



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0206709-9 B1



(22) Data de Depósito: 25/01/2002

(45) Data da Concessão: 08/09/2015
(RPI 2331)

(54) Título: SUSPENSÃO, MÉTODOS PARA PREPARAR UMA SUSPENSÃO COM FIBRINOGENIO E TROMBINA, PARA REVESTIR UM VEÍCULO COM A REFERIDA SUSPENSÃO, E PARA SECAR A REFERIDA SUSPENSÃO

(51) Int.Cl.: A61L24/10; A61L15/32

(30) Prioridade Unionista: 25/01/2001 DK PA 2001 00135, 13/02/2001 DK PA 2001 00235, 13/02/2001 DK PA 2001 00235

(73) Titular(es): NYCOMED PHARMA AS, TAKEDA NYCOMED AS

(72) Inventor(es): Alfred Schaufler

“SUSPENSÃO, MÉTODOS PARA PREPARAR UMA SUSPENSÃO COM FIBRINOGENIO E TROMBINA, PARA REVESTIR UM VEÍCULO COM A REFERIDA SUSPENSÃO, E PARA SECAR A REFERIDA SUSPENSÃO”

5 CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a uma suspensão, que compreende fibrinogênio, trombina, um álcool e opcionalmente aprotinina. A invenção refere-se ainda a um método para a preparação de uma tal suspensão e a um método para o revestimento de um veículo com uma tal suspensão. O veículo pode ser um veículo de colágeno, tal como uma esponja de colágeno. A invenção refere-se ainda a um método para secar um veículo revestido, em particular de um veículo de colágeno revestido com uma suspensão de acordo com a invenção, e o veículo de colágeno revestido obtido deste modo tendo as substâncias ativas fixadas solidamente ao veículo.

O veículo de colágeno revestido pode ser usado como uma composição absorvível pronta para o uso para a colagem de tecido, vedação de tecido e hemostasia, que consiste essencialmente de um veículo revestido com componentes humanos solidamente fixados de cola de fibrina: fibrinogênio e trombina. Esta combinação fixa pode ser aplicada diretamente a, por exemplo, uma superfície de ferida. Mediante contato com o sangue, fluidos corpóreos ou solução salina fisiológica, o mecanismo deste sistema simula o estágio final da cascata de coagulação, na qual a trombina catalisa a conversão de fibrinogênio para fibrina e a ativação do fator XIII para fornecer XIII a. O fator XIII a, uma vez formado, estabiliza o coágulo de fibrina através de reticulação covalente.

Do mesmo modo que um adesivo de dois componentes, a superfície da ferida e o veículo são colados, de modo conjunto, através de

polimerização. Durante este processo, que dura aproximadamente 3 a 5 minutos, o veículo de colágeno revestido da invenção é preferivelmente pressionado sobre a área da ferida. Os componentes da composição da invenção são enzimaticamente degradados em cerca de 4- 6 meses, após a aplicação.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Colas de fibrina comerciais, que simulam o último estágio da cascata de coagulação, consistem de uma solução de fibrinogênio altamente concentrada para ser misturada com uma solução de trombina antes da aplicação à ferida cirúrgica existente. Estas misturas contêm um inibidor de fibrinólise, por exemplo, aprotinina ou ácido ϵ -aminocapróico, para evitar a dissolução prematura do coágulo de fibrina pela plasmina de enzima fibrinolítica. Estas colas de fibrina de dois componentes são valiosas em vários procedimentos cirúrgicos, mas podem ser lavadas antes que a hemostasia seja alcançada se a sangria for pesada. Além disso, as colas de fibrina de dois componentes requerem alguns estágios preparatórios, que incluem o descongelamento ou a dissolução. Deste modo, elas não são bastante práticas e são incômodas para trabalhar e é necessária experiência para o uso bem sucedido destas colas de fibrina.

Durante a última década, numerosos agentes de vedação de fibrina tornaram-se os métodos de escolha em cirurgia em uma quantidade de indicações. Entretanto, na maioria dos ensaios com colas de fibrina, uma lâmina cirúrgica de colágeno foi adicionalmente usada para aperfeiçoar as características hemostáticas e adesivas, indicando as suas desvantagens e o seu uso restrito pelos cirurgiões.

Colágeno tem sido usado como um agente hemostático desde os últimos anos sessenta. O colágeno é a proteína estrutural mais freqüente em todos os mamíferos. A proteína monomérica de aproximadamente 300 kDa (tropocolágeno) é covalentemente reticulada em sítios específicos. A

proteína madura é portanto insolúvel e forma fibrilas características com alta resistência à tração. Numerosas subclasses de colágeno foram descritas, a mais comum das quais é o colágeno tipo I, o principal tipo de colágeno na pele, tendões, ossos e córnea. O colágeno é uma proteína fibrosa, que consiste de uma hélice tripla com um comprimento de aproximadamente 290 nm. Cinco destas hélices triplas (moléculas de tropocolágeno) são escalonadas para formar uma microfibrila com um diâmetro de aproximadamente 3,6 nm. As microfibrilas possuem segmentos polares e não- polares, que são prontamente acessíveis para interações interfibrilares e intrafibrilares. Microfibrilas são compactadas em uma treliça tetragonal para formar subfibrilas com um diâmetro de cerca de 30 nm. Estas subfibrilas são então reunidas na fibrila de colágeno, a unidade básica do tecido conectivo, que possui um diâmetro de várias centenas de nm e é portanto visível à luz do microscópio como uma linha delgada.

O colágeno pode ser usado como um material para a vedação de feridas, possivelmente com um revestimento, que compreende uma cola de fibrina. Colas de fibrina, isto é a combinação de fibrinogênio, trombina e aprotinina, têm sido sucessivamente usados terapeuticamente durante muitos anos para a colagem de tecidos e nervos e para a vedação de superfícies quando existe uma sangria menor. Uma desvantagem das colas de fibrina tem sido a de que, no caso de sangria maior, a cola é usualmente lavada antes que polimerização de fibrina suficiente tenha ocorrido. Para superar este problema, os cirurgiões começaram a aplicar manualmente colas de fibrina líquida a veículos absorvíveis, tais que lã cirúrgica de colágeno.

A despeito do notável sucesso destas aplicações combinadas, este método não tem sido aplicado em uma larga escala, devido a algumas desvantagens. A preparação é relativamente trabalhosa, o método requer experiência e pessoal habilitado, e a preparação não está prontamente disponível em casos de emergência, o tempo requerido para a preparação

estando na faixa de 10 a 15 minutos. Estes fatores estimularam o desenvolvimento de um produto aperfeiçoado, resultando no desenvolvimento de uma combinação fixa de um veículo de colágeno coberto com um revestimento de fibrinogênio sólido, trombina sólida e aprotinina sólida, conforme exposto na EP 0 059 265.

A função do veículo de colágeno exposto na EP 0 059 265 é principalmente aquela de um veículo, que adsorve e confere estabilidade mecânica à preparação de coagulação, que é revestida.

Um produto que combina as características hemostáticas da cola de fibrina com os recursos de colágeno como um veículo foi desenvolvido e manufatura sob a marca registrada TachoComb®. TachoComb® é uma combinação fixa prontamente aplicável pronta para o uso de um adesivo de colágeno revestido com os seguintes componentes ativos de cola de fibrina: fibrinogênio humano, trombina bovina e aprotinina bovina.

TachoComb® tem sido vendido desde os primeiros anos da década de 1990 por Ntcomed Pharma e foi usado em ensaios clínicos na Europa em mais do que 2500 pacientes. O produto foi, além disso, usado em mais do que 700 pacientes no programa clínico japonês em uma ampla variedade de indicações, tais que ressecções de fígado e pulmão, cirurgia do trato biliar, do baço, renal e cirurgia pancreática, cirurgia de ENT, cirurgia ginecológica, e cirurgia vascular. Foi verificado que TachoComb® é eficaz e seguro.

Não foram relatadas complicações clínicas relacionadas à aplicação de TachoComb® no curso de ensaios clínicos realizados.

Na WO 97/ 37694 (Immuno France S. A) é exposto, no exemplo de referência 4, que quando um produto de colágeno ou TachoComb® foi usado, não houve hemostasia conduzindo à sangria até a morte; TachoComb® foi usado em contraste com hemostasia dentro de 5 minutos quando um produto de colágeno sem um teor de trombina, preparado

de acordo com a WO 97/ 37694, foi preparado.

Na WO96/40033, as desvantagens da trombina bovina usada em TachoComb® são enfatizadas pelo fato de que o uso da espécie bovina ou de outras espécies de trombina podem introduzir contaminação viral danosa e possível transmissão de doenças bovinas, tais como encefalite espongiforme bovina.

A US 6.177.126 B1 expõe um dispositivo e um processo para a produção de um material para a vedação e a cura de feridas. O dispositivo compreende um recipiente tendo, em sua parte do fundo, duas placas perfuradas, que são movíveis uma em relação à outra, de modo a permitir que uma suspensão contida no recipiente seja gotejada sobre um veículo, que se move através do recipiente sob a parte do fundo do mesmo.

DESCRIÇÃO DETALHADA

É um objeto da invenção prover uma suspensão aperfeiçoada, que é adequada, por exemplo, para o uso como um revestimento para um veículo de colágeno, com o objetivo de prover uma composição absorvível pronta para o uso para a colagem de tecido, vedação de tecido e hemostasia. É ainda um objeto da invenção prover um método para a produção de uma tal suspensão. É ainda um outro objeto da invenção prover um método aperfeiçoado de revestir um veículo, tal como um veículo de colágeno, com uma suspensão contendo fibrinogênio e trombina. Um outro objeto da invenção é o de prover um método para secar um revestimento úmido da suspensão aplicada ao veículo, com o objetivo de assegurar uma fixação satisfatória do revestimento ao veículo. É ainda um outro objeto da invenção prover uma esponja de colágeno revestida com um revestimento de fibrinogênio e de trombina, que simula, de modo eficiente, o estágio final da cascata de coagulação, uma vez que a esponja de colágeno revestida tenha sido colocada em contato com o sangue fluidos corpóreos ou solução salina fisiológica. Além disso, constitui um objeto da invenção prover uma esponja

de colágeno revestida com o revestimento acima, que possui uma fixação suficiente do revestimento à esponja de colágeno, isto é uma baixa abrasão satisfatório do revestimento quando submetido a impacto mecânico.

Em um primeiro aspecto, a invenção provê uma suspensão que compreende fibrinogênio, trombina e álcool, a suspensão tendo sido obtida por um método que compreende:

- prover uma mistura de fibrinogênio de fibrinogênio e um álcool,

- prover uma mistura de trombina de trombina e um álcool,

- misturar a mistura de fibrinogênio e a mistura de trombina,

de modo a obter a referida suspensão, a suspensão contendo partículas de fibrinogênio e de trombina, o diâmetro médio Folk Ward das partículas sendo de 25-100 μm , tal como de 35-80 μm , tal como de 40-78 μm , tal como de 40-75 μm , tal como de 45-60 μm , tal como de 47-55 μm , ou ainda tal como de 60-100 μm , tal como de 60-80 μm , tal como de 65-75 μm , preferivelmente dentro de $\pm 5 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 4 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 3,5 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 2 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 1,5 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 1 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 0,8 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 0,6 \mu\text{m}$, tal como dentro de $\pm 0,5 \mu\text{m}$. Foi verificado que uma tal suspensão, quando revestida sobre um veículo, tal como um veículo de colágeno, é eficiente em uma composição absorvível pronta para o uso para a colagem de tecido, vedação de tecido e hemostasia. A suspensão pode opcionalmente compreender aprotinina, adicionada à mistura de fibrinogênio como uma solução aquosa concentrada. Riboflavina pode ser adicionada como um colorante, de tal modo que a suspensão possa ser facilmente identificada, uma vez que ela tenha sido revestida sobre um veículo e secada.

Devido à propriedade física da suspensão, especialmente ao comportamento de sedimentação das partículas bastante grandes em um álcool, não é possível medição de viscosidade líquida padrão da suspensão.

Deste modo, um método alternativo para prover a medição da viscosidade foi implementado. Em consequência disto, a suspensão pode ter uma viscosidade, de tal modo que um volume de 90-120 ml da suspensão, quando influenciado apenas por gravidade, saia através de uma abertura do fundo de um recipiente tendo:

- uma porção cilíndrica com um diâmetro de 40-50 mm e uma altura interna de 55-65 mm, e
- uma porção base cônica com uma altura de 17-23 mm, em que a abertura do fundo é provida na extremidade inferior da porção cônica como uma abertura circular com um diâmetro de 2- 3 mm, em 25-75 segundos.

No caso de que o recipiente seja produzido a partir de aço, o recipiente e a abertura tendo as seguintes dimensões:

- diâmetro interno da porção cilíndrica : 46 mm,
- uma altura interna da porção cilíndrica: 60 mm,
- altura interna do fundo cônico: 20,5 mm,
- diâmetro interno da abertura do fundo: 2, 6 mm,
- comprimento da passagem conectada à abertura do fundo : 9 mm, ou

no caso em que o recipiente seja feito de um material plástico, o recipiente e a abertura tendo as seguinte dimensões:

- diâmetro interno da porção cilíndrica: 50 mm,
- altura interna da porção cilíndrica : 41 mm,
- altura interna do fundo cônico: 24 mm,
- diâmetro interno da abertura do fundo: 2,5 mm,
- comprimento da passagem conectada à abertura do fundo: menor que 5 mm,

o tempo de saída acima para a suspensão pode ser de 25-60 segundos, tal como de 25-50 segundos, tal como de 30-50 segundos, tal como

de 32-44 segundos, tal como de 34-38 segundos.

Os parâmetros e as características da suspensão expostos abaixo em conexão com o método do segundo aspecto da invenção também se aplicam à suspensão do primeiro aspecto da invenção.

5 Em um segundo aspecto, a invenção provê um método para preparar uma suspensão com fibrinogênio e trombina, que compreende:

- prover uma mistura de fibrinogênio e um álcool,
- prover uma mistura de trombina e um álcool,
- misturar a mistura de fibrinogênio e a mistura de trombina,

10 de modo a obter a referida suspensão,

 de modo a obter uma suspensão contendo partículas de fibrinogênio e de trombina, o diâmetro médio de Folk Ward das partículas sendo de 25- 100 μm . Os parâmetros e as características expostos acima em conexão com a suspensão de acordo com a presente invenção também se aplicam ao método do segundo aspecto da invenção.

15 No estágio que provê a mistura de fibrinogênio, o fibrinogênio pode ser previamente micronizado através de um método adequado, por exemplo, peneiramento, para a obtenção de partículas tendo um diâmetro médio de Folk Ward de 25- 100 μm . O fibrinogênio micronizado pode, por exemplo, ser agitado no álcool para a obtenção da referida mistura de fibrinogênio. No estágio de provimento da mistura, o fibrinogênio pode ser também diretamente homogeneizado em um álcool, preferivelmente em uma temperatura de entre 0°C e 12°C, tal como entre 2°C e 8°C. A temperatura pode ser reduzida durante a homogeneização. O estágio de mistura da
20 mistura de fibrinogênio e da mistura de trombina pode ser executado sob agitação da suspensão, em cujo caso a agitação pode ser executada em uma temperatura de entre 0°C e 12°C, tal como entre 2° e 8°C.

 A trombina pode compreender trombina humana, trombina bovina, ou trombina recombinante, e o fibrinogênio pode compreender

fibrinogênio humano ou fibrinogênio recombinante. O álcool pode ser um álcool orgânico, tal como metanol, etanol, propanol, isopropanol, tal como um álcool orgânico anidro, um etanol anidro, um propanol anidro ou um isopropanol anidro. Fibrinogênio humano pode ser suprido em uma forma
5 secada por congelamento sólida.

Em um terceiro aspecto, a invenção provê um método para o revestimento de um veículo com uma suspensão que compreende fibrinogênio e trombina, em que a suspensão foi derivada a partir de um método, que compreende os estágios de:

- 10 - prover uma mistura de fibrinogênio de fibrinogênio e um álcool,
- prover uma mistura de trombina de trombina e um álcool,
- misturar a mistura de fibrinogênio e a mistura de trombina, de modo a obter a referida suspensão,
- 15 de modo a obter uma suspensão contendo partículas de fibrinogênio e de trombina, o diâmetro médio de Folk Ward das partículas sendo de 25-100 μm ,
- o método para revestir compreendo:
- prover a suspensão de fibrinogênio, trombina e um álcool
- 20 em um local próximo ao veículo,
- aplicar a referida suspensão a uma superfície de revestimento do veículo.

O veículo pode ser um veículo de colágeno, tal como uma esponja de colágeno. A esponja de colágeno pode preencher pelo menos um e
25 preferivelmente uma pluralidade dos seguintes critérios:

- valor de pH entre 5,0 e 6,0,
- teor de ácido láctico de, no máximo, 5%,
- teor de amônio de, no máximo, 0,5%,
- teor de proteína solúvel, calculado como teor de albumina

de, no máximo 0,5%,

- teor de cinzas de sulfato de, no máximo, 1,0 %,
- teor de metal pesado de, no máximo, 20 ppm,
- pureza microbiológica de, no máximo, 10^3 CFU/g,
- 5 - teor de colágeno de 75 a 100%,
- densidade de 1 a 10 mg/ cm³,
- módulo de elasticidade na faixa de 5-100 N/ cm².

A esponja de colágeno pode ser derivada a partir de um método, que compreende os estágios de:

- 10 - preparar um gel de colágeno,
- misturar ar ao interior do gel de colágeno, de modo a obter uma espuma de colágeno,
- secar a espuma de colágeno, de modo a obter um bloco seco do veículo tendo câmaras no mesmo,
- 15 - isolar, a partir do bloco de esponja de colágeno, partes de esponja com um diâmetro de câmara maior que 0, 75 mm e menor que 4 mm, ou com uma câmara de dimensão diagonal média de 3 mm.

No presente contexto, o termo “diâmetro da câmara” deve ser entendido como a maior distância parede a parede em linha reta em uma câmara, isto é a maior distância em linha reta diagonal de uma câmara. As câmaras podem ser de uma forma poligonal, tal como de uma forma octogonal. Foi verificado que um diâmetro de câmara maior que 0,75 mm e menor que 4 mm, ou um diâmetro de câmara de no máximo 3 mm, torna a esponja de colágeno particularmente útil para que seja revestida com uma suspensão contendo fibrinogênio e trombina. Foi ainda verificado que uma

20 esponja de colágeno, preparada pelo método acima, é vedada a ar e a líquido no sentido de que, uma vez que a esponja de colágeno tenha sido aplica a uma ferida, ela não irá permitir que o ar ou o líquido sejam embebidos através da esponja de colágeno.

25

O estágio de aplicação da suspensão ao veículo pode ser executado em uma temperatura ambiente de 0° -12°C, tal como de 1° - 10°C, tal como de 2° - 8°C. Além disso, o estágio de aplicação da suspensão ao veículo pode ser executado em uma atmosfera ambiente com uma umidade
5 relativa de 75-99%, tal como de 85-95%. Um volume de 0,08 ml-0,12 ml de suspensão é preferivelmente aplicado ao veículo, por cm² da superfície de revestimento. Para assegurar uma eficácia homogênea do veículo revestido final a través de toda a sua superfície, a suspensão é preferivelmente distribuída uniformemente sobre uma determinada largura da superfície de
10 revestimento, de tal modo que a massa de fibrinogênio por unidade de área da superfície de revestimento varie no máximo 25%, tal como no máximo 20%, tal como no máximo 15%, tal como no máximo 10%.

Um aplicador, que compreende pelo menos um jato, pode ser usado para a aplicação da suspensão ao veículo, de tal modo que a suspensão
15 seja forçada através do jato, ao mesmo tempo em que o veículo e o jato são movidos, um em relação ao outro. O aplicador pode compreender ou ser disposto próximo a uma correia transportadora, uma unidade de agitação conectada a uma bomba ou um sistema de bombas, ou outro equipamento de suprimento, e um jato ou sistema de jatos, que é movido transversalmente, por
20 exemplo, em ângulos retos em relação à correia transportadora. Dependendo das características específicas dos meios, o jato ou sistema de jatos possui várias formas e tamanhos. O jato ou sistema de jatos pode ser conectado ao equipamento de suprimento através dos tubos. O equipamento e suprimento pode promover o meio de revestimento a partir da unidade de agitação para os
25 sistemas de jato. Durante o processo de revestimento, o sistema de jato pode ser movido através do veículo. Em sua posição de repouso, ela pode ser retido sobre um lado da correia transportadora. O processo de revestimento pode ser iniciado por uma barreira luminosa, que detecta a presença do veículo sobre a correia transportadora, e pode ser igualmente interrompida por um sinal de

barreira luminosa. Um tal aplicador confere um volume morto relativamente pequeno, e é fácil de manipular, inclusive fácil de limpar. Além disso, ele confere a possibilidade de interromper o processo de revestimento a qualquer tempo, é aplicável em uma faixa de viscosidade relativamente ampla, e ele
5 confere um revestimento homogêneo.

De modo alternativo, ou adicional, um aplicador, que compreende um recipiente tendo uma pluralidade de saídas separadas, pode ser usado para a aplicação da suspensão ao veículo, pelo que a suspensão é forçada a partir do recipiente através das saídas sobre o veículo. O último dos
10 tipos de aplicadores está sob a forma de um recipiente tendo placas móveis em seu fundo, conforme exposto na patente US Nº. 6. 177.126 B1, que é incorporada a esta, em sua totalidade, a título referencial. Devido á distribuição uniforme conferida pelos dispositivos da US 6.177.126 B1, um daqueles dispositivos é aplicado em uma modalidade preferida da invenção. O
15 veículo e o aplicador são preferivelmente movidos, um em relação ao outro, em uma direção de transporte, enquanto a suspensão está sendo aplicada ao veículo, pelo que a taxa de movimento pode ser de 0,025 m/s - 0,05 m/s, tal como de 0,03-0,04 m/s. A taxa de fluxo da suspensão aplicada ao veículo através do aplicador pode ser de 400- 600 ml/ min., tal como de 470-550 ml/
20 min., tal como de 495-505 ml/ min.

Em um quarto aspecto, a invenção refere-se a um método para secar uma suspensão de fibrinogênio, trombina e um álcool aplicado como um revestimento úmido sobre uma superfície de revestimento do veículo, o método compreendendo o estágio de submeter o veículo revestido a uma
25 pressão abaixo de 1000 mbar, de modo a obter uma superfície de revestimento seca sobre o veículo, de modo a fixar o revestimento seco à superfície de revestimento. Pela aplicação de um vácuo e pelo uso do vácuo no processo de secagem, podem ser mantidas uma baixa temperatura (2-10°C)) e uma unidade relativa (80-95%), pelo que a estrutura e as

propriedades físicas do veículo, em particular de um veículo sob a forma de um colágeno, tal como uma esponja de colágeno, assim como do fibrinogênio e da trombina, podem ser mantidas.

A suspensão pode ser obtida por:

- 5 - prover uma mistura de fibrinogênio de fibrinogênio e um álcool,
- prover uma mistura de trombina de trombina e um álcool,
- misturar a mistura de fibrinogênio e a mistura de trombina, de modo a obter a referida suspensão,
- 10 e o veículo pode ser uma esponja de colágeno, que foi derivada a partir de um método, que compreender os estágios de:
- preparar um gel de colágeno,
- misturar ar no gel de colágeno, de modo a obter uma espuma de colágeno,
- 15 - secar a espuma de colágeno, de modo a obter um bloco seco de esponja de colágeno tendo câmaras no mesmo,
- isolar, a partir do bloco de esponja de colágeno, partes de esponja com um diâmetro de câmara maior que 0,75 mm e menor que 4 mm, ou com uma câmara com dimensão diagonal média de 3 mm,
- 20 e o revestimento pode ser aplicado à esponja de colágeno por:
- prover a suspensão de fibrinogênio, trombina e um álcool em um local próximo à esponja de colágeno,
- aplicar a suspensão à superfície de revestimento da esponja de colágeno.

- 25 Os métodos para preparar a esponja de colágeno e para preparar a suspensão são discutidos acima em conexão com os métodos do segundo e terceiro aspectos da invenção.

Durante a secagem, o veículo revestido pode ser submetido à referida pressão em uma temperatura de 0°C - 12°C, tal como de 1°C - 10°C,

tal como de 2°C - 8°C, e/ ou em uma umidade relativa da atmosfera circundante de 75 -99%, tal como de 85 - 95%. Um fluxo de ar pode passar através do veículo revestido durante a secagem, de modo a retirar o vapor a partir do veículo revestido.

5 De modo a que a secagem seja completa, o veículo revestido é preferivelmente mantido nas referidas condições durante um período de pelo menos 1 hora, tal como de pelo menos 2 horas, tal como de pelo menos 4 horas.

10 Devido ao encolhimento, a área da superfície de revestimento seca é menor do que o tamanho da área da superfície de revestimento úmida. No método de acordo com a invenção, a área da superfície de revestimento seca é de pelo menos 5% da área da superfície de revestimento úmida, tal como de pelo menos 80%.

15 De modo a manter os componentes ativos estáveis quando o veículo revestido é armazenado, o veículo e a superfície de revestimento seca, em conjunto, possuem preferivelmente um teor de água não excedente a 12% em peso, tal como não excedente a 8%, em peso.

20 Quaisquer parâmetros e características da suspensão e da esponja de colágeno, incluindo os métodos de manufatura, discutidos em conexão com os outros aspectos da invenção, também se aplicam ao método do quarto aspecto da invenção.

25 Em um quinto aspecto, a invenção refere-se a uma esponja de colágeno revestida cm um revestimento de fibrinogênio e trombina, em que a esponja de colágeno revestida foi obtida através de um método, que compreende os estágios de:

- prover uma esponja de colágeno através de um método, que compreende:
- preparar um gel de colágeno,
- misturar o ar no gel de colágeno, de modo a obter uma

espuma de colágeno,

- secar a espuma de colágeno, de modo a obter um bloco seco de esponja de colágeno tendo câmaras no mesmo,

- isolar, a partir do bloco de esponja de colágeno, partes de
5 esponja com um diâmetro de câmara

- maior que 0,75 mm e menor que 4 mm, ou com câmaras de uma dimensão diagonal média de 3 mm,

- aplicar uma suspensão de fibrinogênio, trombina e um álcool a uma superfície de revestimento da esponja de colágeno, e

- 10 - submeter o veículo revestido a uma pressão abaixo de 1000 mbar, de modo a obter uma superfície de revestimento seca sobre o veículo, de modo a fixar o revestimento seco à superfície de revestimento, a esponja de colágeno revestida tendo pelo menos uma das seguintes propriedades:

- 15 - a suspensão é distribuída uniformemente sobre uma determinada largura da superfície de revestimento, de tal modo que a massa de fibrinogênio por unidade de área da superfície de revestimento varie, no máximo, 25%,

- a abrasão do revestimento é inferior a 2,0 mg/ cm², quando
20 uma amostra do material revestido é agitada em um agitador Vibrofix em uma frequência de 800- 1200 rpm durante 2 minutos.

A distribuição uniforme da suspensão sobre a superfície de revestimento melhora a eficácia da superfície revestida quando aplicada, por exemplo, para a colagem de tecido, vedação de tecido ou hemostasia. A baixa
25 abrasão do revestimento assegura que a esponja de colágeno revestida pode ser transportadas, apanhada pelas mãos de um cirurgião e/ ou por um instrumento cirúrgico, ou manipulada de outro modo, sem perder a suspensão seca, isto é, o revestimento. A formulação de fibrinogênio representa aproximadamente 60-90% do peso total da esponja de colágeno revestida. A

formulação contém usualmente cerca de 50-60% do peso das seguintes substâncias : sais, aminoácidos e albumina. Fibrinogênio isoladamente constitui de 4-50% da formulação.

5 A suspensão possui preferivelmente um teor de água de 20- 80 mg/ml, tal como de 24-32 mg/ ml. O teor de trombina da suspensão pode ser de 20-40 I.U./ ml, tal como de 24-33 I.U./ ml. Em média, o teor de trombina após o revestimento pode ser de 2- 4 I.U./ cm² sobre a superfície do revestimento, tal como de 2,3- 3,3 I.U./ cm². Pode ser desejável que o teor de trombina não exceda a 5. I.U./ cm² em qualquer local da superfície de
10 revestimento, ou que ele não exceda 3, 8 I.U./ cm² em qualquer local da superfície de revestimento.

A pureza microbiológica do veículo revestido é preferivelmente no máximo de 4 CFU/ cm², tal como de, no máximo, 2,25 CFU/ cm².

15 Em um outro aspecto independente, a invenção refere-se ao uso da esponja de colágeno acima mencionada para a colagem do tecido, vedação do tecido e hemostasia.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

20 As figuras 1-7 ilustram vários veículos revestidos e instrumentos para a sua aplicação, conforme discutido no Exemplo VIII.

A figura 8 é um fluxograma, que ilustra uma cadeia de subprocessos a partir da produção de uma suspensão para a compactação de uma esponja de colágeno,

25 A figura 9 é uma ilustração de dispositivos usados na obtenção de uma medida para a viscosidade da suspensão,

As figuras 10 e 11 contêm uma fluxograma, que ilustra um processo para a obtenção de uma esponja de colágeno.

DESCRIÇÃO DETALHADA DOS DESENHOS

Modalidades preferidas dos métodos e produtos da presente

invenção são descritas abaixo, vide também a Figura 8.

Uma suspensão, que compreende fibrinogênio, trombina e um álcool pode ser produzida pelo método para produzir uma suspensão de acordo com a invenção, como se segue:

5 Fibrinogênio é homogeneizado em etanol a 100%, a de 2-8°C, resultando em uma mistura de fibrinogênio e álcool, a mistura constituindo aproximadamente 80% do volume do volume da suspensão final. Então, riboflavina é adicionada. A mistura é subsequente agitada em um vaso fechado, até o processamento ulterior do mesmo.

10 Trombina humana ou bovina é dissolvida com água para injeção. A solução é adicionada em uma quantidade de 35 vezes etanol a 100%, a de 0 -8°C. A suspensão de trombina assim alcançada é homogeneizada a de 0-8°C por de 80- 100°C.

15 Antes que as misturas de fibrinogênio e trombina sejam misturadas, uma solução de aprotinina e água para injeção é adicionada à mistura de fibrinogênio. Então, a mistura de trombina é adicionada à mistura de fibrinogênio. O volume final da suspensão é preparado pela adição de etanol a 100%, a de 2 -8°C.

20 Métodos, que compreendem os estágios acima, são a seguir referidos como “métodos do grupo I”.

Como uma alternativa, o método para a produção de uma suspensão de acordo com a invenção, que compreende fibrinogênio, trombina e um álcool, compreende os seguintes estágios:

25 A mistura de fibrinogênio é obtida pela adição de fibrinogênio previamente micronizado de um tamanho de partícula de diâmetro médio de Folk Ward de 35- 80 μ m e riboflavina, enquanto sob agitação em etanol a 94-97%, a de 2-8°C. A mistura assim resultante de riboflavina e etanol constitui aproximadamente 0-80% do volume da suspensão final. A mistura de fibrinogênio é adicionalmente agitada em um vaso fechado até o

processamento ulterior do mesmo.

A mistura de trombina é obtida pela adição de trombina a 94-97% de etanol a - 30°C. A mistura de trombina assim alcançada é homogeneizada durante 80 -100 segundos. Alternativamente, a mistura de trombina é obtida pela dissolução de trombina em água para injeção, e subsequente a solução de trombina assim obtida é lentamente adicionada a de 17 - 35 vezes a quantidade de etanol a 100%, a -30°C. A suspensão é homogeneizada durante 80 -100 segundos.

Um equipamento UltraTurrax de IKA pode ser usado como um equipamento de homogeneização. A mistura de trombina é adicionada à mistura contendo fibrinogênio e riboflavina. É adicionado etanol a 94- 97%, a de 2-8°C.

Métodos compreendendo os estágios acima são a seguir referidos como a “ métodos do grupo II”.

Os métodos do grupo I e grupo II podem resultar em uma suspensão de acordo com a invenção, preferivelmente com as seguintes características:

- Concentração de etanol: 94 - 97%
- Tempo de saída medido com o aparelho ilustrado à esquerda na Figura 9 : 31, 5 - 48 segundos
- Comportamento de sedimentação: Volume de partículas sólidas em percentual do volume total:
 - 5 minutos após o início do teste: mais que 85%
 - 24 horas após o início do teste: 50-80%
- Tamanho de partícula : diâmetro médio de Folk Ward 35-80 µm

Em uma modalidade do método para secar acordo com a invenção, as tiras de esponja de colágeno são incubadas a de 2-8°C a de 80-91% de umidade relativa durante 2-30 horas, antes do revestimento de um

veículo sob a forma de uma esponja de colágeno. O dispositivo para a aplicação da suspensão à esponja de colágeno é descrito acima. Uma vez revestidas, as tiras de esponja de colágeno são incubadas a de 2-8°C e de 80-90% de umidade relativa durante 8- 60 minutos. As tiras de esponja de colágeno revestidas são secadas em uma câmara de secagem a vácuo em uma temperatura de 2-8°C, 80-90% de umidade relativa. Um fluxo de ar é passado sobre as tiras de colágeno através de uma válvula de aspiração, em uma taxa de fluxo de ar de 1,2- 40 m³ por hora. É aplicado um vácuo de 30-60 mbar, isto é uma pressão absoluta de aproximadamente 970 mbar, dependendo da pressão atmosférica e as tiras de colágeno revestidas são secadas durante 2- 5 horas.

Uma medida da viscosidade da suspensão é obtida pelo uso de um dos dispositivos ilustrados na Figura 9 e descritos acima. O dispositivo mostrado à esquerda na Figura 9 é produzido a partir de aço, e o recipiente e a abertura do fundo possuem as seguintes dimensões:

- diâmetro interno da porção cilíndrica : 46 mm,
- uma altura interna da porção cilíndrica: 60 mm,
- altura interna do fundo cônico : 20,5 mm,
- diâmetro interno da abertura do fundo : 2, 6 mm,
- comprimento da passagem conectada à abertura do fundo : 9 mm.

O dispositivo mostrado à direita na Figura 9 é produzido a partir de um material plástico e o recipiente e a abertura do fundo possuem as seguintes dimensões:

- diâmetro interno da porção cilíndrica: 50 mm,
- altura interna da porção cilíndrica: 41 mm,
- altura interna do fundo cônico: 24 mm,
- diâmetro interno da abertura do fundo : 2, 5 mm,
- comprimento da passagem conectada à abertura do fundo:

menor que 5 mm.

Matérias-primas de fibrinogênio:

Componente	% de substância total		
	Form. A	Form. B	Form. C
Fibrinogênio humano	36-52	42-27	36-52
Albumina humana	16-24	20-24	16-24
Proteína total	52-76	62-71	52-76
Cloreto de sódio	8-14	0	8-14
Citrato trissódico	2-4	1-3	2-4
Arginina (cloridreto)	15-26	15-21	15-26
Glicina	0	6-9	1-2
Histidina	0	3-5	0
Sacarose	0	0	1-2
Umidade residual	≤2	2-4	≤1,5

Matérias-primas de Trombina:

Formulação	Atividade (I.U./ mg substância)	Unidade Residual	Aditivos de Substâncias Adicionais
Trombina Humana A	360-540	≤3%	Albumina humana, cloreto de sódio, citrato de sódio
Trombina bovina B	> 400	≤3%	Albumina bovina, cloreto de sódio, citrato de sódio
Trombina Humana B	7-10	≤3%	Albumina humana, cloreto de sódio, citrato de sódio
Trombina humana C	35-60	≤3%	Albumina humana, cloreto de sódio, acetato de sódio, glicina

Os Exemplos I-VI abaixo ilustram vários procedimentos para a
5 preparação de uma esponja de colágeno revestida com um revestimento de
fibrinogênio e trombina de acordo com a invenção. Os procedimentos
incluem métodos de preparação de uma suspensão de acordo com a invenção,

Resultando, nas modalidades abaixo descritas, em suspensões
de acordo com a invenção. Além disso, métodos para o revestimento de
10 acordo com a invenção e métodos para secagem de acordo com a invenção
são aplicados.

EXEMPLO I:

No presente exemplo, a suspensão contém a formulação de
fibrinogênio humano B e a formulação de trombina humana B.

15 Um volume de suspensão final de 3500 ml foi obtido pela
aplicação das seguintes quantidades e parâmetros:

Mistura de fibrinogênio:

- 2800 ml de etanol (94% a 2°C-8°C)
- 492,5 g da formulação de fibrinogênio humano B
- 493,5 mg de riboflavina

5 A mistura de fibrinogênio foi armazenada por 20 horas a de 2-8°C, enquanto sob agitação.

Mistura de trombina:

- 100 ml de etanol (100% a -30°C)
- 12,27 g da formulação de trombina humana B

10 A mistura de trombina foi armazenada por 18 horas a -30°C.

Suspensão:

- 157 ml da mistura de trombina foram adicionados à mistura de fibrinogênio.

15 - Etanol a 94% a de 2-8°C foi adicionado para preencher o volume de suspensão final de 3500 ml.

Características da Suspensão:

1. Concentração de etanol: 94,3%

2. Tempo de saída medido com o aparelho de aço ilustrado à esquerda na Figura 9: 36,5 segundos

20 3. Comportamento de sedimentação:

a) volume de sedimentação 5 minutos após o início: 98% do volume de teste,

b) volume de sedimentação 24 horas após o início: 64% do volume de teste.

25 1. Tamanho da partícula (diâmetro médio de Folk Ward): 56,4 +/- 1,3 µm

Veículos sob a forma de tiras de colágeno foram revestidos com a suspensão. Primeiro, 48 tiras de esponja de colágeno foram previamente incubadas em uma câmara de resfriamento, nas seguintes

condições:

- Temperatura : 5,2°C
- Umidade absoluta : 4,8 g de água por kg de ar
- Tempo de incubação: 18,5 horas

5 Um aplicador conforme exposto na patente US N ° 6. 177.126 B1 foi usado para revestir as tiras de colágeno com a suspensão.

As tiras de esponja de colágeno revestidas foram secadas como se segue:

10 As tiras revestidas foram incubadas durante 15 minutos em uma temperatura de 5,2°C e uma umidade absoluta de 4, 8 g de água por kg de ar.

As tiras revestidas foram então secadas em uma câmara de secagem a vácuo nas seguintes condições de secagem:

- Condição do ar: temperatura de 5,2°C, umidade absoluta
- 15 de 4,8 g de água por kg de ar
- Fluxo de ar através da válvula de aspiração: 23 m³ por hora
- Vácuo: 59 mbar
- Tempo de secagem : 4 horas

20 A abrasão do revestimento obtido sobre as tiras de esponja de colágeno foi aproximadamente de 0,2 mg/cm², quando agitadas em um agitador Vibrofix em uma frequência de 800- 1200 rpm durante 2 minutos.

EXEMPLO II:

25 No presente exemplo, a suspensão contém a formulação de fibrinogênio humano C e a formulação de trombina humana C.

Um volume de suspensão final de 3500 ml foi obtido pela aplicação das seguintes quantidades e parâmetros:

Mistura de fibrinogênio:

- 2252 ml de etanol (94%, a de 2°C-8°C)

- 370,7 g da formulação de fibrinogênio humano C
- 493,5 mg de riboflavina

A mistura de fibrinogênio foi armazenada por 20 horas a de 2-8°C, enquanto sob agitação.

5 Mistura de trombina:

- 188 ml de etanol (100% a -30°C)
- 12 frascos da formulação de trombina humana C / 12 ml

de água para injeção.

A mistura de trombina foi armazenada por 8-16 horas a - 30°C.

10 Suspensão:

- 164,5 ml da mistura de trombina foram adicionados à mistura de fibrinogênio.

- Etanol a 94%, a de 2- 8°C foi adicionado para preencher o volume da suspensão final de 3500 ml.

15 Características da suspensão:

1. Concentração de etanol : 94,1%
2. Tempo de saída com o aparelho de aço ilustrado na Fig.: 32,

8 segundos

2. Comportamento de sedimentação:

20 a) volume de sedimentação 5 minutos após o início: 94% do volume de teste,

b) volume de sedimentação 24 horas após o início: 71% do volume de teste.

3. Tamanho da partícula (diâmetro médio de Folk Ward) : 49,2

25 +/- 0,93 μm .

Veículos sob a forma de tiras de colágeno foram revestidos com a suspensão. Primeiro, 48 tiras de esponja de colágeno foram previamente incubadas em uma câmara de resfriamento, nas seguintes condições:

- Temperatura : 4,8°C
- Umidade relativa : 90,3%
- Tempo de incubação : 22, 25 horas

Um aplicador, conforme exposto na Patente US N° 6.177.126

5 B1 foi usado para revestir as tiras da esponja de colágeno com a suspensão.

As tiras da esponja de colágeno revestidas foram secadas como se segue:

As tiras revestidas foram incubadas durante 13 minutos em uma temperatura de 4,9°C e uma umidade absoluta de 4,8 g de água por kg de
10 ar.

As tiras revestidas foram então secadas em uma câmara de secagem a vácuo nas seguintes condições de secagem:

- Condição do ar: temperatura de 5,2°C, umidade absoluta de 4,9 g de água por kg de ar

15 - Fluxo de ar através da válvula de aspiração: 25 m³ por hora

- Vácuo : 60 mbar

- Tempo de secagem: 4 horas

A abrasão do revestimento obtido sobre as tiras da esponja de colágeno foi aproximadamente de 0,2 mg/ cm² quando agitadas em um agitador Vibrofix em uma frequência de 800 -1200 rpm durante 2 minutos.

EXEMPLO III:

No presente exemplo, a suspensão contém a formulação de fibrinogênio humano B e a formulação de trombina humana B e aprotinina.

25 Um volume de suspensão final de 1000 ml foi o método obtido pela aplicação das seguintes quantidades e parâmetros:

Mistura de fibrinogênio:

- 800 ml de etanol (100%, a de 2°C - 8°C), 39, 4 ml de água para injeção, e 10, 6 ml de aprotinina

- 90,67 g da formulação de fibrinogênio humano C micronizada

- 141 mg de riboflavina

A mistura de fibrinogênio foi armazenada durante 20 horas a de 2-8°C, enquanto sob agitação.

Mistura de trombina:

- 50 ml de etanol (100% a -30°C)

- 3,75 g da formulação de trombina humana B

A mistura de trombina foi armazenada durante 16 horas a - 30°C.

Suspensão :

O volume total da mistura de trombina foi adicionado à mistura de fibrinogênio.

Etanol a 100%, a de 2-8°C foi adicionado para preencher o volume da suspensão final de 1000 ml.

Características da suspensão:

1. Concentração de etanol: 95%

2. Tempo de saída medido com o aparelho de plástico ilustrado à direita na Figura 9: 35 segundos.

3. Comportamento de sedimentação:

a) volume de sedimentação 5 minutos após o início: 89m % do volume de teste,

b) volume de sedimentação 24 horas após o início: 76 % do volume de teste.

4. Tamanho de partícula (diâmetro médio de Folk Ward) : 74,4 +/- 3,5 µm

Veículos sob a forma de tiras de colágeno foram revestidos com a suspensão. Primeiro, 16 tiras de esponja de colágeno foram previamente incubadas em uma câmara de resfriamento, nas seguinte

condições:

- Temperatura: 5,0°C
- Umidade Relativa : 85 %
- Tempo de incubação: 17 horas

5 Um aplicador conforme exposto na Patente US Nº 6.188.126 B1 foi usado para revestir as tiras de esponja de colágeno com a suspensão.

As tiras de esponja de colágeno revestidas foram secadas como se segue:

10 As tiras revestidas foram incubadas durante 35 minutos em uma temperatura de 5°C e uma umidade relativa de 85%.

As tiras revestidas foram então secadas em uma câmara de secagem a vácuo nas seguintes condições de secagem:

- Condição do ar: temperatura de 5°C, umidade relativa 85%
- Fluxo de ar através da válvula de aspiração: 1,2 m³ por

15 hora

- Vácuo : 35 mbar
- Tempo de secagem: 4 horas

20 A abrasão do revestimento obtido sobre as tiras da esponja de colágeno foi de aproximadamente de 0,2 mg/ cm² quando agitadas em um agitador Vibrofix em uma frequência de 800-1200 rpm durante 2 minutos.

EXEMPLO IV:

No presente exemplo, a suspensão contém a formulação de fibrinogênio humano C e a formulação de trombina humana C.

25 Um volume de suspensão final de 780 ml foi obtido pela aplicação das seguintes quantidades e parâmetros:

Mistura de fibrinogênio:

- 700 ml de etanol (100 %, a de 2°C- 8°C)
- 84,42 g da formulação de fibrinogênio humano C

micronizada

- 1100 mg de riboflavina

A mistura de fibrinogênio foi armazenada durante 20 horas a de 2-8°C enquanto sob agitação.

Mistura de trombina:

- 5
- 35 ml de etanol (100% a -30°C)
 - 0,54 g da formulação de trombina humana C

A mistura de trombina foi armazenada durante 16 horas a -30°C.

Suspensão :

- 10
- 23,0 ml de água para injeção foram adicionados à mistura de fibrinogênio.
 - Etanol a 100%, a de 2-8°C foi adicionado para preencher o volume da suspensão de 780 ml.

Características da suspensão:

- 15
1. Concentração de etanol: 94%
 2. Tempo de saída medido com o aparelho de plástico ilustrado á direita na Figura 9: 33, 5 segundos

3. Comportamento de sedimentação:

- 20
- a) volume de sedimentação 5 minutos após o início: 92 % do volume de teste,
 - b) volume de sedimentação 24 horas após o início: 72 % do volume de teste.

4. Tamanho de partícula (diâmetro médio de Folk Ward) : 60,5 +/- 0,5 μm

- 25
- Veículos sob a forma de tiras de colágeno foram revestidos com a suspensão. Primeiro, 48 tiras de esponja de colágeno foram previamente incubadas em uma câmara de resfriamento, nas seguintes condições:

- Temperatura: 6,0°C

- Umidade Relativa : 85 %
- Tempo de incubação: 18,5 horas

Um aplicador, conforme exposto na patente US Nº 6,177. 126 B1 foi usado para revestir as tiras de esponja de colágeno com a suspensão.

5 As tiras de esponja de colágeno revestidas foram secadas como se segue:

As tiras revestidas foram incubadas durante 45 minutos em uma temperatura de 5°C e uma umidade relativa de 85 %.

10 As tiras revestidas foram então secadas em uma câmara de secagem a vácuo nas seguintes condições de secagem:

- Condição do ar: temperatura de 5°C, umidade relativa 85%
- Fluxo de ar através da válvula de aspiração: 1,2 m³ por

hora

- Vácuo : 35 mbar
- 15 - Tempo de secagem: 4 horas

A abrasão do revestimento obtido sobre as tiras da esponja de colágeno foi de aproximadamente 0,2 mg/ cm² quando agitadas em um agitador Vibrofix em uma frequência de 800-1200 rpm durante 2 minutos.

EXEMPLO V:

20 No presente exemplo, a suspensão contém a formulação de fibrinogênio humano A e a formulação de trombina humana A.

Um volume de suspensão final de 3120 ml foi obtido através de um método do grupo I pela aplicação das seguintes quantidades e parâmetros:

25 Mistura de fibrinogênio:

- 2540 ml de etanol (100% a de 2°C -8°C)
- 311,6 g da formulação de fibrinogênio humano A
- 440 mg de riboflavina
- A mistura de fibrinogênio foi armazenada durante 18 horas

a de 2-8°C, enquanto sob agitação.

Mistura de trombina:

- 210 ml de etanol (100% a - 30°C)
- 229 g da formulação de trombina humana A

5

Suspensão:

- 87,3 ml de água para injeção foram adicionados à mistura de fibrinogênio.

A mistura de trombina foi adicionada à mistura de fibrinogênio.

10

Etanol a 100%, a de 2-8°C foi adicionado para preencher o volume da suspensão final.

Características da suspensão:

1. Concentração de etanol : 97%

15

1. Tempo de saída medido com o aparelho de aço ilustrado à esquerda na Figura 9: 40,8 segundos.

2. Comportamento de sedimentação:

a) volume de sedimentação 5 minutos após o início: 95,6% do volume de teste,

20

b) volume de sedimentação 24 horas após o início: 63,5% do volume de teste.

4. Tamanho de partícula (diâmetro médio de Folk Ward) : 51,8

+ / - 0,8 μm

Veículos sob a forma de tiras de colágeno foram revestidos com a suspensão. Primeiro, 48 tiras de esponja de colágeno foram previamente incubadas em uma câmara de resfriamento, nas seguintes condições:

25

- Temperatura : 6,5°C
- Umidade relativa : 90%
- Tempo de incubação : 22,5 horas

Um aplicador, conforme descrito na patente US N° 6.177.126 B1 foi usado para revestir as tiras de esponja de colágeno com a suspensão.

As tiras de esponja de colágeno foram secadas como se segue:

As tiras revestidas foram incubadas durante 10 minutos em
5 uma temperatura de 6,5°C e uma umidade relativa de 90%.

As tiras revestidas foram então secadas em uma câmara de secagem a vácuo nas seguintes condições de secagem:

- Condição do ar: temperatura de 6,5°C, umidade relativa 90%
- 10 - Fluxo de ar através da válvula de aspiração: 21 m³ por hora
- Vácuo : 58 mbar
- Tempo de secagem : 4 horas

A abrasão do revestimento obtido sobre as tiras de esponja de colágeno foi aproximadamente de 0,2 mg/ cm² quando uma amostra de 1 x 5 cm² é agitada em um tubo de teste de um agitador Vibrofix em uma frequência de 800-1200 rpm durante 2 minutos.

EXEMPLO VI

No presente exemplo, a suspensão contém a formulação de fibrinogênio humano A e a formulação de trombina bovina, e aprotinina.

Um volume de suspensão final de 16720 ml foi obtido através de um método do grupo I pela aplicação das seguintes quantidades e parâmetros:

Mistura de fibrinogênio:

- 25 - 13600 ml de etanol (100% a de 2°C -8°C)
- 1750, 5 g da formulação de fibrinogênio humano A
- 2361 mg de riboflavina
- A mistura de fibrinogênio foi armazenada durante 21 horas a de 2-8°C, enquanto sob agitação.

Mistura de trombina:

- 420 ml de etanol (100% a - 30°C)
- 1229 g da formulação de trombina bovina

Suspensão:

- 5 - 162, 3 ml de solução de aprotinina foram adicionados à mistura de fibrinogênio.

- 304, 7 ml de água para injeção foram adicionados à mistura de fibrinogênio

10 A mistura de trombina foi adicionada à mistura de fibrinogênio.

Etanol a 100%, a de 2-8°C foi adicionado para preencher o volume da suspensão final.

Características da suspensão:

- 15 1. Concentração de etanol : 97%
2. Tempo de saída medido com o aparelho de aço ilustrado à esquerda na Figura 9: 36,8 segundos.
3. Tamanho de partícula (diâmetro médio de Folk Ward) : 58,6 + / - 0,6 μ m

20 Veículos sob a forma de tiras de colágeno foram revestidos com a suspensão. Primeiro, 288 tiras de esponja de colágeno foram previamente incubadas em uma câmara de resfriamento, nas seguintes condições:

- Temperatura : 6,5°C
- Umidade relativa : 89%
- 25 - Tempo de incubação : 25 horas

Um aplicador, conforme descrito na patente US N° 6.177.126 B1 foi usado para revestir as tiras de esponja de colágeno com a suspensão.

As tiras de esponja de colágeno foram secadas como se segue:

As tiras revestidas foram incubadas durante 10 minutos em

uma temperatura de 6,5°C e uma umidade relativa de 89%.

As tiras revestidas foram então secadas em uma câmara de secagem a vácuo nas seguintes condições de secagem:

- Condição do ar: temperatura de 6,5°C, umidade relativa 89%
- Fluxo de ar através da válvula de aspiração: 22,5 m³ por hora
- Vácuo : 59 mbar
- Tempo de secagem : 4 horas

A abrasão do revestimento obtido sobre as tiras de esponja de colágeno foi aproximadamente de 0,2 mg/ cm² quando uma amostra de 1 x 5 cm² é agitada em um tubo de teste de um agitador Vibrofix em uma frequência de 800-1200 rpm durante 2 minutos.

EXEMPLO VII

Em uma esponja de colágeno revestida contendo fibrinogênio humano, trombina bovina e aprotinina, a estabilidade da suspensão de revestimento foi investigada quanto à duração de um processo de revestimento de 7 horas sob condições ambientais de ambientes de produção, por exemplo a de 2-8°C:

Cada ingrediente ativo foi avaliado em diferentes períodos de tempo de amostragem. Os resultados são apresentados na tabela 1 abaixo.

	Fibrinogênio humano	Trombina bovina (I.U./ml)	Aprotinina (Ph.Eur. U./ml)
No início do revestimento	50,0	21,8	0,59
Após 4,5 horas	49,7	23,3	0,59
Após 7 horas (final do processo de revestimento)	49,1	20,4	0,56

TABELA I

Os resultados demonstram estabilidade satisfatória para todos os três componentes.

EXEMPLO VIII

É feito referência às figuras 1-7, em que as várias figuras mostram :

Figura 1:
1.1 Opraskin [®] : não-revestido/ revestido
1.2 Opraskin [®] revestido: inserção no interior de equipamento endoscópico
1.3 Opraskin [®] revestido: desdobrado após inserção em equipamento endoscópico
Figura 2:
1.1 Willospon [®] forte: não- revestido/revestido
1.2 Willospon [®] forte revestido: inserção no interior de equipamento endoscópico
1.3 Willospon [®] forte revestido: desdobrado após inserção no interior do equipamento endoscópico
Figura 3:
3.1 Willospon [®] Spezial: não revestido/ revestido
3.2 Willospon [®] Spezial: inserção no interior de equipamento endoscópico
3.3 Willospon [®] Spezial: desdobrado após inserção no interior de equipamento endoscópico
Figura 4:
4.1 Ethisorb [®] Patch : não-revestido/ revestido
4.2 Ethisorb [®] Patch: inserção no interior de equipamento endoscópico
4.3 Ethisorb [®] Patch revestido: desdobrado após inserção no interior de equipamento endoscópico
Figura 5:
5.1 Tabotamp [®] NU Knit: não-revestido/ revestido
5.2 Tabotamp [®] NU Knit revestido: inserção no interior de equipamento endoscópico
5.3 Tabotamp [®] NU Knit revestido: desdobrado após inserção no interior de equipamento endoscópico
Figura 6:
6.1. Esponja Nycomed: não-revestida/ revestida [amostra laboratorial]
6.2. Esponja Nycomed revestida [amostra laboratorial]: inserção no interior de equipamento endoscópico
6.3 Esponja Nycomed revestida com colágeno [amostra de produção = TachoComb [®]]: desdobrada após inserção no interior de equipamento endoscópico
Figura 7:
ferramenta endoscópica : Endodock [®]
ferramenta endoscópica: Endodock [®]
ferramenta endoscópica: Endodock [®]

Comparação de esponja Nycomed revestida (TachoComb S) com outros produtos de veículo revestidos de modo idêntico a TachoComb S.

Adesão da Camada

Procedimento

1. Revestimento de diferentes veículos

Marca Registrada	Material	Fabricado /Distribuído
Opraskin®	Esponja de colágeno	Lohman, Postfach 2343, D-56513 Neuwied
Willoston®forte	Esponja de colágeno (novilhos)	Will-Pharma, Postbus 30, NL 1160 AA Zwanenburg
Willoston®Special	Esponja de gelatina	Will-Pharma, Postbus 30, NL 1160 AA Zwanenburg
Ethisorb®Patch	Poliglactina 910/ Polidioxanona	Johnson/Johnson (fabricante) Ethicon, Robert-Koch-Str. 1 D-22851 Norderstedt
Tabotamp® NU Knit	Celulose regenerada oxidada	Johnson/Johnson (fabricante) Ethicon, Robert-Koch-Str. 1 D-22851 Norderstedt
Esponja de Colágeno Nycomed	Esponja de colágeno eqüina	Nycomed Austria Sankt-Peter-Str. 25 A-4021 LINZ

Uma área de 2 x 4,5 cm² de cada veículo foi revestida com suspensão de revestimento TachoComb S.

A quantidade de suspensão de revestimento correspondeu à especificação TachoComb (5,5 mg fibrinogênio/ cm²). As amostras foram secadas.

2. Uma amostra de 1 x 4 cm² foi preparada de cada veículo

revestido.

3. A adesão da camada foi testada como se segue.

Descrição do Método:

10 *Aparelho:*

Balança analítica (precisão de medição $\pm 0,5$ mg)

Agitador Vibrofix combinado com dispositivo de fixação

Regra com graduação milimétrica

Cronômetro, bisturi, tubos de 2 cm de diâmetro interno com

15 tampa.

Procedimento

O procedimento e o cálculo para determinar a abrasão são como acima descritos.

Resultados:

Veículo	Substância	Abrasão (mg/cm ²)
Opraskin [®]	Colágeno liofilizado	2,1
Willoston [®] forte (3mm)	Colágeno liofilizado	1,2
Willoston [®] Spezial (1mm)	Gelatina	2,1
Ethisorb [®] Ptch (ZVP609)	Poliglactina/dioxanona	14,3
Tabotamp [®] UN Knit	Celulose oxidada	9,2
Esponja de colágeno Nycomed	Colágeno, espumado	0,15

Comentários:

Todos os veículos, exceto a esponja de colágeno Nycomed, não são flexíveis após o revestimento.

- 5 A amostra tem que ser cortada com muito cuidado. Se ela for cortada através do uso de um par de tesouras, uma quantidade do material de revestimento será lascada, porque a camada em si mesma é rígida. O adesivo Ethisorb[®] quase não demonstrou conexão com o material de revestimento. Quando agitado apenas um pouco, todo o revestimento é desgarrado, como um “tapete”.

A diferença entre a esponja de colágeno Nycomed e os outros materiais de veículo é demonstrada de modo bastante evidente.

Elasticidade do veículo revestido umedecido

Procedimento

- 15 1. Revestimento de diferentes veículos:
- Uma área de 2 x 4,5 cm² de cada veículo foi revestida com suspensão de revestimento TachoComb S. A quantidade de suspensão de revestimento correspondeu à especificação de TachoComb (5,5 mg de fibrinogênio/ cm²). As amostras foram secadas.
- 20 2. Uma amostra de cerca de 5-7 cm² foi preparada de cada veículo revestido. Foi determinada a área inicial exata de cada amostra seca.
3. A amostra foi umedecida e colocada sobre uma folha de Látex elástica, fixada a um equipamento especial conforme descrito em detalhe sob o título “procedimento”. Foi então aplicada pressão sobre a folha de látex, que se expandiu. Após 2 períodos de expansão e relaxamento, a
- 25

folha é expandida por um terceiro período de tempo. A área do veículo foi medida no ponto de expansão mais alto.

Descrição do Método

Aparelho/ Substâncias Químicas

- 5 Bomba peristáltica (IKA PA-SF)
- Garrafa de compensação de pressão (3 saídas)
- Manômetro VDO (0 - 250 mbar)
- Funil de vidro ($\varnothing$ abertura 1: 30 mm, abertura 2: 15 mm)
- Tubos e grampos de silicone, luvas de látex (Semper Med),
- 10 bisturi, régua com graduação milimétrica, tesouras
- Solução salina fisiológica

Procedimento

O seguinte equipamento é conectado vedado a ar às três saídas da garrafa de compensação de pressão através de tubos de silicone:

- 15 a) bomba peristáltica
- b) manômetro
- c) funil de vidro/ abertura 2

Uma folha dupla de cerca de 8 x 8 cm² é cortada a partir de uma luva de Látex. Esta folha é fixada, vedada a ar, ao funil de vidro/ abertura

20 1.

Cerca de 5-7 cm² de área revestida são cortados a partir do veículo revestido usando um bisturi.

A área da amostra é medida (área inicial). O revestimento da amostra é umedecido com solução salina e aplicado sobre a folha de Látex.

- 25 Ele é então pressionado manualmente à folha de Látex por cerca de 1 minuto.

Usando a bomba peristáltica, a folha de Látex é expandida pela aplicação de uma pressão de cerca de 70 mbar. Isto é repetido duas vezes com relaxamento da folha de Látex posteriormente. Na terceira expansão, a área (comprimento e largura) do veículo revestido é medida no ponto mais alto da

expansão da folha de Látex.

Cálculo:

$$\text{Fator de "elasticidade"} = \frac{\text{área do veículo na terceira expansão}}{\text{Área inicial da amostra}}$$

Resultados:

Veículo	Substância	Fator de Elasticidade
Opraskin [®]	Colágeno liofilizado	1,78
Willoston [®] forte (3 mm)	Colágeno liofilizado	1,53
Wilospon [®] Spezial (1 mm)	Gelatina	1,79
Ethisorb [®] Patch (ZVP609)	Poliglactina/dioxanona	1,0
Tabotamp [®] NU Knit	Celulose oxidada	1,15
Esponja de Colágeno Nycomed	Colágeno, espumado	1,55

Comentários:

- 5 A elasticidade da esponja de colágeno Nycomed umedecida (TachoComb S) é uma das características importantes do produto. A elasticidade é essencial em cirurgia torácica e abdominal. Após a colagem, o veículo de ser capaz de seguir, por exemplo, os movimentos de expansão e relaxamento dos pulmões ou intestinos. Ethisorb[®], em especial, não
- 10 demonstrou nenhuma elasticidade. Destacou-se a partir do revestimento imediatamente. Wilospon[®] Spezial revestido e Opraskin[®] apresentaram defeitos estruturais durante o teste.

Uso do veículo revestido em cirurgia endoscópica

Procedimento:

- 15 1. Revestimento de diferentes veículos:
- Uma área de 2 x 4 cm² de cada veículo foi revestida com suspensão de revestimento TachoComb S. A quantidade da suspensão de revestimento correspondeu à especificação TachoComb (5,5 mg fibrinogênio/cm²). As amostras foram secadas.
- 20 2. A manipulação das amostras de veículo revestidas para uso em cirurgia endoscópica e a perda de revestimento devido a esta manipulação estão documentados em um equipamento fotográfico digital.

Descrição do Método

Aparelho

Endodock: ferramenta endoscópica designada para o uso de TachoComb® em cirurgia endoscópica (vide Figura 7). Equipamento fotográfico digital.

Lista dos veículos investigados:

Veículo	Material do Veículo
Opraskin®	Colágeno liofilizado
Willoston® forte (3mm)	Colágeno liofilizado
Willoston® Spezial (1 mm)	Gelatina
Ethisorb® Patch (ZVP 609)	Poliglactina/ dioxanona
Tabotamp® NU Knit	Celulose oxidada
Esponja de colágeno Nycomed	Colágeno, espumado

Procedimento

Séries de ilustrações tomadas de cada veículo:

1. Ilustração : Documentação das amostras de veículo revestidas e não-revestidas.

2. Ilustração : As amostras revestidas são inseridas no interior do equipamento endoscópico (Endodock). A amostra tem que ser aplainada manualmente, de modo a que seja capaz de ser enrolada em torno de um “pino” guia. Então, a amostra é cuidadosamente inserida no tubo de aço de 10 mm de diâmetro.

3. Ilustração: A amostra é puxada para fora com cuidado. Depois disso, a amostra tem que ser desdobrada. O revestimento, que foi salpicado a partir do veículo devido à sua manipulação é reunido junto ao veículo. A amostra desdobrada após a inserção no interior do equipamento endoscópico e a perda de revestimento devido a esta manipulação são documentados.

Comentários

TachoComb S (esponja de colágeno equino revestida / Nycomed) em cirurgia endoscópica é a aplicação mais exigente do produto.

TachoComb S é inserido no interior de um equipamento endoscópico. O tubo

deste equipamento possui geralmente de 10-13 mm de diâmetro. De modo a que seja inserido no interior do tubo, TachoComb S é aplainado e então enrolado em torno de um “pino” guia e então inserido cuidadosamente no interior do tubo. Portanto, a conexão do revestimento com o veículo e consigo mesmo tem que ser forte, mas o produto tem que ser mantido flexível em condição seca para que possa ser curvado e enrolado. Quando colocado no sítio de cirurgia, TachoComb S é cuidadosamente extraído a partir do tubo. Então, ele tem que ser desenrolado e aplicado na superfície da ferida. Isto requer frequentemente alguns ajustes. Portanto, a adesão da camada ao veículo deve ser suficientemente forte para que possa resistir a esta manipulação.

Resultados

Os resultados são observados a partir das Figuras 1-6 anexas.

Uma estimativa da fusão de materiais de revestimento é a que se segue:

15	Opraskin®	30-40%
	Wilospon® forte	60-70%
	Wilospon® Spezial	50%
	Tacotamp® NU Knit	60-70%
	Ethisorb® Patch	95%
20	Esponja de colágeno Nycomed	< 5%

Como Ethisorb® é um veículo muito rígido, a adesão do revestimento é muito fraca. Portanto, o Ethisorb® revestido perdeu quase todo o revestimento nesta investigação. Comparado à esponja de colágeno revestida de Nycomed, todos os outros veículos investigados possuíam uma superfície plana a ser revestida. Portanto, o revestimento repousa como um “tapete plano” sobre o veículo. Isto conduz a uma estrutura preferivelmente flexível dos veículos revestidos secos. A curvatura e o enrolamento muitas vezes causa a ruptura o revestimento em si próprio.

Após a inserção dos veículos revestidos no interior do tubo, o

equipamento endoscópico e o desdobramento da amostra subsequente, todos os veículos exceto a esponja de colágeno Nycomed perderam bastante do revestimento, de tal modo que grandes áreas são deixadas sem o material de revestimento.

5 A estrutura e a textura da esponja de colágeno Nycomed é a base da alta flexibilidade de TachoComb S em condições úmidas ou secas. A esponja de colágeno Nycomed é espumada e possui câmaras poligonais em seu interior. Sobre a superfície destas câmaras são cortadas cavernas. Estas cavernas aumentam a superfície de revestimento. Durante o revestimento, a
10 suspensão de revestimento é distribuída de modo uniforme sobre a superfície estruturada. Devido à secagem, a solução contendo tanto fibrinogênio como trombina é fixada como sólidos no interior das cavernas. Portanto, TachoComb S pode ser cortado nos tamanhos desejados e pode ser inserido no interior do equipamento endoscópico apenas com uma pequena perda do
15 material de revestimento, ou até mesmo sem nenhuma perda.

 A alta flexibilidade de TachoComb S seco é uma grande vantagem, comparado a todos os outros veículos revestidos investigados.

Manufatura da Esponja de Colágeno

 A esponja de colágeno referida no presente texto pode ser
20 manufatura por um método como ilustrado, de modo genérico, nas figuras 10 e 11 e como abaixo descrito:

 Foi verificado que o revestimento bem sucedido de uma esponja de colágeno com uma preparação de cola de fibrina depende da textura da esponja de colágeno. É assim desejável prover um método para
25 produzir uma esponja de colágeno com uma certa textura, em particular com o objetivo de tornar a esponja de colágeno adequado para o revestimento com uma preparação de cola de fibrina, de modo a obter um material para a cura e a vedação de feridas. É ainda desejável prover um método para produzir uma esponja de colágeno tendo características físicas aperfeiçoadas em relação às

esponjas da técnica anterior, no sentido de módulos de umidade, elasticidade, densidade e elasticidade aperfeiçoados. É ainda desejável prover um método para a preparação de uma esponja de colágeno, que é vedada a are e a líquido no sentido de que, uma vez a esponja de colágeno aplicada a uma ferida, ela
5 não irá permitir que ar ou líquido sejam embebidos através da esponja de colágeno.

Deste modo, o método para preparar a esponja de colágeno pode compreender os estágios de:

- preparar um gel de colágeno,
- 10 - misturar ar no gel de colágeno, de modo a obter uma espuma de colágeno,
- secar a espuma de colágeno, de modo a obter um bloco seco de esponja de colágeno tendo câmaras no mesmo,
- isolar, a partir do bloco da esponja, partes de esponja com
15 um diâmetro de câmara maior que 0,75 mm e menor que 4mm, ou tendo um diâmetro de câmara médio de, no máximo 3 mm.

No presente contexto, o termo “ diâmetro de câmara deve ser entendido como a maior distância parede a parede em linha reta em uma câmara, isto é a maior distância em linha reta diagonal de uma câmara. As
20 câmaras podem ser de uma forma poligonal, tal como de uma forma octogonal

Foi verificado que um diâmetro de câmara maior que 0,75 mm e menor que 4 mm, ou um diâmetro de câmara médio de no máximo 3 mm, torna a esponja de colágeno particularmente útil para ser revestida com uma
25 preparação de cola de fibrina. Preferivelmente, o gel de colágeno possui uma massa seca na faixa de 2-20 mg de massa seca por 1 g de gel, tal como de 4-18 mg, tal como de 5-13 mg, tal como de 6-11 mg por 1 g de gel. A viscosidade dinâmica do gel de colágeno é preferivelmente de 2-20 Ncm, tal como de 4-10 Ncm, tal como de 6-8 Ncm. A esponja de colágeno possui

preferivelmente um teor de água de não mais do que de 20%, tal como de 10-15%, tal como de cerca de 18%. O módulo de elasticidade da esponja de colágeno está preferivelmente na faixa de 5-100 N/cm², tal como de 10-50 N/cm², e a densidade da esponja é preferivelmente de 1-10 mg/ cm³, tal como de 2-7 mg/ cm³.

Foi verificado que uma esponja de colágeno preparada pelo método acima é vedada a ar e a líquido no sentido de que, uma vez que a esponja de colágeno é aplicada a uma ferida, ela não permitirá com que o ar ou o líquido passem através da esponja de colágeno. Os líquidos são absorvidos na esponja. Este efeito é primariamente alcançado devido ao fato de que o estágio de misturação de ar no gel de colágeno fornece uma esponja de colágeno, que possui uma estrutura tridimensional com câmaras empilhadas separadas e substancialmente totalmente fechadas por paredes de material de colágeno, em contradição com aquelas esponjas de colágeno que possuem uma estrutura de fibra.

O gel de colágeno pode compreender materiais de diferentes tipos, tais que tipo I, II ou III a partir de fontes de mamífero, transgênicas ou recombinantes, mas todos os outros tipos de colágeno podem ser usados. O colágeno pode compreender materiais de tendões, selecionados a partir do grupo que consiste de tendões eqüinos, tendões humanos e tendões bovinos. O gel de colágeno pode compreender, de modo adicional ou alternativo, material de colágeno recombinante.

O teor de colágeno de partes isolada da esponja é preferivelmente de 50% -100% com relação à massa seca da esponja, tal como de 75% - 100%, tal como de 80% - 100%, tal como de 85% - 100%, tal como de 90% - 100%, tal como de 92-100%, tal como de 92-98%, tal como de 93-97%, tal como de 94-96%.

O estágio de preparação do gel de colágeno compreende preferivelmente os estágios de:

- armazenar os tendões em uma temperatura entre - 10°C e - 30°C, e retirar a pele dos tendões,

- remover a proteína estranha a partir dos tendões,

- reduzir o teor de germe nos tendões,

5 - intumescer os tendões,

- homogeneizar os tendões intumescidos.

Os estágios de armazenamento, retirada da pele, remoção da proteína, redução do teor de germe, e intumescência têm o objetivo de purificar a matéria-prima, enquanto que o estágio de homogeneização tem o
10 objetivo de obter o colágeno sob a forma de um gel.

O estágio de redução do teor de germe compreende preferivelmente a adição de um ácido, tal como um ácido orgânico, tal como ácido láctico aos tendões. Além disso, um solvente orgânico, tal como um álcool, tal como etanol, é preferivelmente adicionado aos tendões. Além disso
15 o estágio de intumescer os tendões compreende preferivelmente a adição de ácido láctico aos tendões. O ácido láctico usado pode ser um ácido láctico a 0,40 - 0,50%, tal como um ácido láctico a 0,45%.

O estágio de intumescer os tendões pode compreender armazenar os tendões em uma temperatura de 4°C a 25°C, tal como uma
20 temperatura de 10°C a 20°C, durante um período de 48 a 200 horas, tal como um período de 100 a 200 horas.

O estágio de homogeneização dos tendões intumescidos é preferivelmente executado de modo a que seja obtido um tamanho de partícula de fragmentos de gel de colágeno, isto é esferas de fibra, com um
25 diâmetro de 0,8 - 1,2 cm, tal como de aproximadamente 1 cm. Além disso, as características físicas do gel de colágeno são preferivelmente como acima mencionadas. As características apropriadas do gel de colágeno são preferivelmente como acima mencionadas. As características apropriadas podem, por exemplo, ser alcançadas pela execução do estágio de

homogeneização dos tendões intumescidos através de um moinho de disco denteado ou equipamento de homogeneização adequado.

O estágio de mistura de ar no gel de colágeno compreende preferivelmente os estágios de :

- 5 - misturar ar ambiente no gel através de um misturador, de modo a gerar uma espuma de colágeno,
- alimentar a espuma de gel mista em um canal de fracionamento,
- separar o gel de colágeno e a espuma de colágeno contidos
- 10 no canal de fracionamento.

Pelo menos algum do gel de colágeno separado a partir da espuma de colágeno no canal de fracionamento pode ser reconduzido ao misturador. Neste caso, a razão entre a quantidade de gel de colágeno que é reconduzido de volta ao misturador a partir do canal de fracionamento e a

15 quantidade de colágeno fresco conduzida ao misturador está preferivelmente entre 0,1 e 0,5. O estágio de separar o gel de colágeno e a espuma de colágeno compreende preferivelmente os estágios de:

- separar uma parte selecionado da espuma de colágeno contida no canal de fracionamento,
- 20 - conduzir a parte selecionada da espuma de colágeno para fora do canal de fracionamento para a secagem do mesmo.

Em uma modalidade preferida do método, uma temperatura de 15°C a 40°C, tal como de 20°C a 25°C, é mantida no canal de fracionamento.

Subseqüentemente à mistura de ar no gel de colágeno, a

25 espuma de colágeno pode ser homogeneizada durante um período de 2 a 4 minutos.

Antes do estágio de secagem da espuma de colágeno e subseqüentemente ao estágio de mistura de ar no gel de colágeno, um agente de neutralização pode ser adicionado à espuma de colágeno, e a

espuma de colágeno é preferivelmente neutralizada, de modo a alcançar de um valor de pH de usualmente entre 2,5 e 3,5, um valor de pH na espuma de colágeno de entre 6,5 e 8,5. Um agente de neutralização, que compreende uma solução de amônia, pode ser usado, e a espuma de colágeno é
5 preferivelmente neutralizada durante um período de 5-30 horas, tal como de 10-20 horas, tal como aproximadamente de 24 horas.

Antes do estágio de secagem da espuma de colágeno, a espuma de colágeno é preferivelmente enchida em um recipiente de secagem, de tal modo que nenhum ar seja substancialmente introduzido no interior da
10 espuma durante o enchimento.

O estágio de secagem compreende preferivelmente a secagem em uma temperatura de entre 15°C e 60°C, tal como entre 20°C e 40°C, durante um período de 50-200 horas, tal como entre 100-150 horas, de modo a que seja obtida uma esponja de colágeno seca. A secagem pode ser efetuada
15 em uma pressão ligeiramente abaixo da pressão atmosférica, tal como uma pressão de entre 700 e 900 mbar, tal como de aproximadamente 800 mbar.

A esponja de colágeno produzida pelo método acima preenche pelo menos um dos seguintes critérios :

- valor de pH entre 5,0 e 6,0,
- 20 - teor de ácido láctico de, no máximo, 5%,
- teor de amônio de, no máximo, 0,5%,
- teor de proteína solúvel, calculado como o teor de albumina de, no máximo, 0,5%
- teor de cinzas de sulfato de, no máximo, 1,0%,
- 25 - teor de metal pesado de, no máximo, 20 ppm,
- pureza microbiológica de, no máximo, 10³ CFU/ g,
- teor de colágeno de, no máximo, 75% a 100%,
- densidade de 1-10 mg/cm³, tal como de 2-7 mg/ cm³,
- módulo de elasticidade de 5-100 N/ cm², tal como de 10-

50 N/ cm².

O estágio de isolar partes da esponja de colágeno pode compreender dividir a esponja de colágeno em uma pluralidade de partes através de corte. As partes obtidas podem ser configuradas em qualquer forma desejada, tal como cônica, cilíndrica, incluindo cilíndrica com uma seção transversal anular, retangular, poligonal, cúbica e folhas planas, ou elas podem ser transformadas em um granulado através de um método de granulação apropriado, etc.

10 Como é evidente a partir do acima, a esponja de colágeno pode ser produzida por um método, que compreende os estágios de:

- preparar um gel de colágeno,
- misturar ar no gel de colágeno, de modo a obter uma espuma de colágeno,
- secar a espuma de colágeno, de modo a obter um bloco seco de esponja de colágeno tendo câmaras no mesmo,
- isolar, a partir do bloco de esponja de colágeno, partes de esponja tendo as seguintes propriedades:
 - módulo de elasticidade na faixa de 5 a 1 N/cm²,
 - densidade na faixa de 1 a 10 mg/cm³,
 - diâmetro de câmara maior que 0,75 mm e menor que 4 mm, ou um diâmetro de câmara médio de, no máximo, 3 mm.

REIVINDICAÇÕES

1. Suspensão, caracterizada pelo fato de que compreende partículas de fibrinogênio humano, partículas de trombina humana e um álcool, em que o diâmetro médio de Folk Ward das partículas é 25 - 100 μm .

5 2. Suspensão de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o diâmetro médio de Folk Ward das partículas é de 35- 80 μm .

3. Suspensão de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2, caracterizada pelo fato de que compreende adicionalmente aprotinina.

10 4. Método para preparar uma suspensão com fibrinogênio humano e trombina humana, caracterizado pelo fato de que compreende:

- prover uma mistura de fibrinogênio humano e um álcool,
- prover uma mistura de trombina humana e um álcool,
- misturar a mistura de fibrinogênio e a mistura de trombina,

15 de modo a obter uma suspensão contendo partículas de fibrinogênio humano e trombina humana, em que o diâmetro médio de Folk Ward das partículas é 25-100 μm .

5. Método de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que, no estágio de provimento da mistura de fibrinogênio, o
20 fibrinogênio humano é previamente micronizado, de modo que sejam obtidas partículas tendo um diâmetro médio de Folk Ward de 25- 100 μm .

6. Método de acordo com a reivindicação 4 ou 5, caracterizado pelo fato de que o fibrinogênio humano previamente micronizado é agitado no álcool para a obtenção da referida mistura de fibrinogênio.

25 7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 6, caracterizado pelo fato de que, no estágio de provimento da mistura, a mistura é homogeneizada.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a mistura é homogeneizada em uma temperatura entre 0°C e 12°C.

9. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a mistura é homogeneizada em uma temperatura entre 2°C e 8°C.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que a temperatura é reduzida durante a homogeneização.

5 11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 10, caracterizado pelo fato de que a suspensão compreende adicionalmente aprotinina.

12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 11, caracterizado pelo fato de que o álcool é etanol.

10 13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o etanol é etanol anidro.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 13, caracterizado pelo fato de que o estágio de mistura da mistura de fibrinogênio humano e da mistura de trombina humana é executado enquanto
15 a suspensão é mantida sob agitação.

15. Método de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que a agitação é executada em uma temperatura entre 0°C e 12°C.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que a agitação é executada em uma temperatura entre 2°C e 8°C.

20 17. Método para revestir um veículo com uma suspensão como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o método de revestimento compreende:

- prover a suspensão de fibrinogênio humano, trombina humana e um álcool em um local próximo ao veículo,

25 - aplicar a referida suspensão a uma superfície de revestimento do veículo.

18. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o veículo é um veículo de colágeno.

19. Método de acordo com a reivindicação 18, caracterizado

pelo fato de que o veículo de colágeno é uma esponja de colágeno.

20. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a esponja de colágeno preenche pelo menos um dos seguintes critérios:

- 5 - valor de pH entre 5,0 e 6,0,
- teor de ácido láctico de, no máximo, 5%,
- teor de amônio de, no máximo, 0,5%,
- teor de proteína solúvel, calculado como o teor de albumina de, no máximo, 0,5%,
- 10 - teor de cinzas de sulfato de, no máximo, 1,0%,
- teor de metal pesado de, no máximo, 20 ppm,
- pureza microbiológica de, no máximo, 10^3 CFU/ g,
- teor de colágeno de 75 a 100%,
- densidade de 1 a 10 mg/cm³,
- 15 - módulo de elasticidade na faixa de 5-100 N/ cm².

21. Método de acordo com a reivindicação 19 ou 20, caracterizado pelo fato de que o veículo é uma esponja de colágeno, e em que a esponja de colágeno foi derivada a partir de um método, que compreende os estágios de:

- 20 - preparar um gel de colágeno,
- misturar o ar no gel de colágeno, de modo a obter uma espuma de colágeno,
- secar a espuma de colágeno, de modo a obter um bloco seco do veículo tendo câmaras no mesmo,
- 25 - isolar, a partir do bloco de esponja de colágeno, partes da esponja com um diâmetro de câmara maior que 0,75 mm e menor que 4 mm, ou um diâmetro de câmara médio de, no máximo, 3 mm.

22. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 17 a 21, caracterizado pelo fato de que o estágio de aplicação da suspensão ao

veículo é executada em temperatura ambiente de 0°- 12°C.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o estágio de aplicação da suspensão ao veículo é executado em uma temperatura ambiente de 1°- 10°C.

5 24. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que o estágio de aplicação da suspensão ao veículo é executado em uma temperatura ambiente de 2°-8°C.

25. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 17 a 24, caracterizado pelo fato de que o estágio de aplicação da suspensão ao
10 veículo é executado em uma atmosfera ambiente com uma umidade relativa de 75-99%.

26. Método de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o estágio de aplicação da suspensão ao veículo é executado em uma atmosfera ambiente com uma umidade relativa de 85-95%.

15 27. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 17 a 26, caracterizado pelo fato de que um volume de 0,08 - 0,12 ml de suspensão é aplicado ao veículo por cm² da superfície de revestimento.

28. Método para secar uma suspensão como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, aplicada como um revestimento úmido
20 sobre uma superfície de revestimento de um veículo de colágeno, o método caracterizado pelo fato de que compreende o estágio de: submeter o veículo revestido a uma pressão abaixo de 1000 mbar, de modo a obter uma superfície de revestimento seca sobre o veículo, de modo a fixar o revestimento seco à superfície de revestimento.

25 29. Método de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que a suspensão foi obtida por:

- prover uma mistura de fibrinogênio humano e um álcool,
- prover uma mistura de trombina humana e um álcool,
- misturar a mistura de fibrinogênio e a mistura de trombina,

de modo a obter a referida suspensão,

e em que o veículo é uma esponja de colágeno, que foi derivada a partir de um método, que compreende os estágios de:

- preparar um gel de colágeno,
- 5 - misturar ar no gel de colágeno, de modo a obter uma espuma de colágeno,
- secar a espuma de colágeno, de modo a obter um bloco seco de esponja de colágeno tendo câmaras no mesmo,
- isolar, a partir do bloco de esponja de colágeno, partes da
10 esponja com um diâmetro de câmara maior que 0,75 mm e menor que 4 mm, ou um diâmetro de câmara médio de, no máximo, 3 mm,

e em que o revestimento foi aplicado à esponja de colágeno através:

- do provimento da suspensão de fibrinogênio humano,
15 trombina humana e um álcool em um local próximo à esponja de colágeno,
- da aplicação da suspensão à superfície de revestimento da esponja de colágeno.

30. Método de acordo com a reivindicação 28 ou 29, caracterizado pelo fato de que o veículo revestido é submetido à referida
20 pressão em uma temperatura de 0°C- 12°C.

31. Método de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o veículo revestido é submetido à referida pressão em uma temperatura de 1°C -10°C.

32. Método de acordo com a reivindicação 31, caracterizado
25 pelo fato de que o veículo revestido é submetido à referida pressão em uma temperatura de 2°C -8°C.

33. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 32, caracterizado pelo fato de que o veículo revestido é submetido à referida pressão em uma umidade relativa da atmosfera circundante de 75-

99%.

34. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 33, caracterizado pelo fato de que o veículo revestido é submetido à referida pressão em uma umidade relativa da atmosfera circundante de 85-95%.

35. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 34, caracterizado pelo fato de que o fluxo de ar passa através do veículo revestido durante a secagem.

36. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 30 a 35, caracterizado pelo fato de que o veículo revestido é mantido na referida temperatura por um período de pelo menos 1 hora.

37. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 30 a 35, caracterizado pelo fato de que o veículo revestido é mantido na referida temperatura por um período de pelo menos 2 horas.

38. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 30 a 35, caracterizado pelo fato de que o veículo revestido é mantido na referida temperatura por um período de pelo menos 4 horas.

39. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 38, caracterizado pelo fato de que a área da superfície de revestimento seco é de pelo menos 75% do tamanho da área da superfície de revestimento úmido.

40. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 38, caracterizado pelo fato de que a área da superfície de revestimento seca é pelo menos 80% do tamanho da área da superfície de revestimento úmida.

41. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 40, caracterizado pelo fato de que o veículo e a superfície de revestimento seca possuem um teor de água que não excede a 12% em peso.

42. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações

28 a 40, caracterizado pelo fato de que o veículo e a superfície de revestimento seca possuem um teor de água que não excede a 8%, em peso.

43. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações

28 a 42, caracterizado pelo fato de que a suspensão compreende
5 adicionalmente aprotinina.

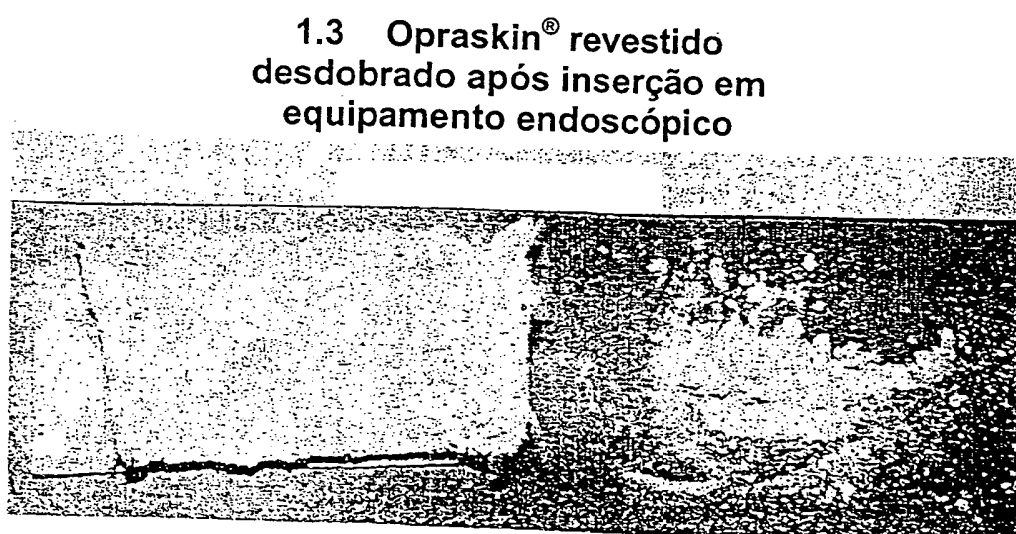
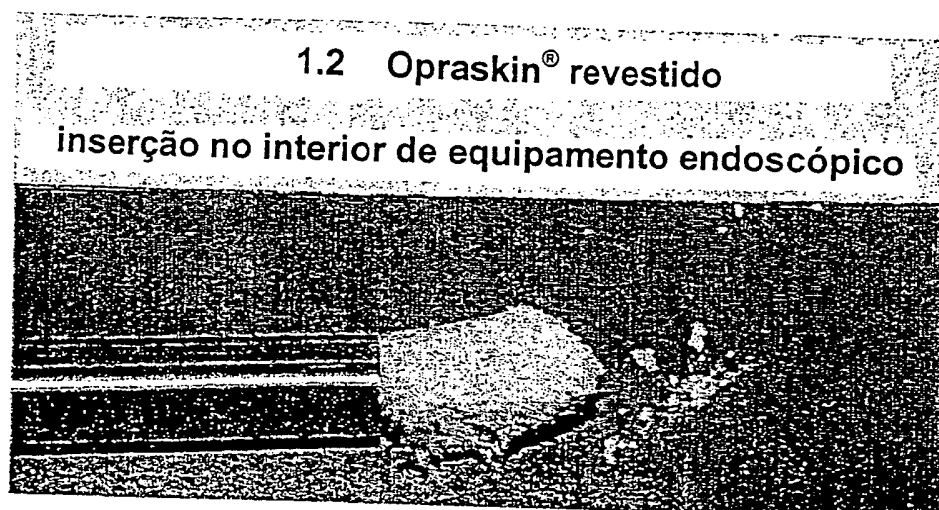
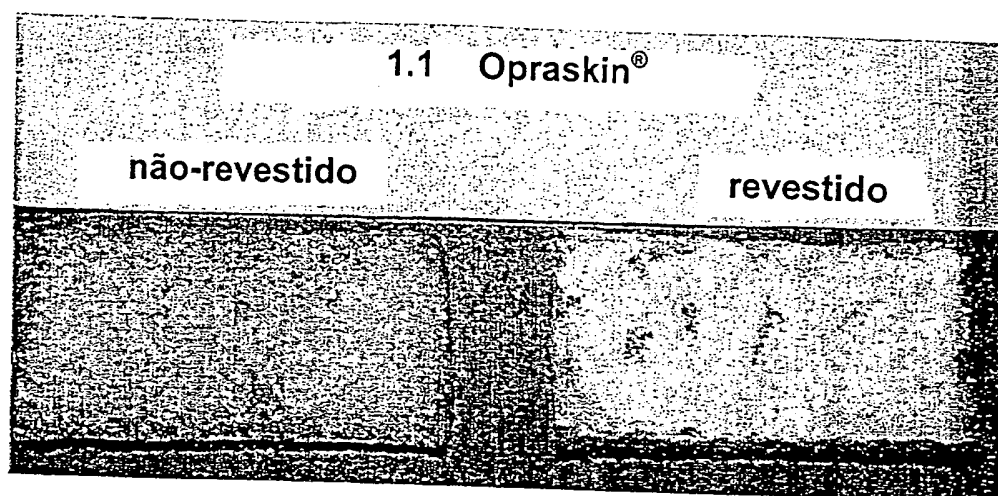


FIG.1

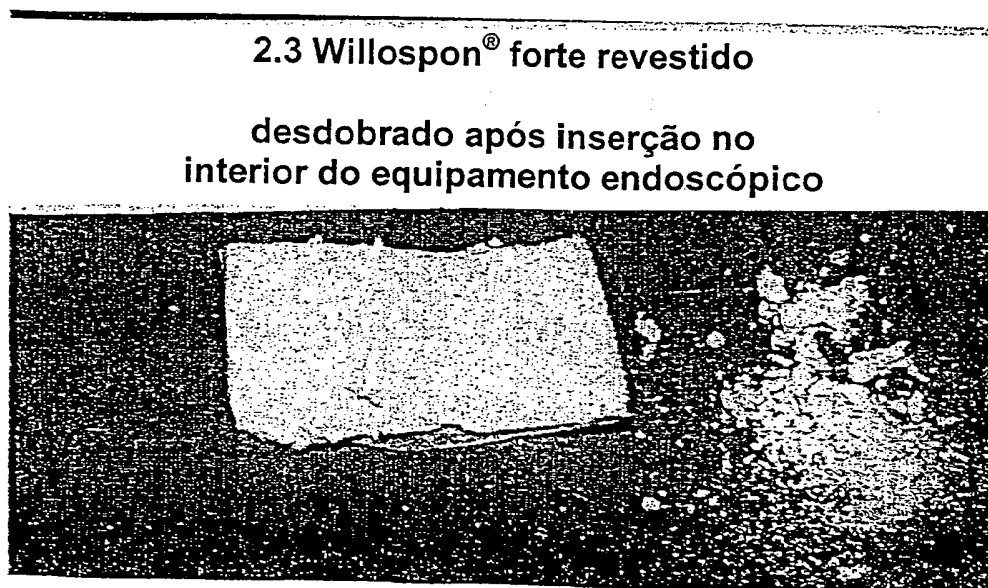
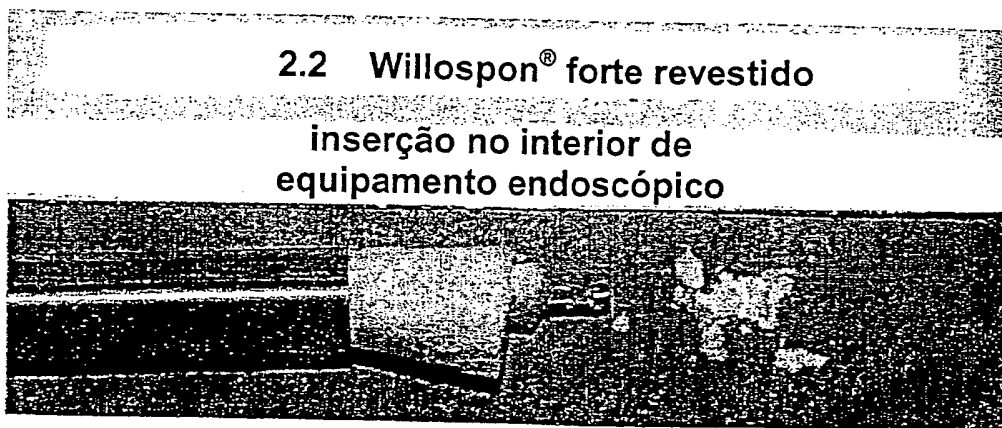
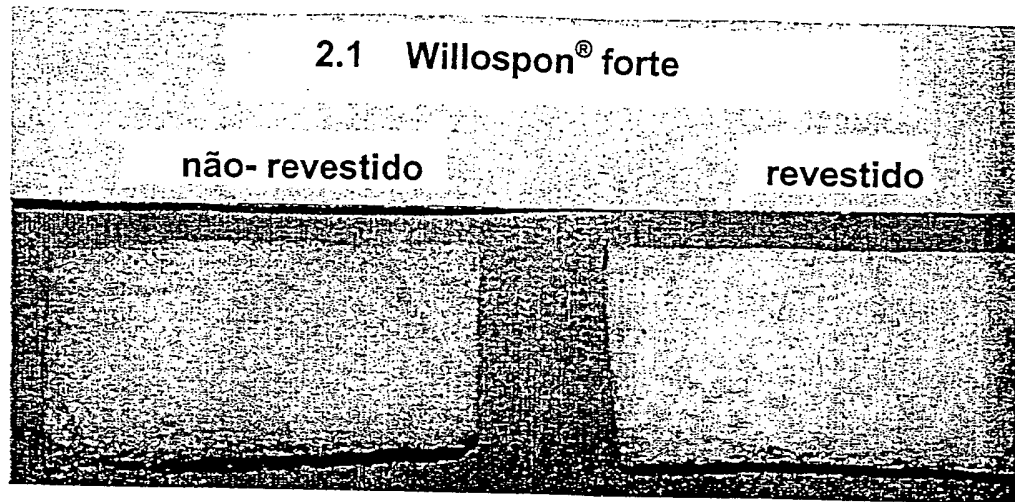


FIG.2

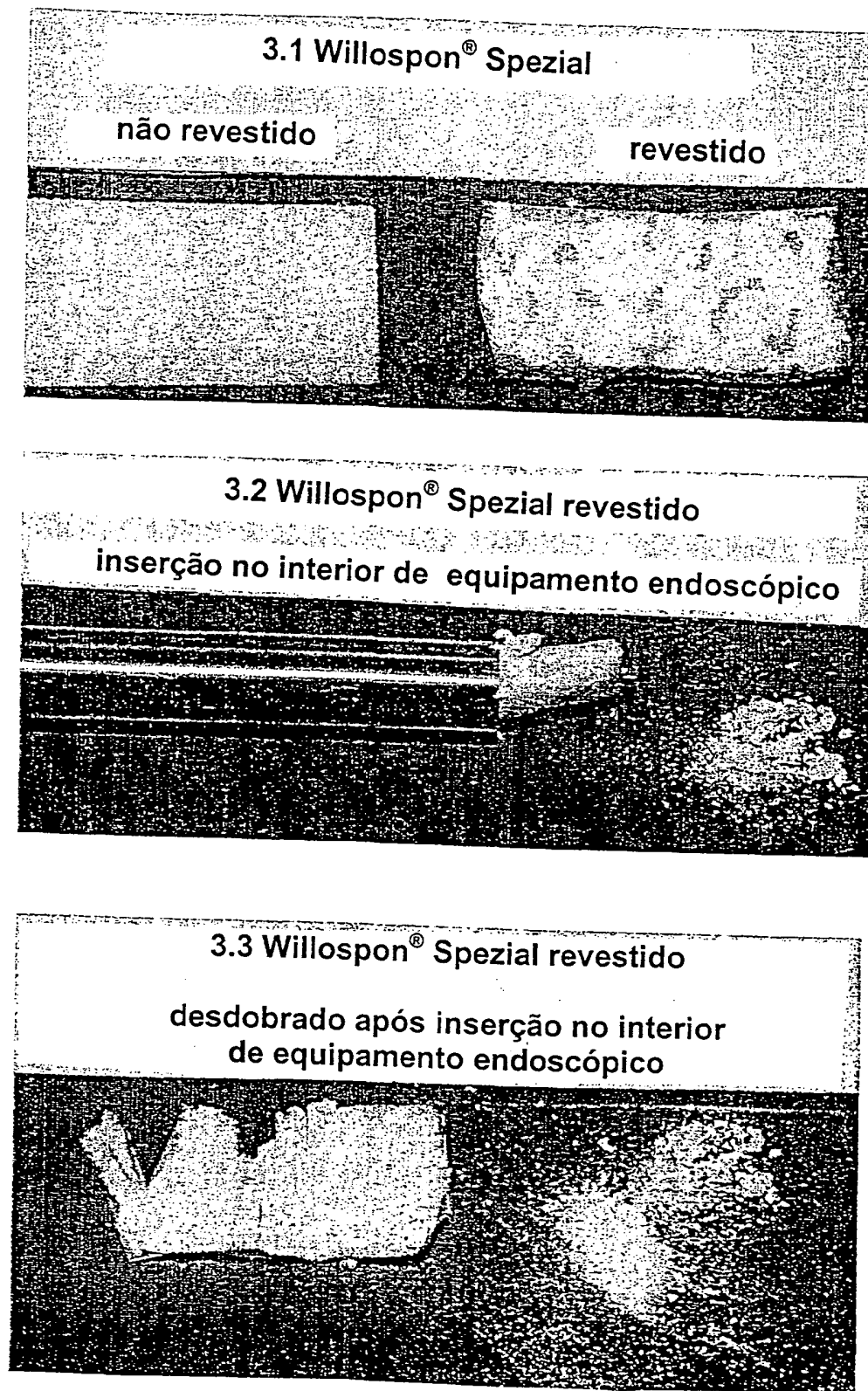


FIG.3

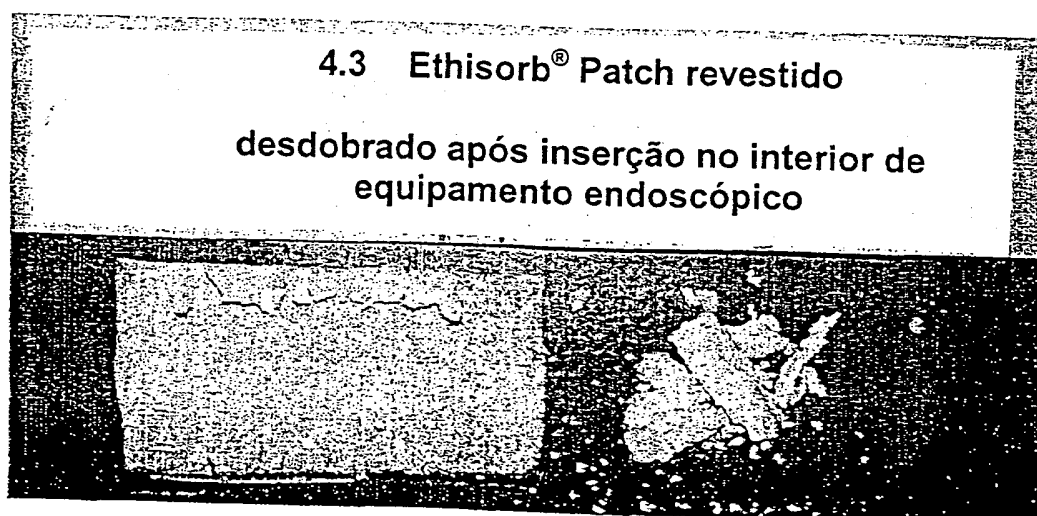
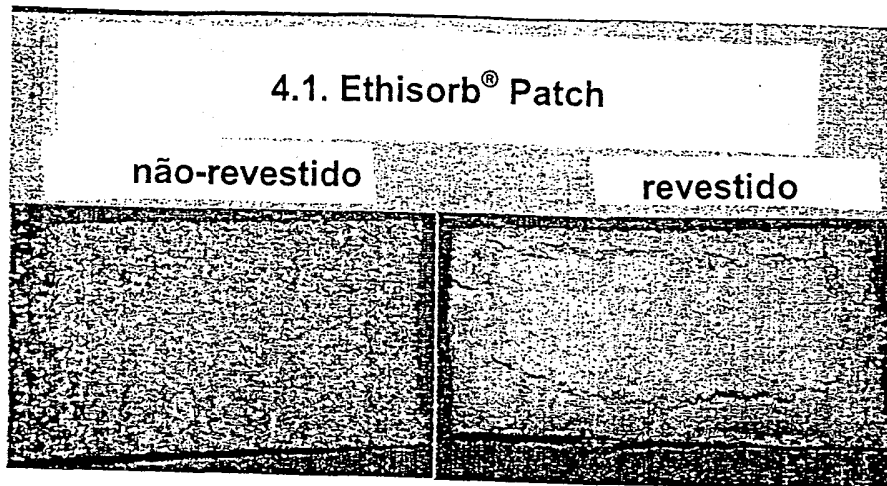


FIG.4

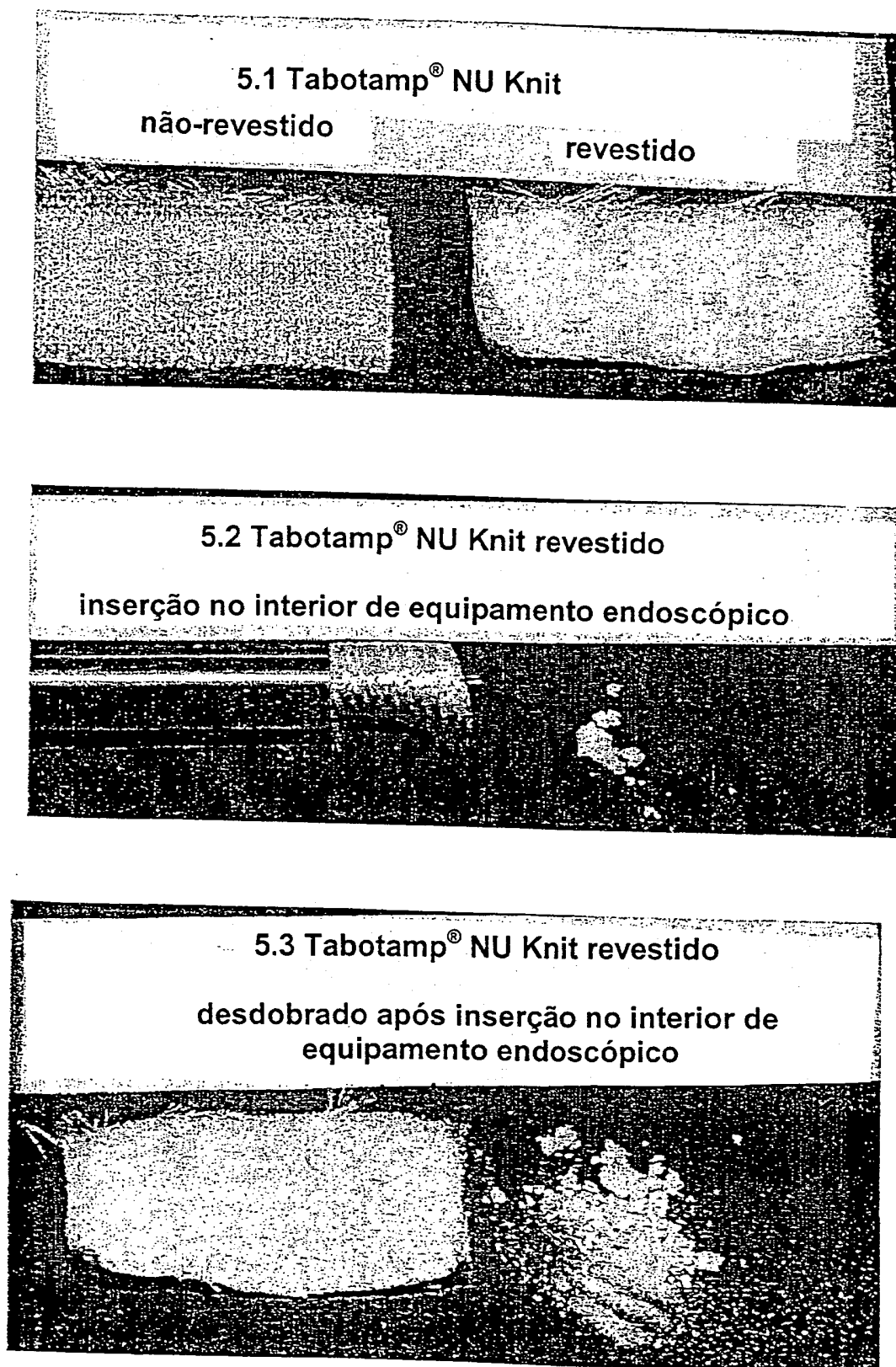


FIG.5

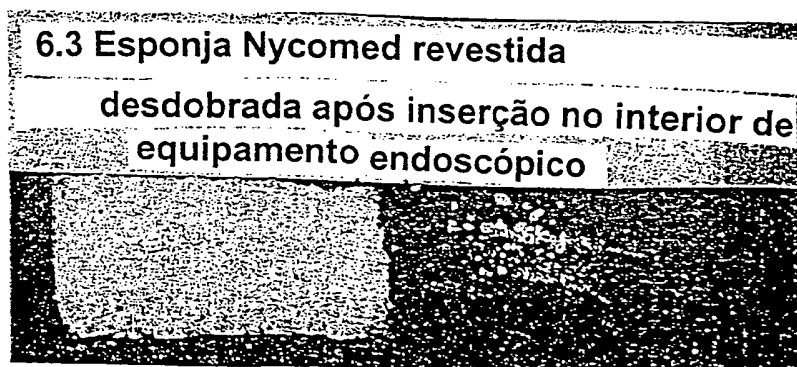
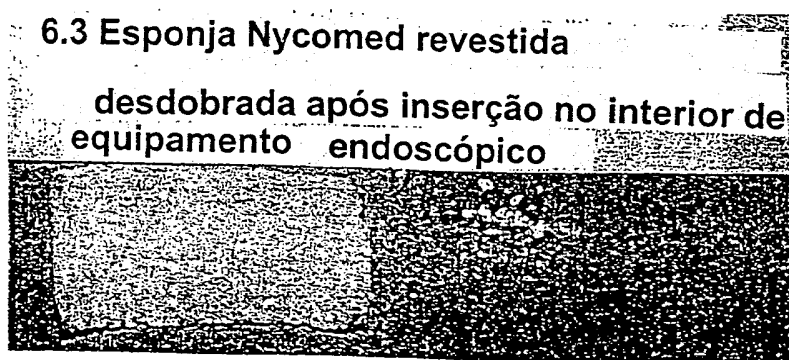
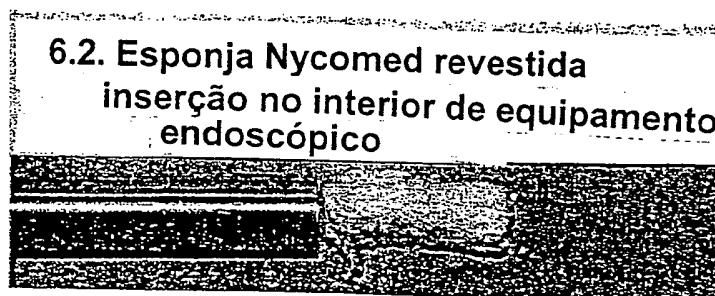
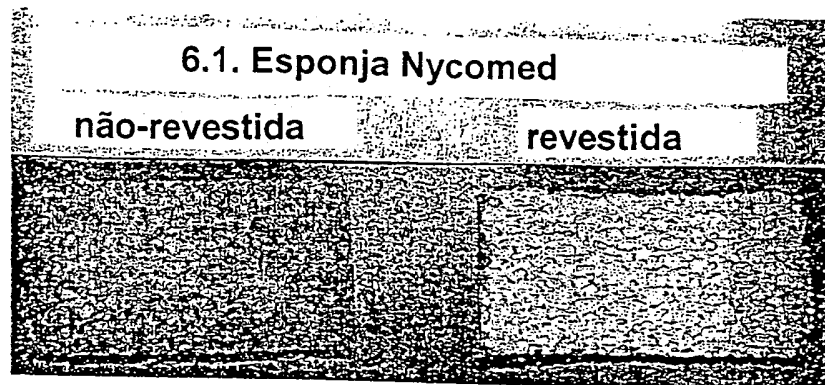


FIG.6

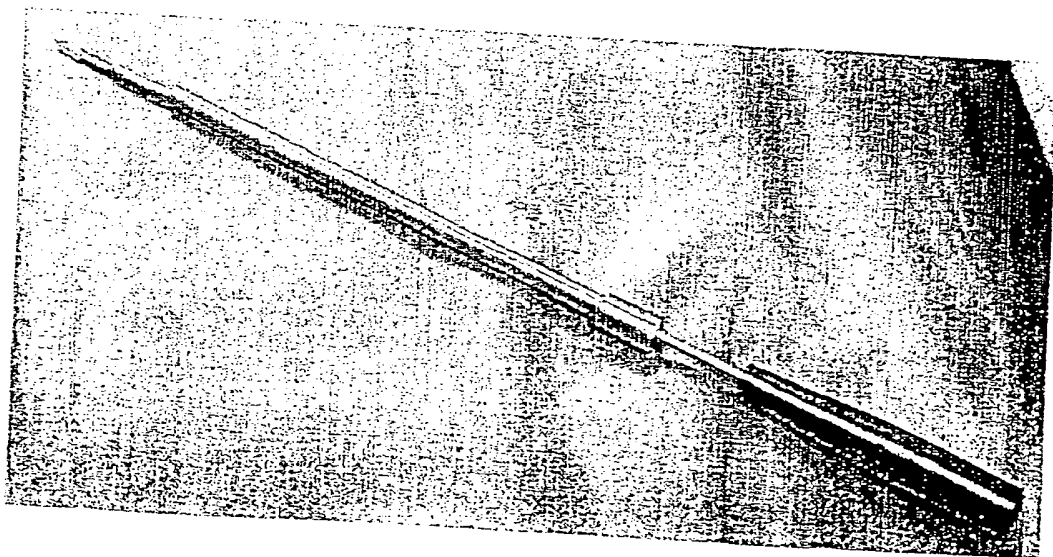
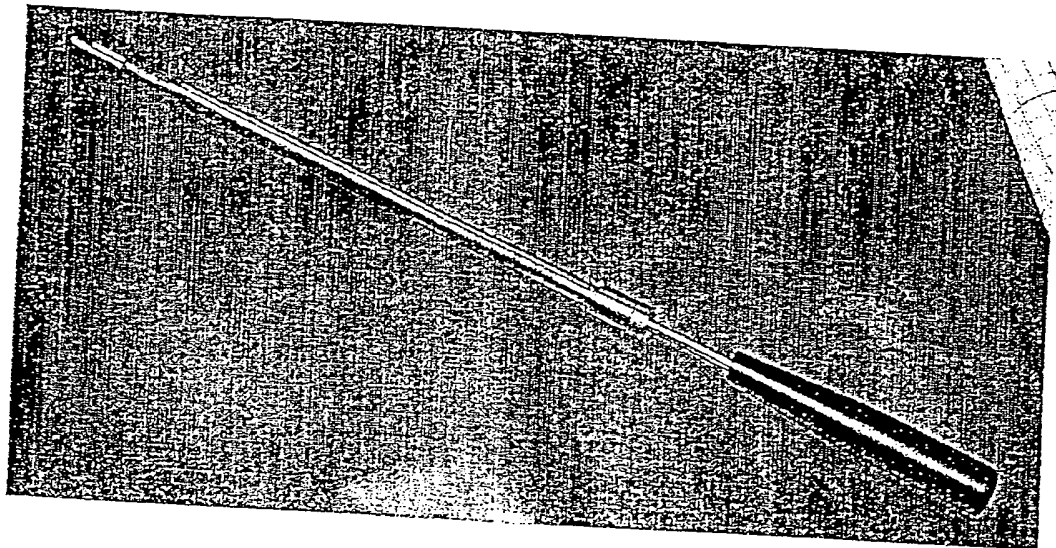
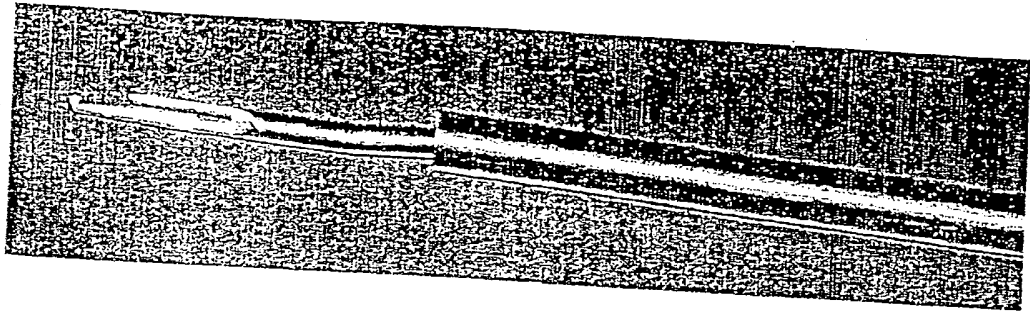


FIG.7

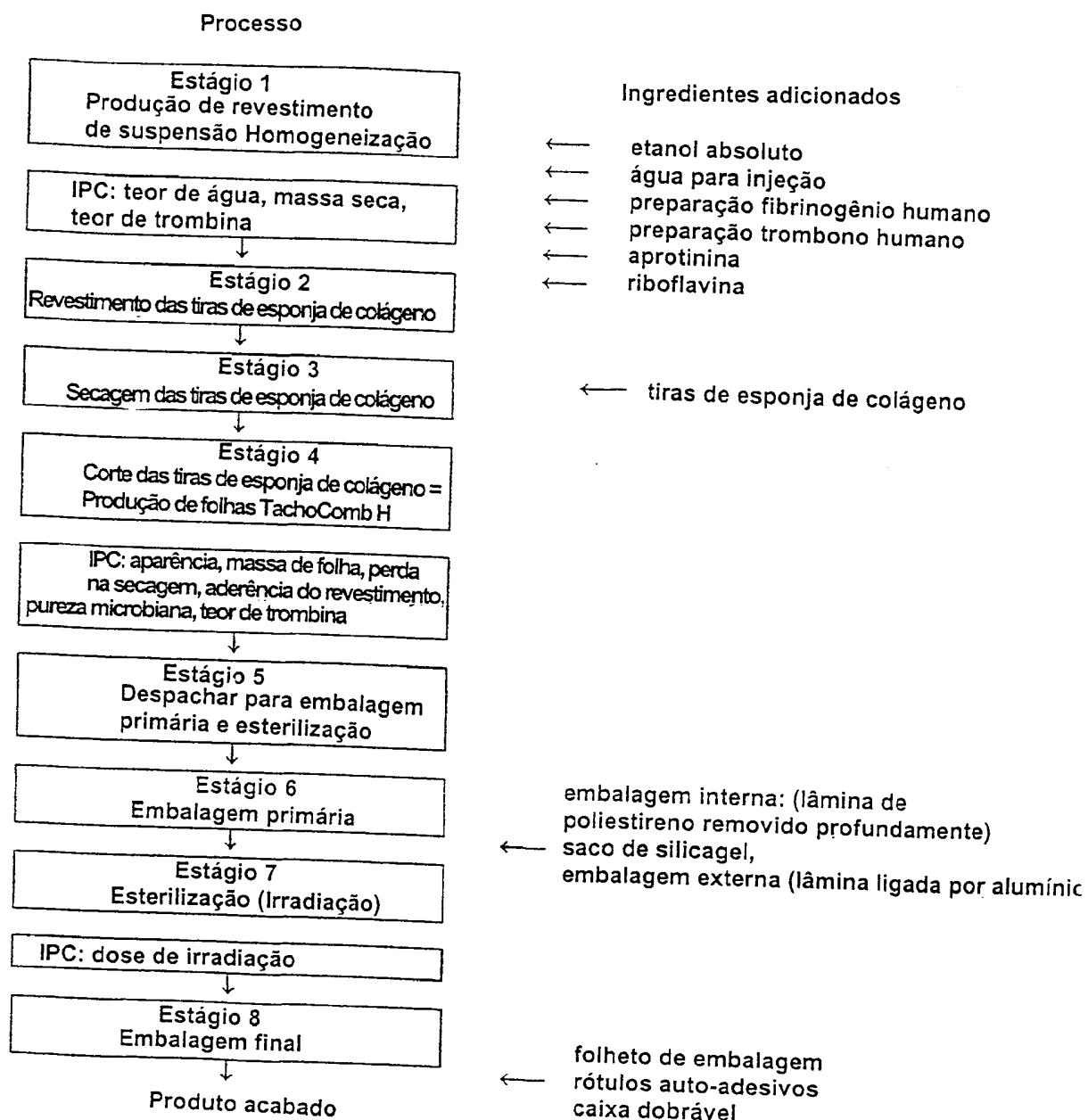
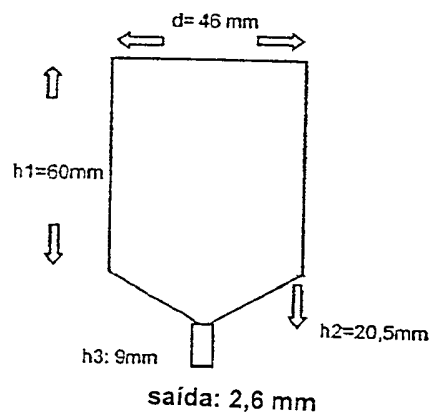


FIG.8

1. Aço inoxidável de alto grau
volume de descarga: 110 ml



2. Plástico
volume de descarga: 96 ml

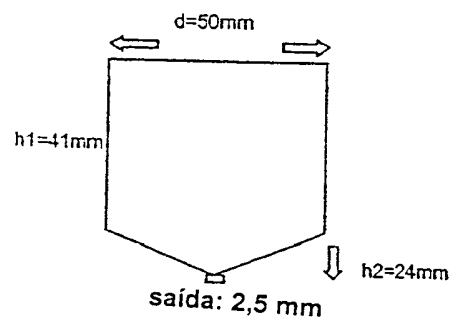


FIG.9

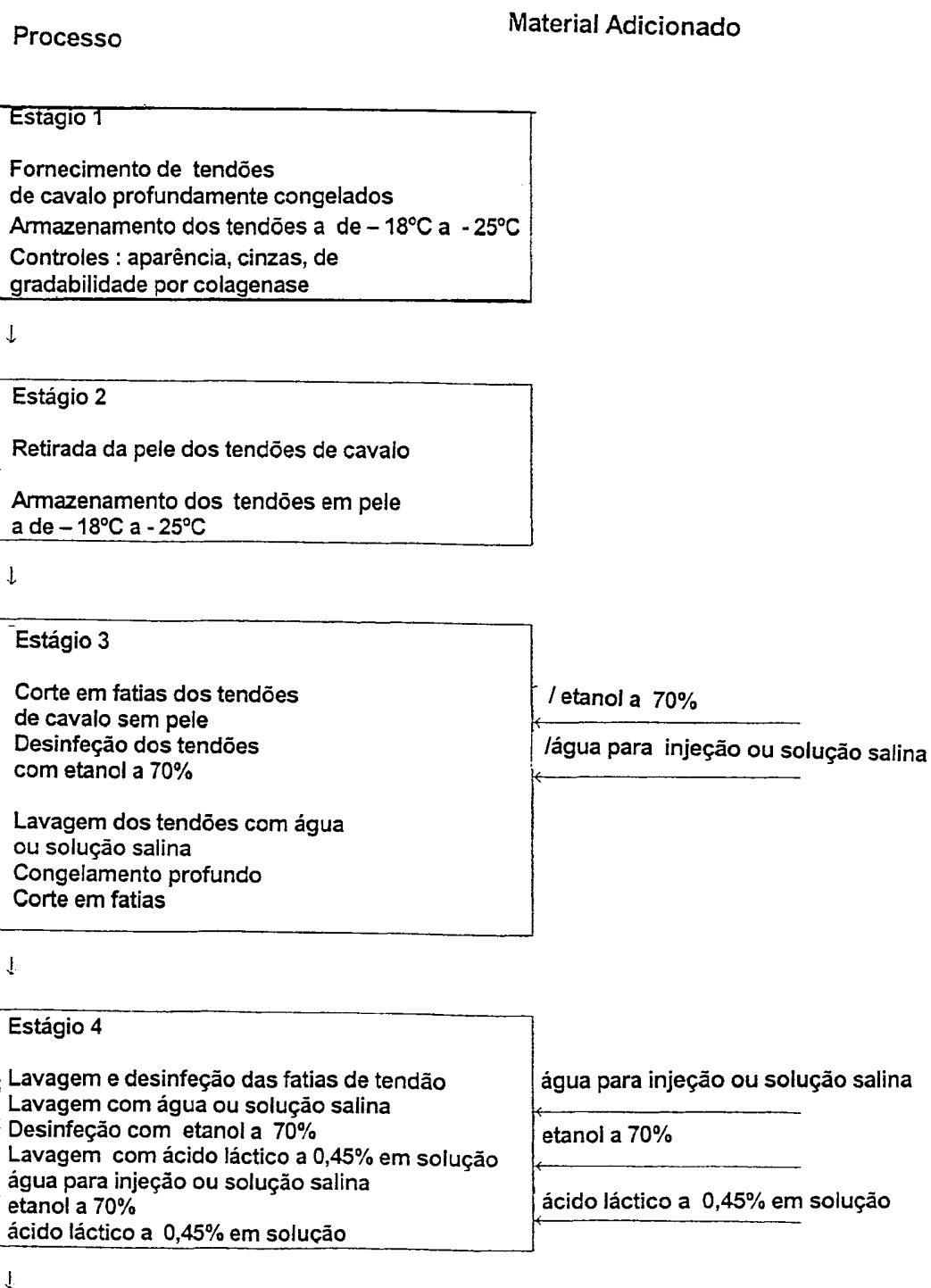


FIG.10

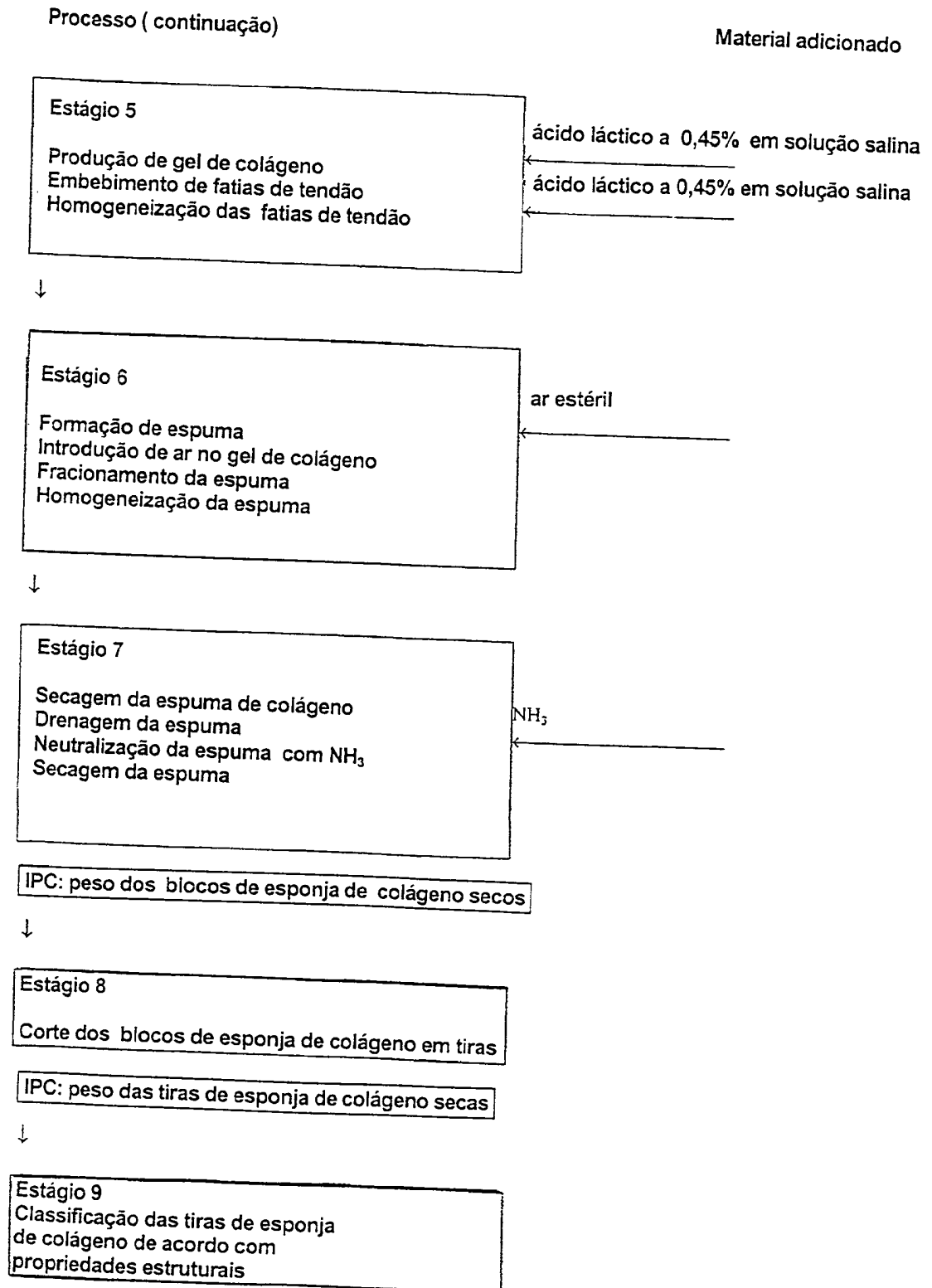


FIG.11

RESUMO

“SUSPENSÃO, MÉTODOS PARA PREPARAR UMA SUSPENSÃO COM FIBRINOGENIO E TROMBINA, PARA REVESTIR UM VEÍCULO COM A REFERIDA SUSPENSÃO, E PARA SECAR A REFERIDA SUSPENSÃO”

Uma suspensão de fibrinogênio, trombina, álcool e opcionalmente aprotinina é obtida pela misturação e fibrinogênio em álcool com trombina em álcool. A suspensão contém partículas de fibrinogênio e trombina com um diâmetro médio de Folk Ward de 25- 100 μm . A trombina pode ser humana, bovina ou recombinante. O fibrinogênio pode ser humano ou recombinante. Um método para o revestimento de um veículo, tal como uma esponja de colágeno, com a suspensão, e um método para a secagem do revestimento é exposto. O veículo de colágeno revestido pode ser usando como uma composição absorvível, pronta para o uso para a colagem de tecido, vedação de tecido e hemostasia, em que o veículo é revestido com componentes solidamente fixados de cola de fibrina, isto é fibrinogênio e trombina.