират в охладителна камера при следните условия:

- Температура: 6.0°C
- Относителна влажност: 85 %
- Време на инкубиране: 18.5 часа

Използва се апликатор, съгласно US патент No 6,177,126 B1 за покриване на ивиците от колагенова пореста маса със суспензията.

Покритите ивици от колагенова пореста маса се изсушават както следва:

Покритите ивици се инкубират за 45 минути при температура от 5°C и относителна влажност от 85 %.

Покритите ивици след това се изсушават във вакуумна сушилня при следните условия на изсушаване:

- Овлажняване: температура 5°C, относителна влажност от 85 %.
- Въздушен поток през аспирационната клапа: 1.2 m^3 на час
- Вакуум: 35 mbar
- Време на изсушаване: 4 часа

Абразията на полученото покритие върху колагеновата пореста маса е приблизително 0.2 mg/cm^2 при разтърсване на проба 1 x 5 cm^2 в тест епруветка шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

ПРИМЕР V

В настоящия пример суспензията съдържа човешки фибриноген, състав А и човешки тромбин, състав А.

Получава се суспензия с краен обем 3120 ml по метод от група I чрез прилагане на следните количества и параметри:

Фирбиногенна смес:

- 2540 ml етанол (100 % при 2°C – 8°C)
- 311.6 g човешки фирбиноген, състав А
- 440 mg рибофлавин

Фибриногенната смес се съхранява за 18 часа при 2 – 8°C при разбъркване.

Тромбинова смес:

- 210 ml етанол (100 % при -30°C)
- 229 g човешки тромбин, състав А

Тромбиновата смес се съхранява за 8 – 16 часа при -30°C.

Суспензия:

- 87.3 ml вода за впръскване се добавя към фибриногеновата смес.

Тромбиновата смес се добавя към фибриногеновата смес.

Добавят се и 100 % етанол при 2 – 8°C за довеждане до обема на крайната суспензия

Характеристики на суспензията:

1. Концентрация на етанол: 97 %
2. Време на излизане, измерено със стоманения апарат, показан в ляво на Фиг. 9: 33.5 секунди
3. Седиментационно поведение:

а) седиментационен обем 5 мин след началото: 95.6 % от тест обема,

б) седиментационен обем 24 часа след началото: 63.5 % от тест обема.

4. Размер на частиците (среден диаметър по Folk Ward): 51.8 $\pm$ 0.8μm.

Носителите под формата на колагенови ивици се покриват със суспензия. Първо, 48 ивици от колагенова пореста маса предварително се инкубират в охладителна камера при следните условия:

- Температура: 6.5°C
- Относителна влажност: 90 %
- Време на инкубиране: 22.5 часа

Използва се апликатор, съгласно US патент No 6,177,126 B1 за покриване на ивиците от колагенова пореста маса със суспензията.

Покритите ивици от колагенова пореста маса се изсушават както следва:

Покритите ивици се инкубират за 10 минути при температура от 6.5°C и относителна влажност от 90 %.

Покритите ивици след това се изсушават във вакуумна сушилня при следните условия на изсушаване:

- Овлажняване: температура 6.5°C, относителна влажност от 90 %.
- Въздушен поток през аспирационната клапа: 21 m^3 на час
- Вакуум: 58 mbar
- Време на изсушаване: 4 часа

Абразията на полученото покритие върху колагеновата пореста маса е приблизително 0.1 mg/cm^2 при разтърсване на проба 1 x 5 cm^2 в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

ПРИМЕР VI

В настоящия пример суспензията съдържа човешки фибриноген, състав А и говежди тромбин и апротинин.

Получава се суспензия с краен обем 16720 ml по метод от група I чрез прилагане на следните количества и параметри:

Фирбиногенна смес:

- 13600 ml етанол (100 % при 2°C – 8°C)
- 1750.5 g човешки фирбиноген, състав А
- 2361 mg рибофлавин

Фибриногенната смес се съхранява за 21 часа при 2 – 8°C при разбъркване.

Тромбинова смес:

- 420 ml етанол (100 % при -30°C)
- 1229 g говежди тромбин

Суспензия:

- 162.3 ml разтвор на апротинин се добавя към фибриногенната смес.
- 304.7 ml вода за впръскване се добавя към фибриногенната смес.

Тромбиновата смес се добавя към фибриногеновата смес.

- Добавят се и 100 % етанол при 2 – 8°C за довеждане до обема на крайната суспензия

Характеристики на суспензията:

1. Концентрация на етанол: 97 %
2. Време на излизане, измерено със стоманения апарат, показан в ляво на Фиг. 9: 36.8 секунди
3. Размер на частиците (среден диаметър по Folk Ward): 58.6 $\pm$ 0.6 μm.

Носителите под формата на колагенови ивици се покриват със суспензия. Първо, 288 ивици от колагенова пореста маса предварително се инкубират в охладителна камера при следните условия:

- Температура: 6.5°C
- Относителна влажност: 89 %
- Време на инкубиране: 25 часа

Използва се апликатор, съгласно US патент No 6,177,126 B1 за покриване на ивиците от колагенова пореста маса със суспензията.

Покритите ивици от колагенова пореста маса се изсушават както следва:

Покритите ивици се инкубират за 10 минути при температура от 6.5°C и относителна влажност от 89 %.

Покритите ивици след това се изсушават във вакуумна сушилня при следните условия на изсушаване:

- Овлажняване: температура 6.5°C, относителна влажност от 89 %.
- Въздушен поток през аспирационната клапа: 22.5 m^3 на час
- Вакуум: 59 mbar
- Време на изсушаване: 4 часа

Абразията на полученото покритие върху колагеновата пореста маса е приблизително 0.1 mg/cm^2 при разтърсване на проба 1 x 5 cm^2 в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

Пример VII

В покрита колагенова пореста маса, съдържаща човешки фибриноген, говежди тромбин и апротинин, беше изследвана стабилността на покриващата суспензия в продължение на 7 часов процес на покриване при условия на околната среда на производствените помещения, напр. 2 – 8°C:

Всяка активна съставка беше изследвана при различни времена на взимане на пробата. Резултатите са показани в Таблица 1 по-долу.

	Човешки фибриноген (mg/ml)	Говежди фибриноген (I.U./ml)	Апротинин (Ph.Eur.U./ml)
В началото на покриването	50.0	21.8	0.59
След 4.5 часа	49.7	23.3	0.59

След 7 часа (край на процеса на покриване)	49.1	20.4	0.56

Таблица 1

Резултатите показват задоволителна стабилност и за трите компонента.

Пример VIII

Препратка към фигури 1 – 7, като отделните фигури показват:

Фигура 1
1.1 Opraskin®: не-покрит/покрит
1.2 Покрит Opraskin®: вкарване в ендоскопично оборудване
1.3 Покрит Opraskin: разгънат след вкарването в ендоскопичния прибор.
Фигура 2
2.1 Willospon® forte: не-покрит/покрит
2.2 Покрит Willospon® forte: вкарване в ендоскопично оборудване
2.3 Покрит Willospon® forte: разгънат след вкарването в ендоскопичния прибор.
Фигура 3
3.1 Willospon® Spezial: не-покрит/покрит
3.2 Покрит Willospon® Spezial: вкарване в ендоскопично оборудване
3.3 Покрит Willospon® Spezial: разгънат след вкарването в ендоскопичния прибор.
Фигура 4
4.1 Ethisorb® Patch: не-покрит/покрит

4.2 Покрит Ethisorb® Patch: вкарване в ендоскопично оборудване
4.3 Покрит Ethisorb® Patch: разгънат след вкарването в ендоскопичния прибор.
Фигура 5
5.1 Tabotamp® NU Knit: не-покрит/покрит
5.2 Покрит Tabotamp® NU Knit: вкарване в ендоскопично оборудване
5.3 Покрит Tabotamp® NU Knit: разгънат след вкарването в ендоскопичния прибор.
Фигура 6
6.1. Пореста маса Nycomed: не-покрита/покрита
6.2 Покрита пореста маса Nycomed [лабораторна проба]: вкарване в ендоскопично оборудване
6.3 Покрита пореста маса Nycomed [лабораторна проба]: разгъната след вкарването в ендоскопичния прибор
6.3 Покрита пореста маса Nycomed [производствена проба = TachoComb®]: разгъната след вкарването в ендоскопичния прибор
Фигура 7
Ендоскопичен прибор: Endodock®
Ендоскопичен прибор: Endodock®
Ендоскопичен прибор: Endodock®

Сравнение на покрита Nycomed пореста маса (TachoComb S) с други продукти – носители, покрити идентично с TachoComb S.

Адхезия на слоя

Процедура

1. Покриване на различни носители

Търговска марка	Материал	Производител / Разпространител
Opraskin®	Колагенова пореста маса	Lohmann, Postfach 2343, D-56513 neuwied
Willospon® forte	Колагенова пореста маса (телешка)	Will-Pharma, Postbus 30, NL 1160 AA Zwanenburg
Willospon® Special	Желатинова пореста маса	Will-Pharma, Postbus 30, NL 1160 AA Zwanenburg
Ethisorb®Patch	Полиглактин 910 / полидиоксанон	Johnson/Johnson (manufacturer) Ethicon, Robert-Koch-Str. 1 D-22851 Norderstedt
Tabotamp®NU Knit	Окислена регенериранd целулоза	Johnson/Johnson (manufacturer) Ethicon, Robert-Koch-Str. 1 D-22851 Norderstedt
Nycomed колагенова пореста маса	Конска колагенова пореста маса	Nycomed Austria Sankt-Peter-Str. 25 A-4021 LINZ

Площ от 2 x 4.5 cm^2 от всеки носител беше покрита с покриваща суспензия от TachoComb S. Количеството на покриващата суспензия отговаряше на спецификациите на TachoComb (5.5 mg фибриноген / cm^2). Пробите бяха изсушавани.

2. Проба 1 x 4 cm^2 беше изготвена от всеки покрит носител.

3. Адхезията на слоя беше тествана както следва

Описание на метода

Апарат

Аналитична везна (прецизност на измерването $\pm$ 0.5 mg)

Vibrofix шейкър, комбиниран с устройство за фиксиране

Разграфена линия с милимитрова скала

Хронометър, скалпел, епруветки с 2 cm вътрешен диаметър с капаче

Процедура

Процедурата и изчисленията за определяне на абразията са описани по-горе.

Резултати

Носител	Материал	Абразия (mg/cm^2)
Opraskin®	Лиофилизиран колаген	2.1
Willospon® forte (3 mm)	Лиофилизиран колаген	1.2
Willospon® Spezial (1 mm)	Желатин	2.1
Ethisorb®Patch (ZVP609)	Полиглактин/полидиоксанон	14.3
Tabotamp®NU Knit	Окислена целулоза	9.2
Nycomed колагенова пореста маса	Колаген, пяна	0.15

Коментар

Всички носители с изключение на Nycomed колагеновата пореста маса не са гъвкави след покриването.

Пробите трябва да се изрязват много внимателно Ако срязването става с помощта на ножици много покриващ материал ще се отлюспи, тъй като слоят сам по себе си е ригиден. Ethisorb® Patch не показва почти никаква връзка с покриващия материал. Когато се разтърси леко цялото покритие се изхлузва като "килим".

Разликата между Nycomed колагеновата пореста маса и материалите на другите носители се изявява доста ясно.

Еластичност на намокрения покрит носител

Процедура

1. Покриване на различни носители

площ от 2 x 4.5 cm^2 от всеки носител беше покрита с TachoComb S суспензия за покриване. Количество от покриващата суспензия, съответстваше на спецификациите на TachoComb (5.5 mg фибриноген/cm^2). Пробите бяха изсушавани.

2. От всеки покрит носител се изготвяше проба от около 5 – 7 cm^2. Определена бе точната начална площ на изсушените проби.

3. Пробата беше навлажнявана и поставена върху еластичен лист Latex, прикрепен към специално оборудване, както е описано в детайли в частта «процедура». След това върху листа се упражняваше налягане, и листът се разширяваше. След двукратно разширяване и отпускане листът беше разширен за трети път. Площта на носителя беше измерена в точката на най-голямо разширяване.

Описание на метода

Апарати/химикали

Перисталтична помпа (IKA PA-SF)

Бутилка за буфериране на налягането (3 отвора)

VDO манометър (0 – 250 mbar)

Стъклена фуния (∅ първи отвор: 30 mm, втори отвор: 15 mm)

Силиконови тръбички и скоби, латексови ръкавици (Semper med), скалпел, градуирана линия с милиметрова скала, ножици

Физиологичен разтвор

Процедура

Следното оборудване се свързва здраво (без изпускане на въздух) към трите отвора на бутилката за буфериране на налягането чрез силиконови връзки:

а) перисталтична помпа

б) манометър

в) стъклена фуния/отвор 2

Двоен лист от около 8 x 8 cm^2 бе изрязан от латексова ръкавица. Този лист бе прикрепен неподвижно към стъклената фуния/отвор 1.

От покрития носител бе изрязана с помощта на скалпел около 5 – 7 cm^2 покрита площ.

Площта на пробата бе измерена (начална площ). Покритието на пробата бе навлажнено с физиологичен разтвор и поставено върху латексовия материал. След това бе притиснато към латексовия лист ръчно за около 1 мин.

С помощта на перисталтична помпа латексовият лист бе разширяван чрез прилагане на налягане от около 70 mbar. Това се повтаряше двукратно с последващо отпускане на латексовия материал. На третото разширяване площта (по дължина и ширина) на покрития

носител бе измервана в точката на най-силно разширяване на латексовия лист.

Изчисления:

$$\text{“Фактор на еластичност”} = \frac{\text{Площ на носителя след третото разширяване}}{\text{начална площ на пробата}}$$

Резултати

Носител	Материал	Фактор на еластичност
Opraskin®	Лиофилизиран колаген	1.78
Willospon® forte (3 mm)	Лиофилизиран колаген	1.53
Willospon® Spezial (1 mm)	Желатин	1.79
Ethisorb®Patch (ZVP609)	Полиглактин/полидиоксанон	1.0
Tabotamp®NU Knit	Окислена целулоза	1.15
Nycomed колагенова пореста маса	Колаген, пяна	1.55

Коментар:

Еластичността на навлажнената Nycomed колагенова пореста маса (TachoComb S) е една от най-важните характеристики на продукта. Еластичността е особено важна в торакалната и коремна хирургия. След залепяне носителят трябва да може да понесе примерното разширяване и отпускане на белите дробове и червата. Особено Ethisorb® не показва никаква еластичност. Той се отлепя от

покритието мигновено. Покритите Wilospon®Spezial и Opraskin® показаха структурни дефекти по време на теста.

Употреба на покрития носител в ендоскопичната хирургия

Процедура

1. Покриване на различни носители

Площ от 2 x 4 cm^2 от всеки носител беше покрита с TachoComb S суспензия за покриване. Количество от покриващата суспензия, съответстваше на спецификациите на TachoComb (5.5 mg фибриноген/cm^2). Пробите бяха изсушавани.

2. Манипулирането на пробите от покрития носител за употреба в ендоскопичната хирургия и загубата на покритието в резултат на манипулирането бяха документирани чрез оборудване за дигитални снимки.

Описание на метода

Апарати

Endodock: ендоскопичен апарат, конструиран за употреба с TachoComb® в ендоскопичната хирургия (виж фигура 7). Дигитален фотоапарат.

Списък на изследваните носители

Носител	Материал на носителя
Opraskin®	Лиофилизиран колаген
Willospon® forte (3 mm)	Лиофилизиран колаген
Willospon® Spezial (1	Желатин

mm)	
Ethisorb®Patch (ZVP609)	Полиглактин/полидиоксанон
Tabotamp®NU Knit	Окислена целулоза
Nycomed колагенова пореста маса	Колаген, пяна

Процедура

Серия от снимки, правени на всеки носител:

1. Снимка: документиране на серия от не-покрити и покрити носители.

2. Снимка: покритите проби се вкарват в ендоскопично оборудване (Endodock). Пробите трябва да се направят плоски ръчно, за да могат да се обвият около насочваща "игла". След това пробата се вкарва внимателно в метална тръба с диаметър 10 mm.

Документиране на проба, частично вкарана н тубата на Endodock.

3. Снимка: пробата се изкарва внимателно. След това пробата трябва да се разгърне. Разгърнатата проба след вкарването в ендоскопичното оборудване и загубата на покритие в резултат на манипулирането се документират.

Коментар

TachoComb S (покрита конска колагенова пореста маса / Nycomed) в ендоскопичната хирургия е най-показателното приложение на продукта. TachoComb S се вкарва в ендоскопичното оборудване. Тръбата на това оборудване обикновено е с 10-13 mm диаметър. За да се вкара в тръбата TachoComb S се сплесква и след това обвива около насочваща "игла" и след това вкарва внимателно в тръбата. Следователно, връзката между покритието с носителя и вътре с него трябва да бъде здрава, но продуктът трябва да остане достатъчно гъвкав в сухо състояние за да се извива и търкаля. Когато достигне

мястото на хирургичната намеса TachoComb S внимателно се изтегля от тръбата. След това трябва да се отгърне и постави върху нараненото място. Това често изисква известни нагласявания. Следователно, адхезията към слоя на носителя трябва да бъде достатъчно силна, за да издържи манипулирането.

Резултати

Резултатите са видни от приложените фигури 1 – 6. Една примерна класация на покриващите материали е както следва:

Opraskin®	30 - 40 %
Willospon® forte (3 mm)	60 – 70 %
Willospon® Spezial (1 mm)	50 %
Ethisorb®Patch (ZVP609)	60 – 70 %
Tabotamp®NU Knit	95 %
Nycomed колагенова пореста маса	< 5 %

Тъй като Ethisorb® е много ригиден носител адхезията на покритието е много лоша. Следователно Ethisorb® губи почти изцяло покритието по време на проучването. В сравнение с Nycomed колагенова пореста маса всички останали изследвани носители имат плоска повърхност, която трябва да се покрива. Следователно, покритията лежат като "плосък килим" върху носителя. Това води до доста негъвкава структура на твърдите покрити носители. Извиването или търкалянето често чупят самото покритие.

След вкарване на покрити носители в тръбата на ендоскопичното оборудване и разгъването на пробата след това всички носители с изключение на Nycomed колагеновата пореста маса губят голяма

част от покритието си, така че големи области остават без покриващ материал.

Структура и текстуратата на Nycomed колагеновата пореста маса са в основата на високата гъвкавост на TachoComb S в сухи или овлажнени условия. Nycomed колагеновата пореста маса е пенеста и има полигонални камери вътре в себе си. На повърхността тези камери са срязани до кухини. Тези кухини уголемяват покриващата повърхност. По време на покриването покриващата суспензия се разпределя равномерно върху структурираната повърхност. По време на изсушаването разтворът, съдържащ както фибриноген, така и тромбин се прикрепя върху носителя в кухините. Следователно, TachoComb S може да се срязва до желани размери и може да се вкарва в ендоскопично оборудване с много малка загуба на покриващ материал или дори без загуба.

Високата гъвкавост на сухия TachoComb S е голямо предимство в сравнение с всички други изследвани носители на покритие.

Производство на колагенова пореста маса

Колагеновата пореста маса, коментирана в настоящия текст, може да бъде произведена чрез метод, основно илюстриран на Фигури 1 и 11 и описан по-долу:

Установено е, че успешното покриване на колагеновата пореста маса с препарати от фибриново лепило зависи от текстурата на колагеновата пореста маса. Поради тази причина е желателно осигуряването на метод за производство на колагенова пореста маса с определена текстура, по-специално изготвяне на колагенова

пореста маса за покриване с препарат от фибриново лепило за получаване на материал за зарастване и затваряне на рани. Допълнително е желателно осигуряването на метод за производство на колагенова пореста маса, притежаваща подобрени физически характеристики в сравнение с известните в тази област на техниката порести маси, в смисъл на подобрена влажност, еластичност, плътност и коефициент на еластичност. Допълнително е желателно осигуряването на метод за изготвяне на колагенова пореста маса, която е непропусклива за въздух и течност в смисъл, че веднъж приложена на раната, тя не позволява на въздуха или течността да преминават през колагеновата пореста маса.

По този начин методът за изготвяне на колагенова пореста маса може да включва следните стъпки:

- изготвяне на колагеновия гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсущаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm.

В настоящия контекст терминът "диаметър на камерата" трябва да се подразбира като най-дългото по права линия разстояние от стена до стена в камерата, т.е. като най-дългото по права линия диагонално разстояние в камерата. Камерата може да бъде с полигонална форма, напр. с октогонална форма.

Беше установено, че диаметър на камерата по-голям от 0.75 mm и по-малък от 4 mm или диаметър на камерата от 3 mm прави колагеновата пореста маса особено подходяща да бъде покрита с препарат от фибриново лепило. За предпочитане колагеновият гел има суха маса в обхвата на 2 – 20 mg суха маса за 1 g гел, като напр. 4 – 18 mg суха маса за 1 g гел, като напр. 5 – 13 mg суха маса за 1 g гел, като напр. 6 – 11 mg суха маса за 1 g гел. Динамичният вискозитет на колагеновия гел е за предпочитане 2 – 20 Ncm, като напр. 4 – 10 Ncm, като напр. 6 – 8 Ncm. Колагеновата пореста маса за предпочитане има водно съдържание от над 20 %, като напр. 10 – 15 %, като напр. 18 %. Коефициентът на еластичност на колагеновата пореста маса за предпочитане е в обхвата на 5 – 100 N/cm, като напр. 10 – 50 N/cm и плътността на колагеновата пореста маса за предпочитане е 1 – 10 mg/cm^3, като напр. 2 – 7 mg/cm^3.

Беше установено, че колагенова пореста маса, изготвена съгласно горепосочения метод, е непропусклива за въздух и течности в смисъл, че веднъж приложена покритата колагенова пореста маса към раната, тя не позволява на въздух или течност да преминават през колагеновата пореста маса. Течностите се адсорбират в порестата маса. Този ефект основно се дължи на факта, че стъпката на вдухване на въздух в колагеновия гел осигурява образуването в колагеновата пореста маса, която има три размерна структура, на множество отделни камери, напълно обгърнати от стени от колагенов материал, за разлика от известните колагенови порести маси, които имат влакнеста структура.

Колагеновият гел може да се състои от материал от различни типове, като тип I, II или III от бозайници, трансгенни или рекомбинантни източници, но всички други типове колаген могат да се употребяват.

Колагенът може да представлява материал от сухожилия, избран измежду групата съдържаща конски сухожилия, човешки сухожилия и говежди сухожилия. Колагеновият гел може допълнително или алтернативно да се състои от рекомбинантен колагенов материал.

Колагеновото съдържание на изолираните части от порестата маса за предпочитане е 50 % - 100 % по отношение на сухото съдържание на порестата маса, напр. 75 % - 100 %, 80 % - 100 %, 85 % - 100 %, 90 % - 100 %, 92 % - 100%, 92 % - 98 %, 93 % - 97 %, 94 % - 96 %.

Стъпките по изготвяне на колагеновия гел за предпочитане са следните:

- съхранение на сухожилията при температури между – 10°C и - 30°C и обелване на сухожилията,
- отстраняване на чуждия белтък от сухожилията,
- набъбване на сухожилията,
- хомогенизиране на набъбналите сухожилия.

Стъпките на сортиране, обелване, отстраняване на белтъка, намаление на съдържанието на микроби и набъбване целят пречистване на суровия материал, докато стъпката на хомогенизиране цели получаване на колаген под формата на гел.

Стъпката на намаляване на съдържанието на микроби за предпочитане включва добавяне на киселина, напр. органична киселина като млечна киселина, към сухожилията. Допълнително, за предпочитане към сухожилията се добавя органичен разтворител, напр. алкохол като етанол. След това, стъпката на набъбване на сухожилията за предпочитане включва добавянето на млечна киселина към сухожилията. Млечната киселина, която се

употребява, може да бъде 0.40 – 0.50 % млечна киселина, напр. 0.45 % млечна киселина.

Стъпката на набъбване на сухожилията може да се състои от съхранението им при температура от 4°C до 25°C, като напр. температури от 10°C – до 20°C за период от 48 до 200 часа, напр. за период от 100 до 200 часа.

Стъпката на хомогенизиране на набъбналите сухожилия за предпочитане се извършва с цел получаване на частици с определен размер в колагеновите фрагменти, т.е. топчета от фибри с размер от 0.8 - 1.2 cm, напр. от около 1 cm. Допълнително, физическите характеристики на колагеновия гел са за предпочитане посочените по-горе. Подходящи характеристики могат да се получат например чрез провеждане на стъпка на хомогенизиране на набъбналите сухожилия чрез мелница със зъбчат диск или подходящо оборудване за хомогенизиране.

Стъпката на вдухване на въздух в колагеновия гел за предпочитане включва следните стъпки:

- вдухване на въздух със стайна температура в гела чрез миксер за генериране на колагенова пяна,
- подаване на гелната пяна към фракциониращ канал,
- отделяне на колагеновия гел и колагеновата пяна, съдържаща се във фракциониращия канал.

Поне част от колагеновия гел, отделен от колагенова пяна във фракциониращия канал, може да се върне обратно в миксера. В този случай съотношението между количеството колагенов гел, което се оставя да постъпи отново в миксера от фракциониращия канал и

коиличеството на свеж колагенов гел, постъпващ в миксера за предпочитане, е 0.1 към 0.5. Стадият на разделяне на колагеновия гел от колагеновата пяна, съдържаща се във фракциониращия канал, за предпочитане включва следните стъпки:

- отделяна на определена част от колагеновата пяна, съдържаща се във фракциониращия канал,
- оставяне на определената част от колагеновата пяна извън фракциониращия канал за изсушаване.

В предпочитан вариант на метода във фракциониращия канал се поддържа температура от 15°C до 40°C, напр. 20°C до 25°C.

След вдухването на въздух в колагеновия гел, колагеновата пяна може да бъде хомогенизирана за период от 2 до 4 минути.

Преди стъпката на изсушаване на колагеновата пяна и след стъпката на вдухване на въздух в колагеновия гел може да се добави неутрализатор към колагеновата пяна и колагеновата пяна за предпочитане се неутрализира с цел достигане на pH стойности от обикновено между 2.5 – 3.5 до pH стойност в колагеновата пяна между 6.5 и 8.5. Може да се използва неутрализатор амонячен разтвор и колагеновата пяна за предпочитане се неутрализира за период от 5 – 30 часа, напр. 10 – 20 часа, приблизително 24 часа.

Преди стъпката на изсушаване на колагеновата пяна, колагеновата пяна за предпочитане се пълни в изсушаващ контейнер по такъв начин, че реално в пяната не попада никакъв въздух по време на пълненето.

Стъпката на изсушаване за предпочитане се състои от изсушаване на температура между 15°C и 60°C, напр. между 20°C и 40°C за период от 50 – 200 часа, напр. 100 – 150 часа за получаване на суха колагенова пореста маса. Изсушаването може да се извърши при налягане малко под атмосферното, напр. при налягане между 700 и 900 mbar, напр. приблизително 800 mbar.

Колагеновата пореста маса, произведена по метода, съгласно настоящето изобретение, с предпочитане отговаря най-малко на един от следните критерии:

- pH стойност между 5.0 и 6.0,
- съдържание на млечна киселина най-много 5 %,
- съдържание на амоняк най-много 0.5 %,
- съдържание на разтворим белтък, изчислено като съдържание на албумин, най-много 0.5 %,
- съдържание на сулфатна пепел най-много 1.0 %,
- съдържание на тежки метали най-много 20 ppm,
- микробиологична чистота, най-много 10^3 CFU/g,
- съдържание на колаген от 75 % до 100 %,
- плътност от 1- 10 mg/cm^3, напр. 2 - 7 mg/cm^3,
- коефициент на еластичност 5 – 100 N/cm, напр. 10 – 50 N/cm.

Стъпката по изолиране на части от колагенова пореста маса може да включва разделяне на колагеновата пореста маса на множество от частици чрез срязване. Получените части могат да се оформят във всяка желана форма, като напр. конична, цилиндрична, включително цилиндрична с пръстеновиден напречен разрез, правоъгълна, полигонална, кубична и плоски листове или могат да бъдат трансформирани в гранули по подходящ гранулиращ метод, и т.н.

Както е очевидно от казаното по-горе, колагеновата пореста маса може да се изготви по метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- изготвяне на колагенов гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от колагенова пореста маса съдържаща камери,
- изолиране от блока на колагеновата пореста маса, части от колагеновата пореста маса, притежаваща следните характеристики:
    - коефициент на еластичност в обхвата на 5 до 100 nN/cm,
    - плътност в обхват 1 до 10 mg/cm^3,

диаметър на камерата по-голям от 0.75 mm и по-малко от 4 mm или среден диаметър на камерата 3 mm.

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. Суспензия, състояща се от фибриноген, тромбин и алкохол, получена по метод, характеризиращ се с това, че включва:
- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия,
като суспензията съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm.

2. Суспензия, съгласно Претенция 1, характеризираща се с това, че средният диаметър на частиците по Folk Ward е 35 – 80 μm.

3. Суспензия, съгласно Претенции 1 или 2, характеризираща се с това, че вискозитетът на суспензията е такъв, че обем от 90 – 120 ml от суспензията, зависим само от гравитацията, излиза през отвора на дъното на контейнер, притежаващ
- цилиндрична част с вътрешен диаметър от 40 – 50 mm и вътрешна височина от 55 – 65 mm и
- конична дънна част с височина 17 – 23 mm, която има кръгъл отвор на дъното в най-долния край на коничната част с диаметър от 2 – 3 mm,
за 25 – 75 секунди.

4. Суспензия, съгласно Претенция 3, характеризираща се с това, че въпросният обем на суспензията излиза през отвора на дъното за 30 – 50 секунди.

5. Суспензия, съгласно всяка една от Претенции 1 - 4, допълнително съдържаща апротинин.

6. Метод за изготвяне на суспензия с фибриноген и тромбин, характеризиращ се с това, че включва:
- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия,
като суспензията съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm.

7. Метод, съгласно Претенция 6, характеризиращ се с това, че средният диаметър на частиците по Folk Ward е 25 – 100 μm.

8. Метод, съгласно Претенции 6 или 7, характеризиращ се с това че предварително раздробеният фибриноген се разбърква в алкохола за получаване на въпросната фибриногенна смес.

9. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 8, характеризиращ се с това, че на стъпката осигуряване на сместа, сместа се хомогенизира.

10. Метод, съгласно Претенция 9, характеризиращ се с това, че сместа се хомогенизира при температури между 0°C и 12°C.

11. Метод, съгласно Претенция 10, характеризиращ се с това, че сместа се хомогенизира при температури между 2°C и 8°C.

12. Метод, съгласно Претенция 11, характеризиращ се с това, че температурата се понижава по време на хомогенизирането.

13. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 12, характеризиращ се с това, че тромбинът е поне един от: човешки тромбин, говежди тромбин и рекомбинантен тромбин.

14. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 13, характеризиращ се с това, че фибриногенът е поне един от: човешки тромбин и рекомбинантен фибриноген.

15. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 14, характеризиращ се с това, че суспензията допълнително съдържа апротинин.

16. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 15, характеризиращ се с това, че алкохолът е етанол.

17. Метод, съгласно Претенция 15, характеризиращ се с това, че етанолът е безводен етанол.

18. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 17, характеризиращ се с това, че стъпката на смесване на фибриногенната смес и на тромбиновата смес се провежда при разбъркване на суспензията.

19. Метод, съгласно Претенция 18, характеризиращ се с това, че разбъркването се провежда при температури между 0°C и 12°C.

20. Метод, съгласно Претенция 19, характеризиращ се с това, температурата е между 2°C и 8°C.

21. Метод за покриване на носител със суспензия, състояща се от фибриноген и тромбин, характеризиращ се с това, че суспензията е получена по метод, включващ стъпките:
- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия
като суспензията съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm,
като методът на покриване се състои от
- осигуряване на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол в място близо до носителя,
- поставяне на въпросната суспензия върху покриващата повърхност на носителя.

22. Метод, съгласно Претенция 21, характеризиращ се с това, че носителят е колагенов носител.

23. Метод, съгласно Претенция 22, характеризиращ се с това, че колагеновият носител е колагенова пореста маса.

24. Метод, съгласно Претенция 23, характеризиращ се с това, че колагеновата пореста маса отговаря на поне един от следните критерии:
- pH стойност между 5.0 и 6.0,
- съдържание на млечна киселина най-много 5 %,
- съдържание на амоняк най-много 0.5 %,
- съдържание на разтворим белтък, изчислено като съдържание на албумин, най-много 0.5 %,
- съдържание на сулфатна пепел най-много 1.0 %,

- съдържание на тежки метали най-много 20 ppm,
- микробиологична чистота, най-много 10^3 CFU/g,
- съдържание на колаген от 75 % до 100 %,
- плътност от 1- 10 mg/cm^3,
- коефициент на еластичност в обхвата на 5 – 100 N/cm.

25. Метод, съгласно Претенции 23 или 24, характеризиращ се с това, че носителят е колагенова пореста маса и тя е получена по метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- изготвяне на колагеновия гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm.

26. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 25, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва при стайна температура от 0° – 12°C.

27. Метод, съгласно Претенция 26, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва при стайна температура от 1° – 10°C.

28. Метод, съгласно Претенция 27, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва при стайна температура от 2° – 8°C.

29. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 28, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензия върху носителя се извършва в нормална атмосфера с относителна влажност от 75 – 99%.

30. Метод, съгласно Претенция 29, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва в нормална атмосфера с относителна влажност от 85 – 95 %.

31. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 30, характеризиращ се с това, че обем от 0.08 ml – 0.12 ml от суспензията се прилага върху носител за cm^2 покриваща повърхност.

32. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 31, характеризиращ се с това, че суспензията се разпределя равномерно по дадена дължина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25 %.

33. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 32, характеризиращ се с това, че се използва апликатор, съдържащ най-малко един кран, за полагане на суспензията върху носителя, като суспензията се форсира през крана, докато носителят и кранът се движат един спрямо друг.

34. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 32, характеризиращ се с това, че се използва апликатор, съдържащ контейнер с множество отделни изходи, за полагане на суспензията върху носителя, като суспензията се форсира от контейнера през изходите върху носителя.

35. Метод, съгласно Претенция 34, характеризиращ се с това, че носителят е апликаторът се движат един спрямо друг в посока на полагането на суспензията върху носителя.

36. Метод, съгласно Претенция 35, характеризиращ се с това, че скоростта на движение е 0.025 m/s – 0.05 m/s.

37. Метод, съгласно Претенция 36, характеризиращ се с това, че скоростта на движение е 0.03 m/s – 0.04 m/s.

38. Метод, съгласно всяка една от Претенции 34 – 37, характеризиращ се с това, че скоростта на поток на суспензията, полагана върху носителя през апликатора, е 400 – 600 ml/min.

39. Метод, съгласно Претенция 38, характеризиращ се с това, че скоростта на поток е 470 – 550 ml/min.

40. Метод, съгласно Претенция 39, характеризиращ се с това, че скоростта на поток е 495 – 505 ml/min.

41. Метод за изсушаване на суспензията от фибриноген, тромбин и алкохол, приложена като мокро покритие върху покриващата повърхност на носителя, като методът се характеризира с това, че включва стъпка на: подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност.

42. Метод, съгласно Претенция 41, характеризиращ се с това, че суспензията се получава чрез:

- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия,

и носителят е колагенова пореста маса, получена по метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- изготвяне на колагенов гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, не по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,

и покритието се полага върху колагеновата пореста маса чрез:

- осигуряване на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол в място, близо до колагеновата пореста маса,
- полагане на суспензията върху покриващата повърхност на колагеновата пореста маса.

43. Метод, съгласно Претенции 41 или 42, характеризиращ се с това, че покритият носител може да се подложи на въпросното налягане при температура от 0°C – 12°C.

44. Метод, съгласно Претенция 43, характеризиращ се с това, че покритият носител може да се подложи на въпросното налягане при температура от 1°C – 10°C.

45. Метод, съгласно Претенция 44, характеризиращ се с това, че покритият носител може да се подложи на въпросното налягане при температура от 2°C – 8°C.

46. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 45, характеризиращ се с това, че покритият носител се подлага на въпросното налягане при относителна влажност на заобикалящата го атмосфера от 75 – 99 %.

47. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 46, характеризиращ се с това, че покритият носител се подлага на въпросното налягане при относителна влажност на заобикалящата го атмосфера от 85 – 95 %.

48. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 47, характеризиращ се с това, че през покритият носител преминава поток от въздух по време на сушенето.

49. Метод, съгласно всяка една от Претенции 43 – 48, характеризиращ се с това, че покритият носител за предпочитане се съхранява при въпросната температура за период от най-малко 1 час.

50. Метод, съгласно всяка една от Претенции 43 – 48, характеризиращ се с това, че покритият носител за предпочитане се съхранява при въпросната температура за период от най-малко 2 часа.

51. Метод, съгласно всяка една от Претенции 43 – 48, характеризиращ се с това, че покритият носител за предпочитане се

съхранява при въпросната температура за период от най-малко 4 часа.

52. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 51, характеризиращ се с това, че площта на изсушената покриваща повърхност е най-малко 75 % от размера на площта на мократа покриваща повърхност.

53. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 51, характеризиращ се с това, че площта на изсушената покриваща повърхност е най-малко 80 % от размера на площта на мократа покриваща повърхност.

54. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 53, характеризиращ се с това, че носителят и изсушената покриваща повърхност заедно за предпочитане трябва да имат водно съдържание не повече от 12 % от теглото.

55. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 53, характеризиращ се с това, че носителят и изсушената покриваща повърхност заедно за предпочитане трябва да имат водно съдържание не повече от 8 % от теглото.

56. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 53, характеризиращ се с това, че суспензията допълнително съдържа апротинин.

57. Покрита колагенова пореста маса с покритие от фибриноген и тромбин, като покритата колагенова пореста маса е получена чрез метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- осигуряване на колагенова пореста маса чрез метод, включващ:
  - - изготвяне на колагеновия гел,
  - вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
  - изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
  - изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър не по-повече от 0.75 mm, не по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,
- полагане на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол върху покриваща повърхност на колагенова пореста маса и
- подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност,

като покритата колагенова пореста маса има най-малко едно от следните качества:

- суспензията се разпределя равномерно по дадена ширина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25 %,
- абразията на покритието е по-малка от 2.0 mg/cm2, когато проба 1 x 5 cm^2 от покриващия материал се разтърси в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

58. Покрита колагенова пореста маса, съгласно Претенция 57, характеризираща се с това, че суспензията има водно съдържание от 20 – 80 mg/ml.

59. Покрита колагенова пореста маса, съгласно Претенция 57, характеризираща се с това, че суспензията има водно съдържание от 24 – 32 mg/ml.

60. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 59, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 20 – 40 I.U./cm^2.

61. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 59, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 24 – 33 I.U./cm^2.

62. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 61, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 2 – 4 I.U./cm^2 средно в покриващата повърхност.

63. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 61, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 2.3 – 3.3 I.U./cm^2 средно в покриващата повърхност.

64. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 63, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание не надвишава 5 I.U./cm^2 в което и да е място от покриващата повърхност.

65. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 63, характеризираща се с това, че тромбиновото

съдържание не надвишава 3.8 I.U./cm^2 в което и да е място от покриващата повърхност.

66. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 65, характеризираща се с това, че микробиологичната чистота на покрития носител за предпочитане е най-много 4 CFU/cm^2.

67. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 65, характеризираща се с това, че микробиологичната чистота на покрития носител за предпочитане е най-много 2.25 CFU/cm^2.

68. Употреба на покрита колагенова пореста маса за залепяне на тъкан, затваряне на тъкан и спиране на кръвотечение, като покритата колагенова пореста маса има покритие от фибриноген и тромбин, като покритата колагенова пореста маса е получена чрез метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- осигуряване на колагенова пореста маса чрез метод, включващ:
  - изготвяне на колагенов гел,
  - вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
  - изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
  - изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър не по-повече от 0.75 mm, не по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,
- полагане на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол върху покриваща повърхност на колагенова пореста маса и

- подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност,

като покритата колагенова пореста маса има най-малко едно от следните качества:

- суспензията се разпределя равномерно по дадена ширина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25 %,

абразията на покритието е по-малка от 2.0 mg/cm2, когато проба 1 x 5 cm^2 от покриващия материал се разтърси в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

(подадени в ИБ на 22.01.2003)

1. Суспензия, състояща се от фибриноген, тромбин и алкохол, получена по метод, характеризиращ се с това, че включва:

- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия,

като суспензията съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm.

2. Суспензия, съгласно Претенция 1, характеризираща се с това, че средният диаметър на частиците по Folk Ward е 35 – 80 μm.

3. Суспензия, съгласно Претенции 1 или 2, характеризираща се с това, че вискозитетът на суспензията е такъв, че обем от 90 – 120 ml от суспензията, зависим само от гравитацията, излиза през отвора на дъното на контейнер, притежаващ

- цилиндрична част с вътрешен диаметър от 40 – 50 mm и вътрешна височина от 55 – 65 mm и
- конична дънна част с височина 17 – 23 mm, която има кръгъл отвор на дъното в най-долния край на коничната част с диаметър от 2 – 3 mm,

за 25 – 75 секунди.

4. Суспензия, съгласно Претенция 3, характеризираща се с това, че въпросният обем на суспензията излиза през отвора на дъното за 30 – 50 секунди.

5. Суспензия, съгласно всяка една от Претенции 1 - 4, допълнително съдържаща апротинин.

6. Метод за изготвяне на суспензия с фибриноген и тромбин, характеризиращ се с това, че включва:
- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия,
като суспензията съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm.

7. Метод, съгласно Претенция 6, характеризиращ се с това, че средният диаметър на частиците по Folk Ward е 25 – 100 μm.

8. Метод, съгласно Претенции 6 или 7, характеризиращ се с това, че предварително раздробеният фибриноген се разбърква в алкохола за получаване на въпросната фибриногенна смес.

9. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 8, характеризиращ се с това, че на стъпката осигуряване на сместа, сместа се хомогенизира.

10. Метод, съгласно Претенция 9, характеризиращ се с това, че сместа се хомогенизира при температури между 0°C и 12°C.

11. Метод, съгласно Претенция 10, характеризиращ се с това, че сместа се хомогенизира при температури между 2°C и 8°C.

12. Метод, съгласно Претенция 11, характеризиращ се с това, че температурата се понижава по време на хомогенизирането.

13. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 12, характеризиращ се с това, че тромбинът е поне един от: човешки тромбин, говежди тромбин и рекомбинантен тромбин.

14. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 13, характеризиращ се с това, че фибриногенът е поне един от: човешки тромбин и рекомбинантен фибриноген.

15. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 14, характеризиращ се с това, че суспензията допълнително съдържа апротинин.

16. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 15, характеризиращ се с това, че алкохолът е етанол.

17. Метод, съгласно Претенция 15, характеризиращ се с това, че етанолът е безводен етанол.

18. Метод, съгласно всяка една от Претенции 6 – 17, характеризиращ се с това, че стъпката на смесване на фибриногенната смес и натромбиновата смес се провежда при разбъркване на суспензията.

19. Метод, съгласно Претенция 18, характеризиращ се с това, че разбъркването се провежда при температури между 0°C и 12°C.

20. Метод, съгласно Претенция 19, характеризиращ се с това, температурата е между 2°C и 8°C.

21. Метод за покриване на носител със суспензия, състояща се от фибриноген и тромбин, характеризиращ се с това, че суспензията е получена по метод, включващ стъпките:
- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия
като суспензията съдържа фибриногенови и тромбинови частици, със среден диаметър на частиците по Folk Ward 25 – 100 μm,
като методът на покриване се състои от
- осигуряване на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол в място близо до носителя,
- поставяне на въпросната суспензия върху покриващата повърхност на носителя.

22. Метод, съгласно Претенция 21, характеризиращ се с това, че носителят е колагенов носител.

23. Метод, съгласно Претенция 22, характеризиращ се с това, че колагеновият носител е колагенова пореста маса.

24. Метод, съгласно Претенция 23, характеризиращ се с това, че колагеновата пореста маса може да отговаря на поне един от следните критерии:
- pH стойност между 5.0 и 6.0,
- съдържание на млечна киселина най-много 5 %,
- съдържание на амоняк най-много 0.5 %,
- съдържание на разтворим белтък, изчислено като съдържание на албумин, най-много 0.5 %,
- съдържание на сулфатна пепел най-много 1.0 %,

- съдържание на тежки метали най-много 20 ppm,
- микробиологична чистота, най-много 10^3 CFU/g,
- съдържание на колаген от 75 % до 100 %,
- плътност от 1- 10 mg/cm^3,
- коефициент на еластичност в обхвата на 5 – 100 N/cm.

25. Метод, съгласно Претенции 23 или 24, характеризиращ се с това че носителят е колагенова пореста маса и тя е получена по метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- изготвяне на колагеновия гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm.

26. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 25, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва при стайна температура от 0° – 12°C.

27. Метод, съгласно Претенция 26, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва при стайна температура от 1° – 10°C.

28. Метод, съгласно Претенция 27, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва при стайна температура от 2° – 8°C.

29. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 28, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензия върху носителя се извършва в нормална атмосфера с относителна влажност от 75 – 99%.

30. Метод, съгласно Претенция 29, характеризиращ се с това, че стъпката на прилагане на суспензията върху носителя се извършва в нормална атмосфера с относителна влажност от 85 – 95 %.

31. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 30, характеризиращ се с това, че обем от 0.08 ml – 0.12 ml от суспензията се прилага върху носител за cm^2 покриваща повърхност.

32. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 31, характеризиращ се с това, че суспензията се разпределя равномерно по дадена дължина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25 %.

33. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 32, характеризиращ се с това, че се използва апликатор, съдържащ най-малко един кран, за полагане на суспензията върху носителя, като суспензията се форсира през крана докато носителят и кранът се движат един спрямо друг.

34. Метод, съгласно всяка една от Претенции 21 – 32, характеризиращ се с това, че се използва апликатор, съдържащ контейнер с множество отделни изходи, за полагане на суспензията върху носителя, като суспензията се форсира от контейнера през изходите върху носителя.

35. Метод, съгласно Претенция 34, характеризиращ се с това, че носителят е апликаторът се движат един спрямо друг в посока на полагането на суспензията върху носителя.

36. Метод, съгласно Претенция 35, характеризиращ се с това, че скоростта на движение е 0.025 m/s – 0.05 m/s.

37. Метод, съгласно Претенция 36, характеризиращ се с това, че скоростта на движение е 0.03 m/s – 0.04 m/s.

38. Метод, съгласно всяка една от Претенции 34 – 37, характеризиращ се с това, че скоростта на поток на суспензията, полагана върху носителя през апликатора е 400 – 600 ml/min.

39. Метод, съгласно Претенция 38, характеризиращ се с това, че скоростта на поток е 470 – 550 ml/min.

40. Метод, съгласно Претенция 39, характеризиращ се с това, че скоростта на поток е 495 – 505 ml/min.

41. Метод за изсушаване на суспензията от фибриноген, тромбин и алкохол, приложена като мокро покритие върху покриващата повърхност на носителя, като суспензията съдържа частичи от фибриноген и трамбин със среден диаметър по Folk Ward 25 – 100 μm, като методът се характеризира с това, че включва стъпка на: подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност.

42. Метод, съгласно Претенция 41, характеризиращ се с това, че суспензията се получава чрез:

- осигуряване на фибриногенна смес от фибриноген и алкохол,
- осигуряване на тромбинова смес от тромбин и алкохол,
- смесване на фибриногенната смес и тромбиновата смес за получаване на въпросната суспензия,

и носителят е колагенова пореста маса, получена по метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- изготвяне на колагенов гел,
- вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
- изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
- изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,

и покритието се полага върху колагеновата пореста маса чрез:

- осигуряване на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол в място, близо до колагеновата пореста маса,
- полагане на суспензията върху покриващата повърхност на колагеновата пореста маса.

43. Метод, съгласно Претенции 41 или 42, характеризиращ се с това, че покритият носител може да се подложи на въпросното налягане при температура от 0°C – 12°C.

44. Метод, съгласно Претенция 43, характеризиращ се с това, че покритият носител може да се подложи на въпросното налягане при температура от 1°C – 10°C.

45. Метод, съгласно Претенция 44, характеризиращ се с това, че покритият носител може да се подложи на въпросното налягане при температура от 2°C – 8°C.

46. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 45, характеризиращ се с това, че покритият носител се подлага на въпросното налягане при относителна влажност на заобикалящата го атмосфера от 75 – 99 %.

47. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 46, характеризиращ се с това, че покритият носител се подлага на въпросното налягане при относителна влажност на заобикалящата го атмосфера от 85 – 95 %.

48. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 47, характеризиращ се с това, че през покритият носител преминава поток от въздух по време на сушенето.

49. Метод, съгласно всяка една от Претенции 43 – 48, характеризиращ се с това, че покритият носител за предпочитане се съхранява при въпросната температура за период от най-малко 1 час.

50. Метод, съгласно всяка една от Претенции 43 – 48, характеризиращ се с това, че покритият носител за предпочитане се съхранява при въпросната температура за период от най-малко 2 часа.

51. Метод, съгласно всяка една от Претенции 43 – 48, характеризиращ се с това, че покритият носител за предпочитане се

съхранява при въпросната температура за период от най-малко 4 часа.

52. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 51, характеризиращ се с това, че площта на изсушената покриваща повърхност е най-малко 75 % от размера на площта на мократа покриваща повърхност.

53. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 51, характеризиращ се с това, че площта на изсушената покриваща повърхност е най-малко 80 % от размера на площта на мократа покриваща повърхност.

54. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 53, характеризиращ се с това, че носителят и изсушената покриваща повърхност заедно за предпочитане трябва да имат водно съдържание не повече от 12 % от теглото.

55. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 53, характеризиращ се с това, че носителят и изсушената покриваща повърхност заедно за предпочитане трябва да имат водно съдържание не повече от 8 % от теглото.

56. Метод, съгласно всяка една от Претенции 41 – 53, характеризиращ се с това, че суспензията допълнително съдържа апротинин.

57. Покрита колагенова пореста маса с покритие от фибриноген и тромбин, като покритата колагенова пореста маса е получена чрез метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- осигуряване на колагенова пореста маса чрез метод, включващ:
  - - изготвяне на колагеновия гел,
  - вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
  - изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
  - изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,
- полагане на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол върху покриваща повърхност на колагенова пореста маса, като суспензията съдържа частици от фибриноген и тромбин със среден диаметър по Folk Ward 25 – 100 μm, и
- подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност,

като покритата колагенова пореста маса има най-малко едно от следните качества:

- суспензията се разпределя равномерно по дадена ширина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25 %,
- абразията на покритието е по-малка от 2.0 mg/cm2, когато проба 1 x 5 cm^2 от покриващия материал се разтърси в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

58. Покрита колагенова пореста маса, съгласно Претенция 57, характеризираща се с това, че суспензията има водно съдържание от 20 – 80 mg/ml.

59. Покрита колагенова пореста маса, съгласно Претенция 57, характеризираща се с това, че суспензията има водно съдържание от 24 – 32 mg/ml.

60. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 59, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 20 – 40 I.U./cm^2.

61. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 59, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 24 – 33 I.U./cm^2.

62. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 61, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 2 – 4 I.U./cm^2 средно в покриващата повърхност.

63. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 61, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание на суспензията е 2.3 – 3.3 I.U./cm^2 средно в покриващата повърхност.

64. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 63, характеризираща се с това, че тромбиновото съдържание не надвишава 5 I.U./cm^2 в което и да е място от покриващата повърхност.

65. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 63, характеризираща се с това, че тромбиновото

съдържание не надвишава 3.8 I.U./cm^2 в което и да е място от покриващата повърхност.

66. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 65, характеризираща се с това, че микробиологичната чистота на покрития носител за предпочитане е най-много 4 CFU/cm^2.

67. Покрита колагенова пореста маса, съгласно всяка една от Претенции 57 – 65, характеризираща се с това, че микробиологичната чистота на покрития носител за предпочитане е най-много 2.25 CFU/cm^2.

68. Употреба на покрита колагенова пореста маса за залепяне на тъкан, покриване на такива и спиране на кръвотечение, като покритата колагенова пореста маса има покритие от фибриноген и тромбин, като покритата колагенова пореста маса е получена чрез метод, характеризиращ се с това, че включва следните стъпки:

- осигуряване на колагенова пореста маса чрез метод, включващ:
  - - изготвяне на колагенов гел,
  - вдухване на въздух в колагеновия гел за получаване на колагенова пяна,
  - изсушаване на колагеновата пяна за получаване на сух блок от носител с камери,
  - изолиране от блока от колагенова пореста маса на части от порестата маса с диаметър по-голям от 0.75 mm, по-малък от 4 mm или със среден размер на диагонала на камерите 3 mm,
- полагане на суспензия от фибриноген, тромбин и алкохол върху покриваща повърхност на колагенова пореста маса, като

суспензията съдържа частици от фибриноген и тромбин със среден диаметър по Folk Ward 25 – 100 μm, и

- подлагане на покрития носител на налягане под 1000 mbar, за получаване на суха покриваща повърхност върху носителя, за да се прикрепи изсушеното покритие към покриващата повърхност,

като покритата колагенова пореста маса има най-малко едно от следните качества:

- суспензията се разпределя равномерно по дадена ширина на покриващата повърхност, така че масата от фибриноген на единица площ от покриващата повърхност варира най-много с 25 %,
- абразията на покритието е по-малка от 2.0 mg/cm^2, когато проба 1 x 5 cm^2 от покриващия материал се разтърси в тест епруветка на шейкър Vibrofix с честота от 800 – 1200 rpm за 2 минути.

1.1. Opraskin®

Не покрит | Покрит



1.2. Покрит Opraskin®

вкарване в ендоскопично оборудване

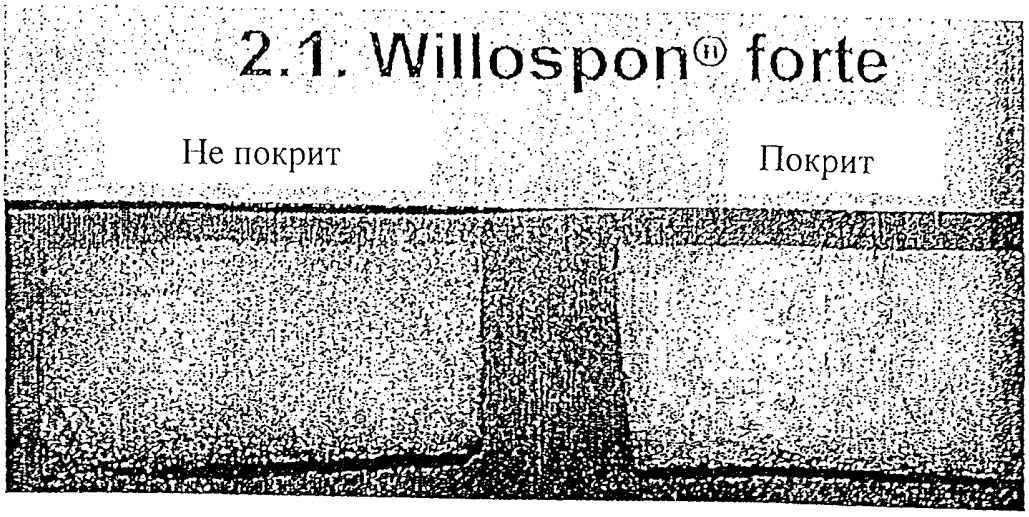


1.3. Покрит Opraskin®

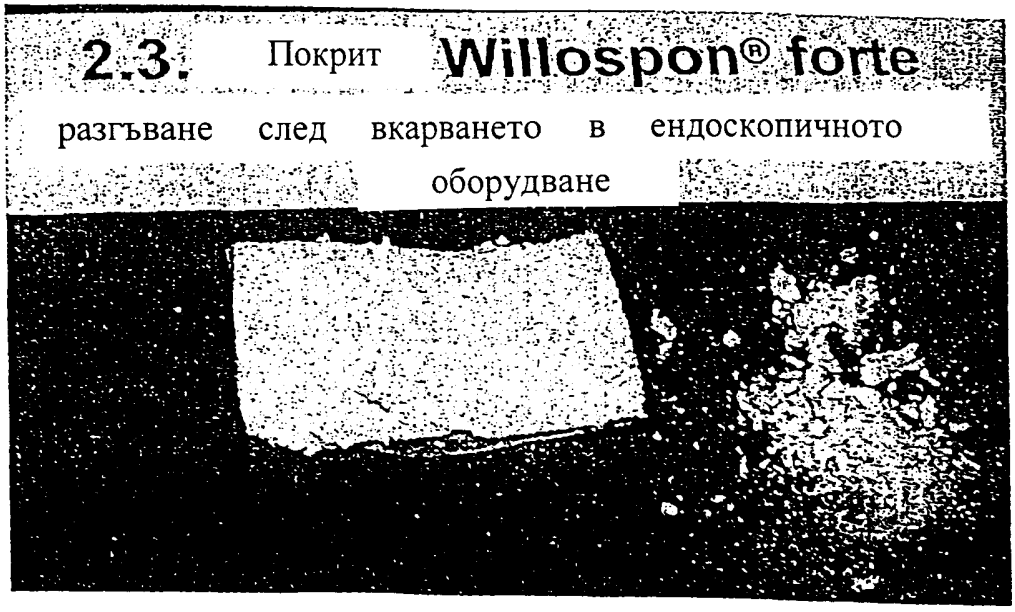
разгъване след вкарването в ендоскопичното оборудване



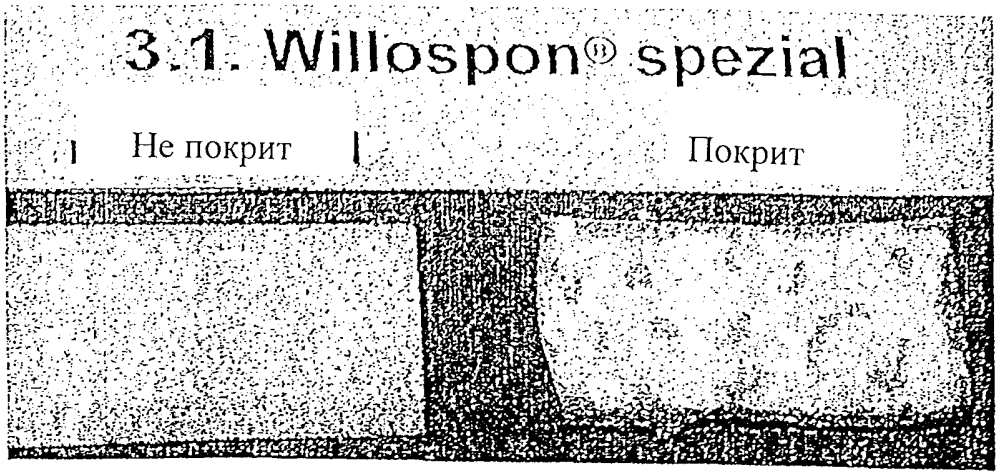
Фиг. 1

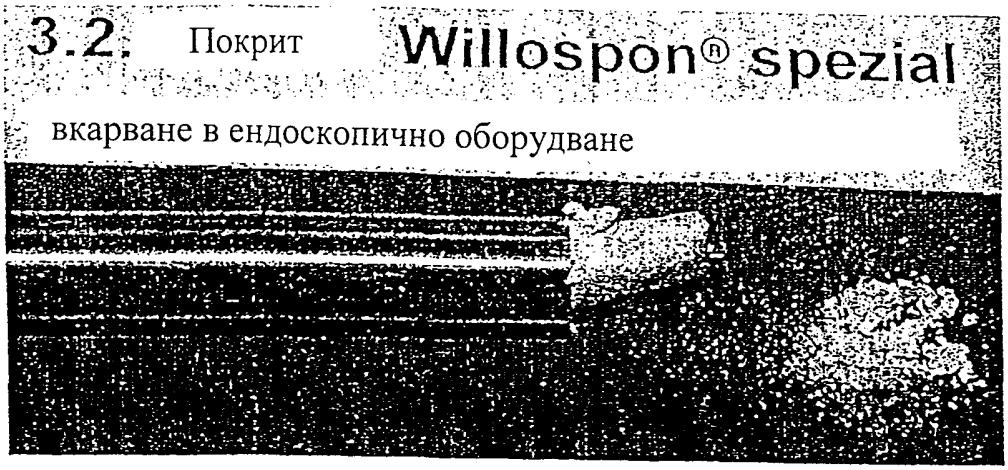

2.1. Willospon® forte
Не покрит
Покрит

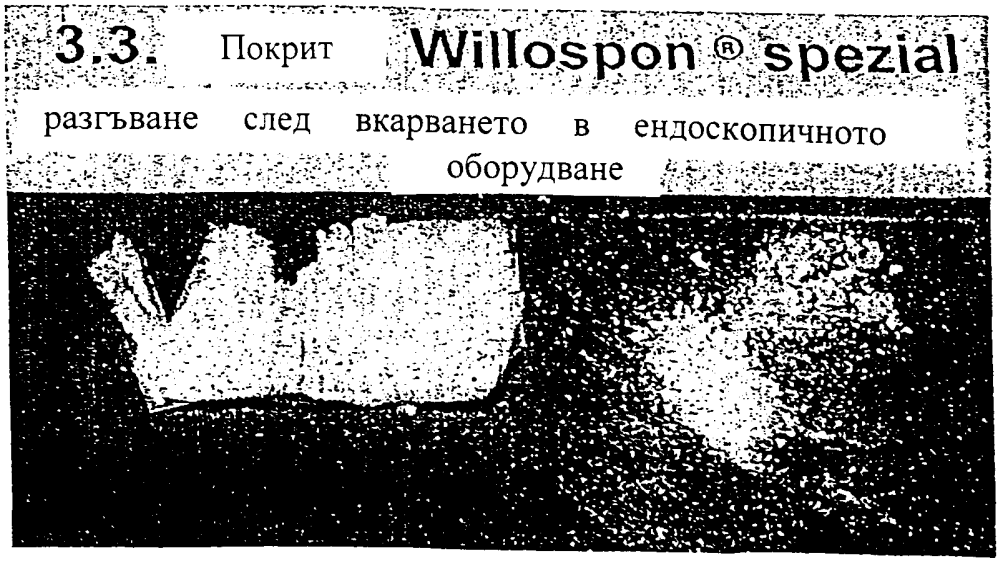

2.2. Покрит Willospon® forte
вкарване в ендоскопично оборудване


2.3. Покрит Willospon® forte
разгъване след вкарването в ендоскопичното оборудване

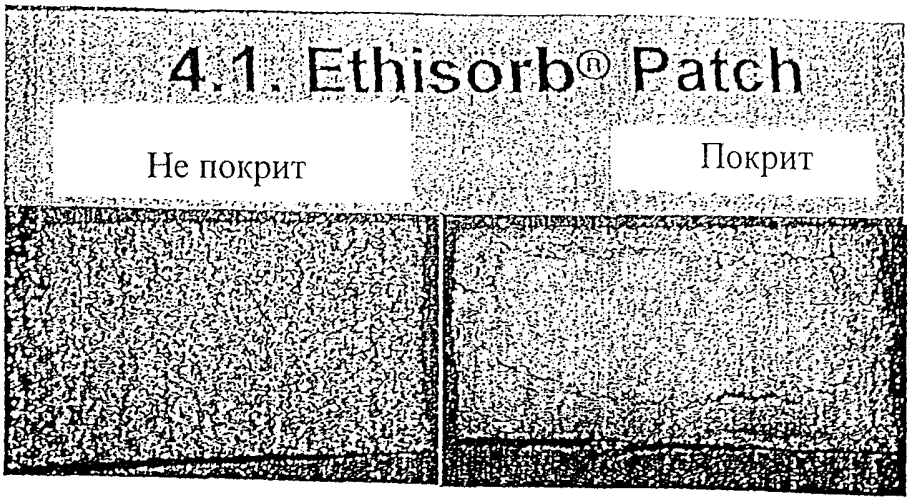
Фиг. 2

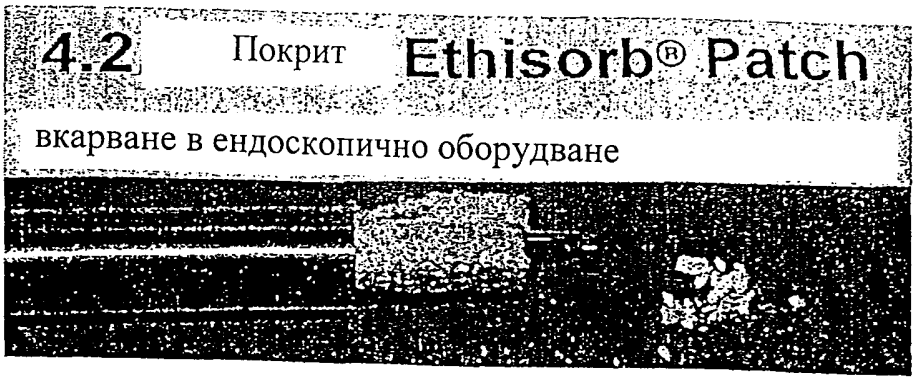

3.1. Willospon® spezial
Не покрит
Покрит

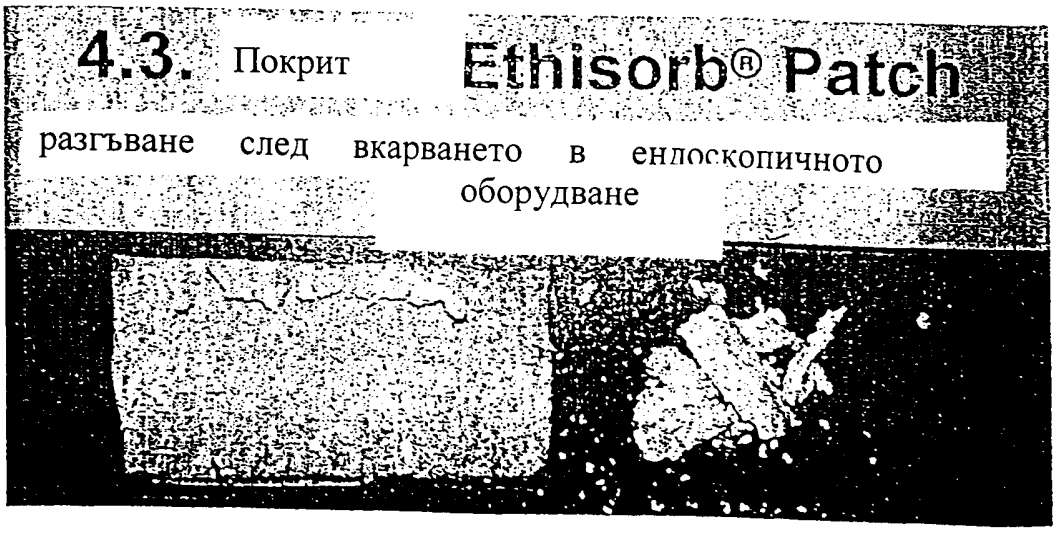

3.2. Покрит Willospon® spezial
вкарване в ендоскопично оборудване


3.3. Покрит Willospon ® spezial
разгъване след вкарването в ендоскопичното оборудване

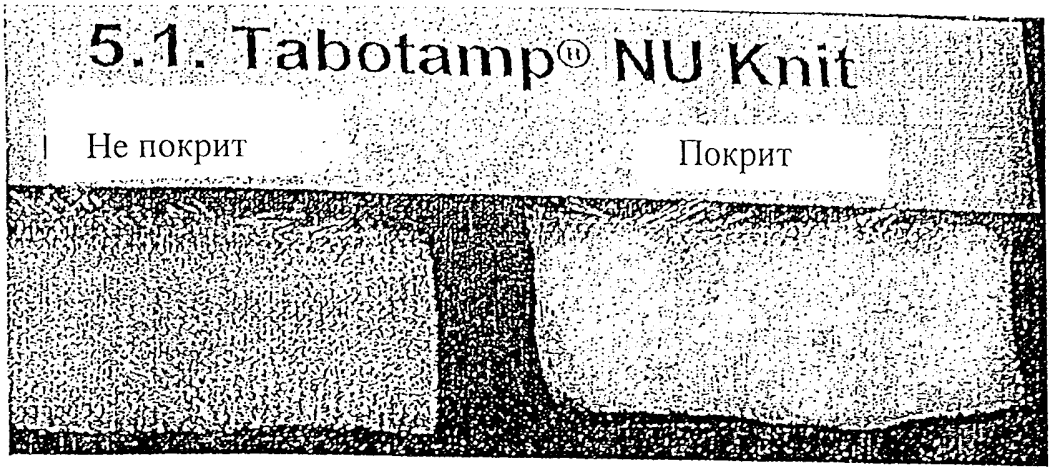
Фиг. 3


4.1. Ethisorb® Patch
Не покрит
Покрит

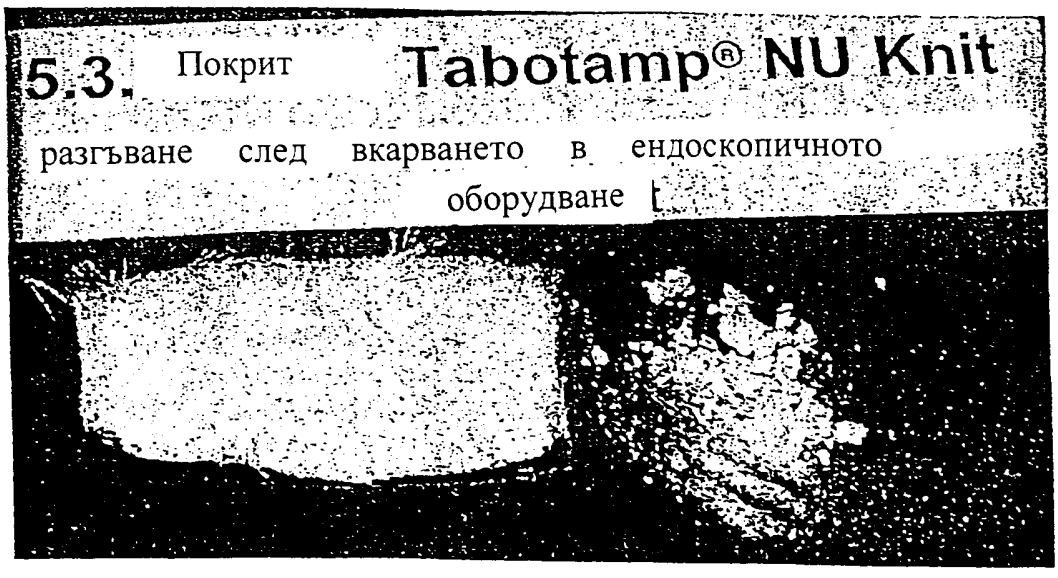

4.2
Покрит
Ethisorb® Patch
вкарване в ендоскопично оборудване


4.3.
Покрит
Ethisorb® Patch
разгъване след вкарването в ендоскопичното оборудване

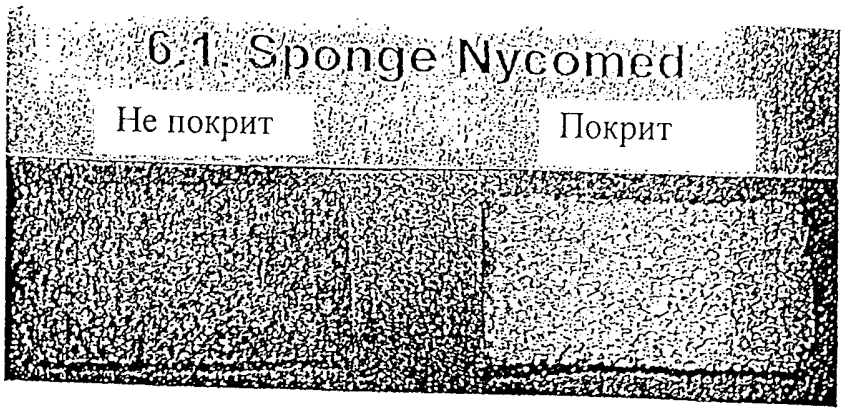
Фиг. 4

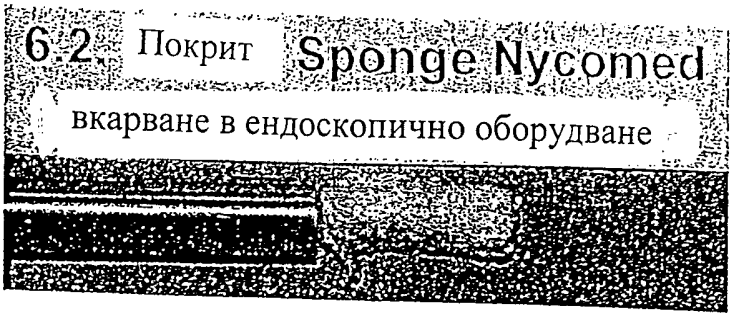

5.1. Tabotamp® NU Knit
Не покрит
Покрит

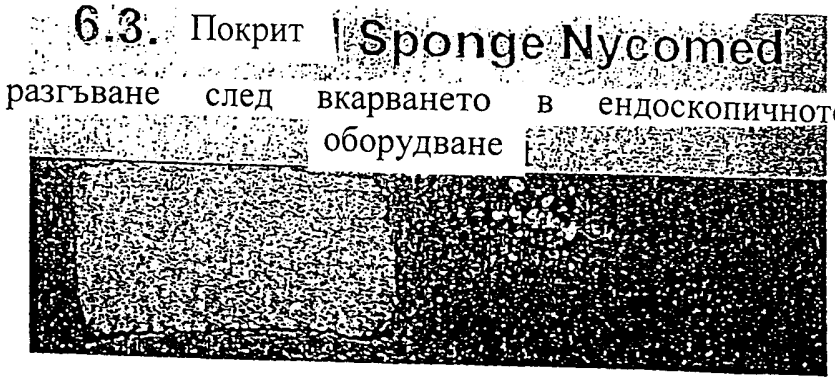

5.2. Покрит Tabotamp® NU Knit
вкарване в ендоскопично оборудване

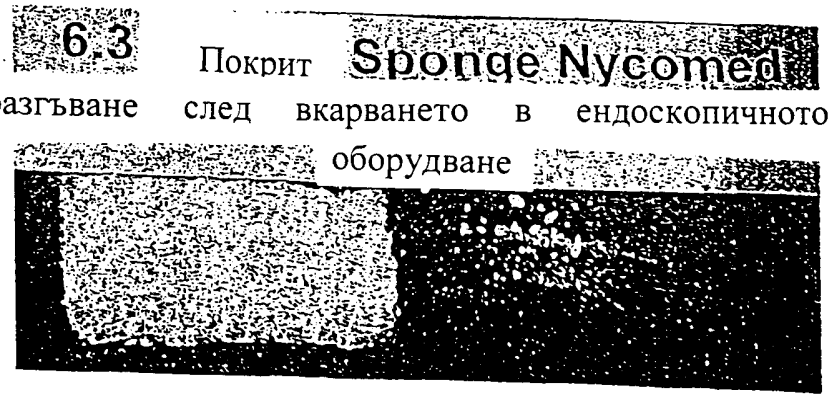

5.3. Покрит Tabotamp® NU Knit
разгъване след вкарването в ендоскопичното оборудване

Фиг. 5

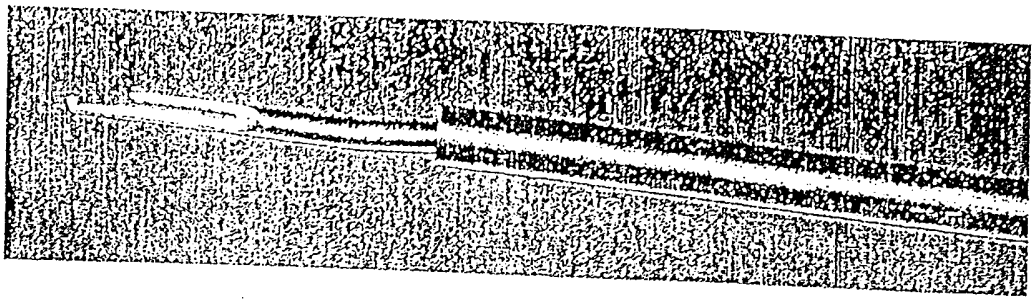

6.1 Sponge Nycomed
Не покрит
Покрит

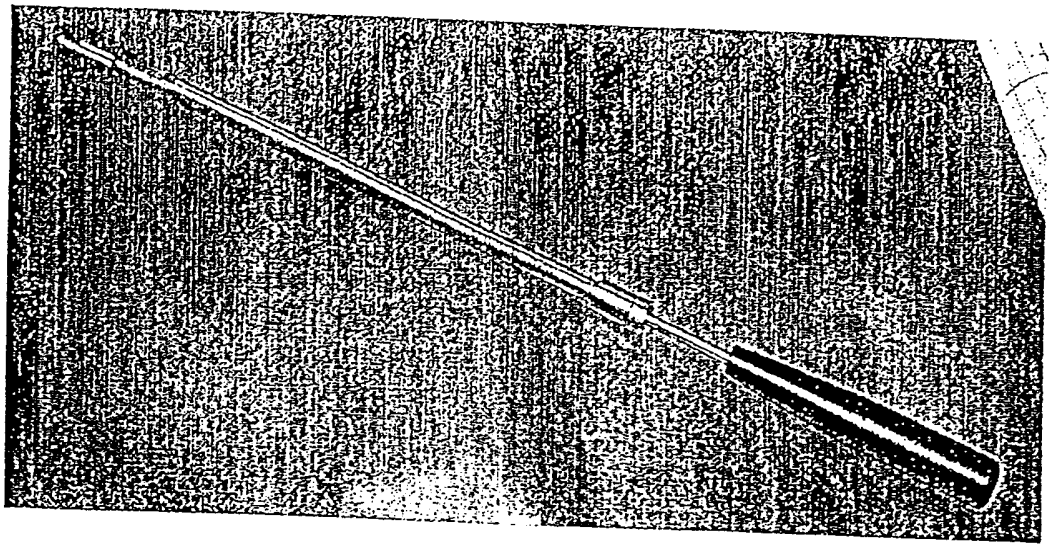

6.2 Покрит Sponge Nycomed
вкарване в ендоскопично оборудване

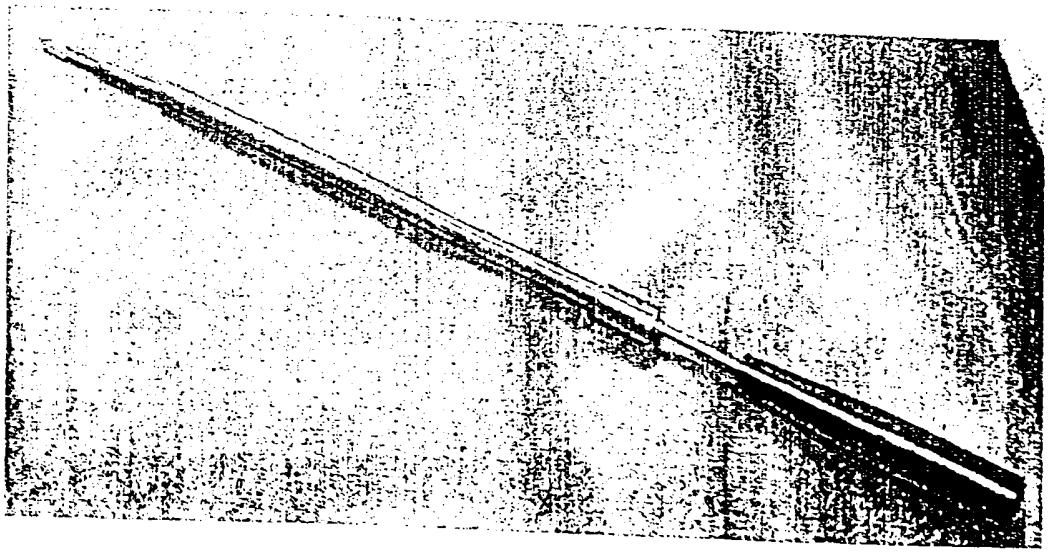

6.3. Покрит Sponge Nycomed
разгъване след вкарването в ендоскопичното оборудване


6.3 Покрит Sponge Nycomed
разгъване след вкарването в ендоскопичното оборудване

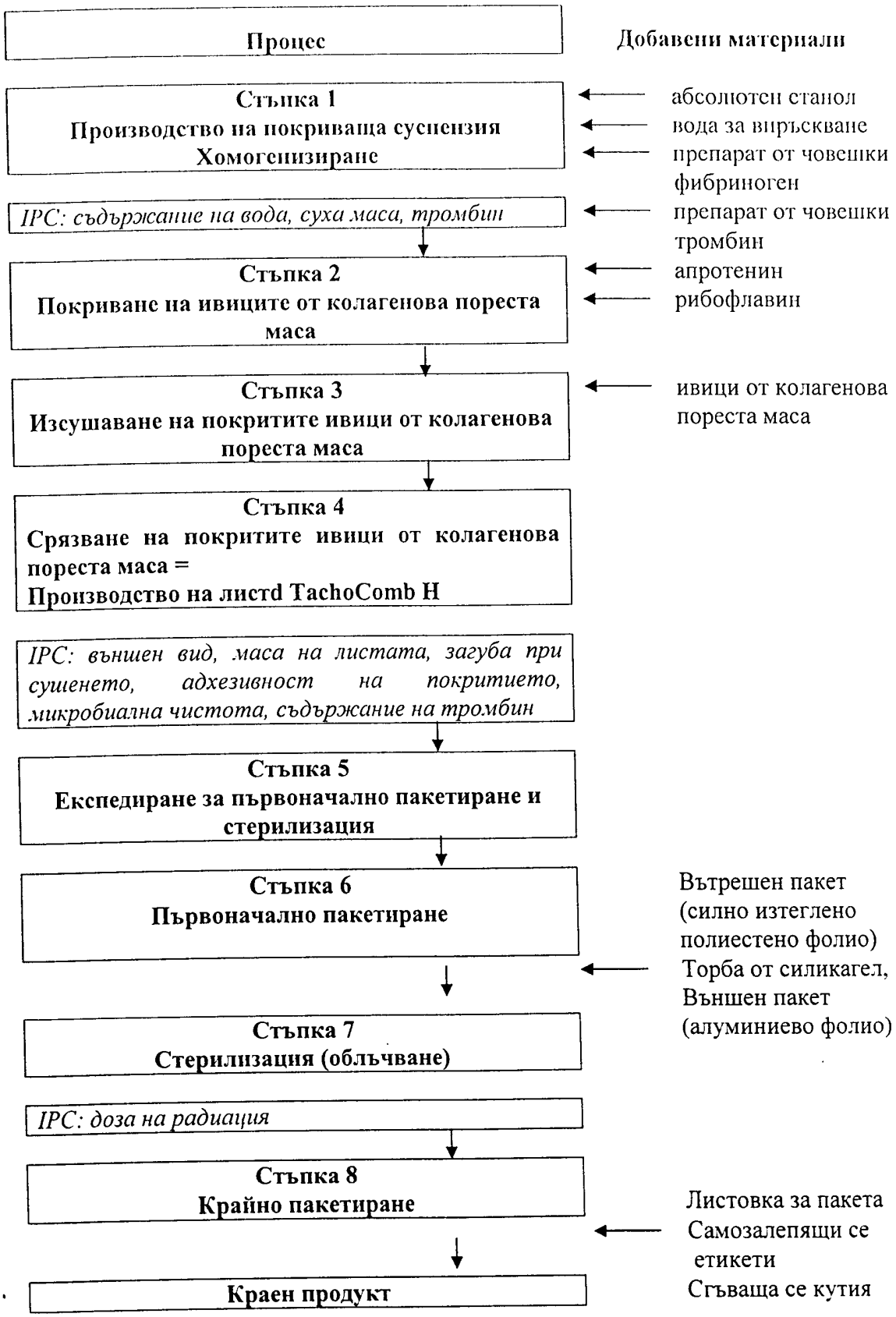
Фиг. 6





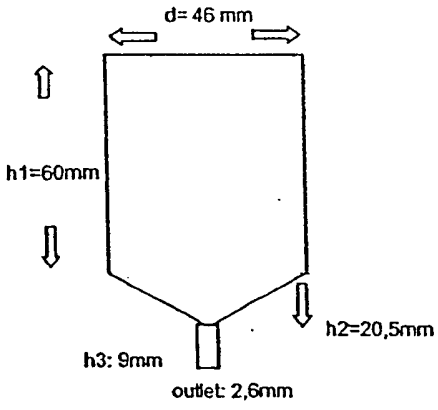


Фиг. 7

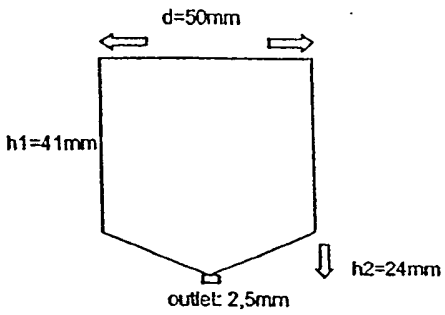

Процес
Добавени материали
Стъпка 1
Производство на покриваща суспензия
Хомогенизиране
абсолютен етанол
вода за впръскване
препарат от човешки фибриноген
IPC: съдържание на вода, суха маса, тромбин
препарат от човешки тромбин
Стъпка 2
Покриване на ивиците от колагенова пореста маса
апротенин
рибофлавин
Стъпка 3
Изсушаване на покритите ивици от колагенова пореста маса
ивици от колагенова пореста маса
Стъпка 4
Срязване на покритите ивици от колагенова пореста маса =
Производство на листd TachoComb H
IPC: външен вид, маса на листата, загуба при сушенето, адхезивност на покритието, микробиална чистота, съдържание на тромбин
Стъпка 5
Експедиране за първоначално пакетиране и стерилизация
Стъпка 6
Първоначално пакетиране
Вътрешен пакет (силно изтеглено полиестено фолио)
Торба от силикагел,
Външен пакет (алуминиево фолио)
Стъпка 7
Стерилизация (облъчване)
IPC: доза на радиация
Стъпка 8
Крайно пакетиране
Листовка за пакета
Самозалепящи се етикети
Сгъваща се кутия
Краен продукт

Фиг. 8

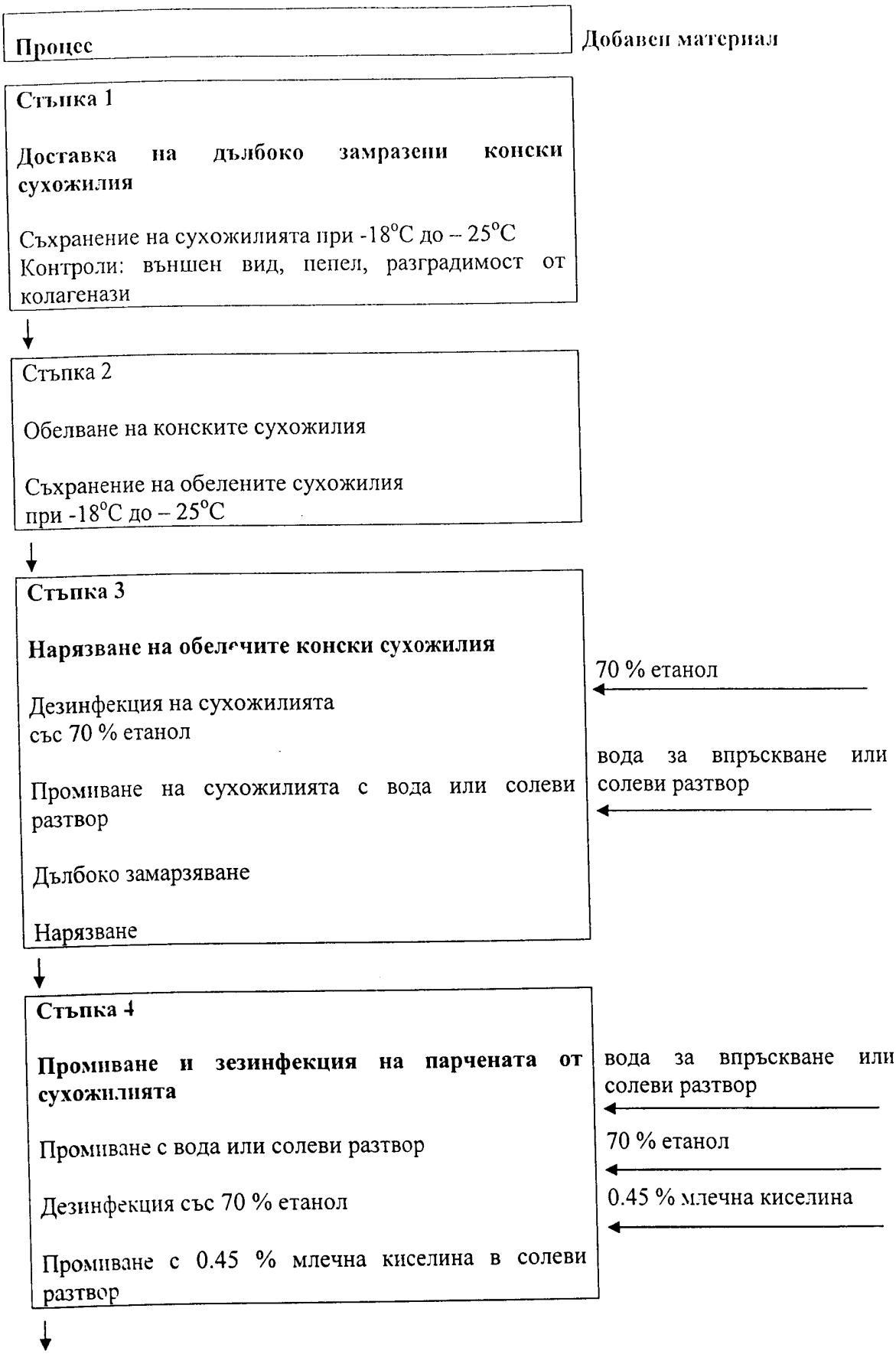
1. Високо качествена неръждаема стомана
празен обем: 110 ml



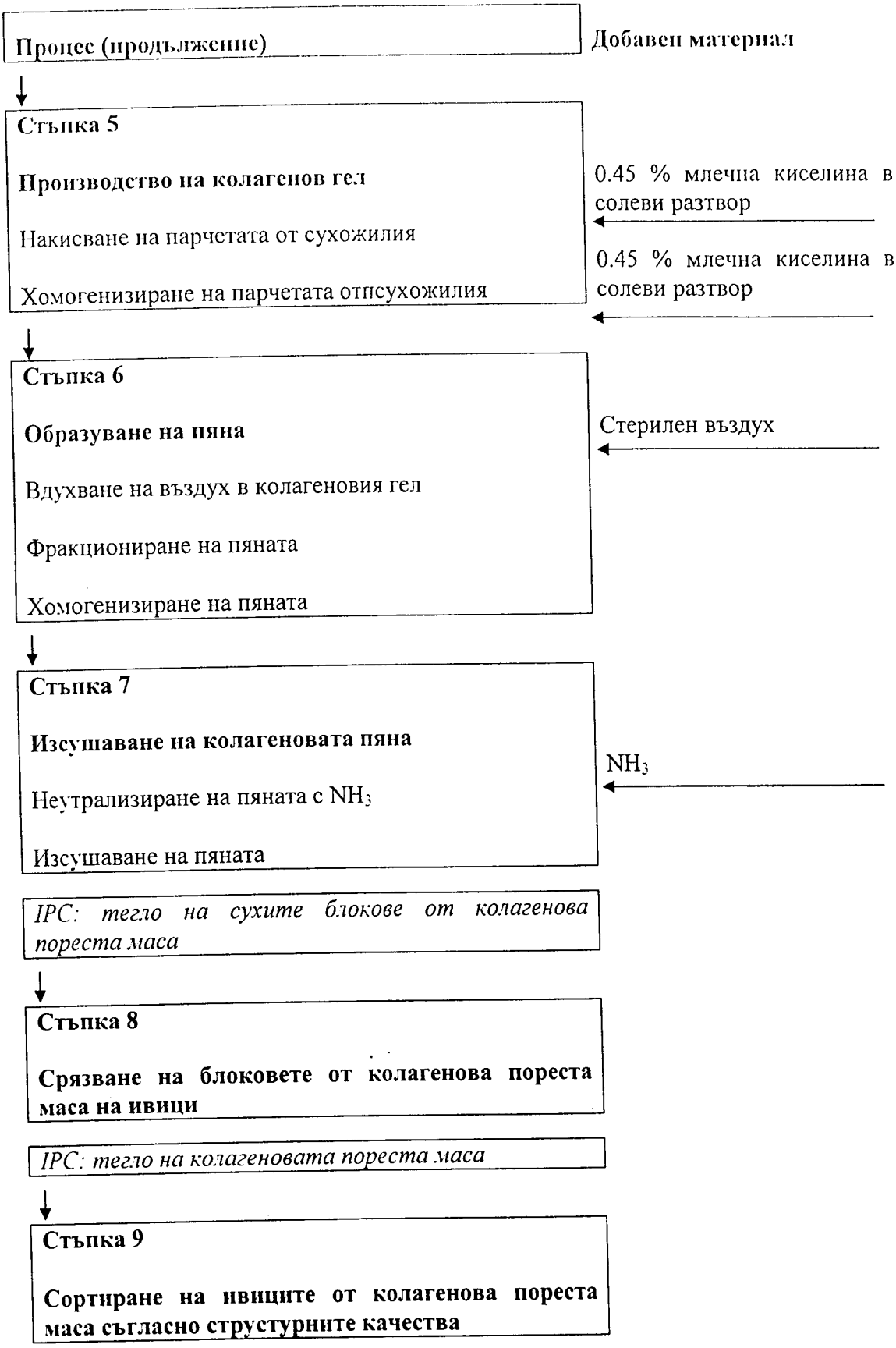
2. пластмаса
празен обем: 96 ml



Фиг. 9


Процес
Добавен материал
Стъпка 1
Доставка на дълбоко замразени конски сухожилия
Съхранение на сухожилията при -18°C до – 25°C
Контроли: външен вид, пепел, разградимост от колагенази
Стъпка 2
Обелване на конските сухожилия
Съхранение на обелените сухожилия при -18°C до – 25°C
Стъпка 3
Нарязване на обелените конски сухожилия
Дезинфекция на сухожилията със 70 % етанол
Промиване на сухожилията с вода или солеви разтвор
Дълбоко замарзяване
Нарязване
70 % етанол
вода за впръскване или солеви разтвор
Стъпка 4
Промиване и зезинфекция на парчената от сухожилията
Промиване с вода или солеви разтвор
Дезинфекция със 70 % етанол
Промиване с 0.45 % млечна киселина в солеви разтвор
вода за впръскване или солеви разтвор
70 % етанол
0.45 % млечна киселина

Фиг. 10


Процес (продължение)
Добавен материал
Стъпка 5
Производство на колагенов гел
Накисване на парчетата от сухожилия
Хомогенизиране на парчетата отпсухожилия
0.45 % млечна киселина в солеви разтвор
0.45 % млечна киселина в солеви разтвор
Стъпка 6
Образуване на пяна
Вдухване на въздух в колагеновия гел
Фракциониране на пяната
Хомогенизиране на пяната
Стерилен въздух
Стъпка 7
Изсушаване на колагеновата пяна
Неутрализиране на пяната с NH3
Изсушаване на пяната
NH3
IPC: тегло на сухите блокове от колагенова пореста маса
Стъпка 8
Срязване на блоковете от колагенова пореста маса на ивици
IPC: тегло на колагеновата пореста маса
Стъпка 9
Сортиране на ивиците от колагенова пореста маса съгласно струстурните качества

Фиг. 11