



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101997900606013
Data Deposito	24/06/1997
Data Pubblicazione	24/12/1998

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	M		

Titolo

CONTENITORE DI PRONTO IMPIEGO PER OTTENERE COLLA DI FIBRINA AUTOLOGA
--

24 GIU. 1997

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

"CONTENITORE DI PRONTO IMPIEGO PER OTTENERE COLLA DI
FIBRINA AUTOLOGA"

a nome del Signor Roberto BERETTA, di nazionalità italiana e residente in
MILANO.

=====

La presente invenzione riguarda un contenitore per la preparazione di colla di fibrina autologa, ed in particolare un contenitore di pronto impiego provvisto di un adatto starter da utilizzare per ottenere colla di fibrina autologa.

È noto che la colla di fibrina autologa è un emoderivato che trova largo impiego quale adesivo topico chirurgico o come agente emostatico. Esistono in commercio confezioni che contengono fibrinogeno concentrato proveniente da donatore, il quale è associato ad uno starter proteico di origine umana od animale come la trombina o batroxobina, per ottenere colla di fibrina eterologa.

Tali confezioni note implicano l'uso di materiale di origine umana o animale che, a causa della sua origine, può presentare problemi di possibile contaminazione di tipo virale con seri rischi per il ricevente della colla di fibrina. In passato si sono già verificati casi in cui gli organi tutelari sono stati a più riprese indotti alla sospensione della commercializzazione o addirittura al bando degli emoderivati ottenuti impiegando materiale di origine umana o animale. Sono noti inoltre in letteratura casi di rigetto che hanno accompagnato i reimpianti della fibrina originata con l'impiego di proteine umane o animali nei pazienti. Tali casi sono indotti proprio dall'origine

estranea all'organismo del ricevente della proteina sigillante che si andava a reimpiantare o di alcuni componenti utilizzati per la sua preparazione.

La colla di fibrina autologa, cioè ottenuta dal sangue dello stesso paziente, offre maggiore garanzia contro rischi di rigetto e/o di infezioni. Sono già stati descritti vari procedimenti per ottenere in modo estemporaneo colla di fibrina autologa, ma non esistono attualmente in commercio anche confezioni pronte per l'uso.

Scopo della presente invenzione è pertanto quello di fornire un contenitore di pronto impiego il quale consenta di ottenere colla di fibrina autologa, ed in particolare non dia luogo ad infezioni virali oppure a fenomeni di rigetto quando viene impiegato in chirurgia.

Tale scopo viene conseguito con un contenitore contenente uno starter del processo coagulativo che non è di origine umana o animale, bensì è una sostanza inorganica di sintesi che quindi non può essere infetta e che non dà luogo a rigetto essendo un composto inorganico.

Le caratteristiche del contenitore di pronto impiego secondo la presente invenzione sono specificate nella rivendicazione 1.

Il contenitore di pronto impiego secondo la presente invenzione presenta il notevole vantaggio di consentire la produzione di colla di fibrina autologa che può essere impiegata senza rischi di infezioni virali o fenomeni di rigetto. Un altro vantaggio del contenitore di pronto impiego secondo la presente invenzione è quello di consentire l'ottenimento di colla di fibrina autologa a costi proporzionalmente ridotti rispetto alle confezioni note.

Ulteriori caratteristiche e vantaggi del contenitore formante oggetto della presente invenzione risulteranno evidenti agli esperti del ramo dalla

seguinte dettagliata descrizione di una sua forma realizzativa con riferimento ai seguenti esempi operativi.

ESEMPIO 1

Si prese un contenitore di vetro per antibiotici tappabile sotto vuoto da 5 ml in vetro trasparente bianco inerte spesso 1 mm e vi si introdussero 100 mg di acido tranexamico che agisce da stabilizzante della fibrina. L'acido tranexamico sintetico con purezza superiore al 98% è messo in commercio dalla ditta statunitense Sigma Inc. A parte si preparò una soluzione 1M di CaCl_2 pesando con bilancia di precisione 147,0 g di $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (purezza > 99%) della stessa ditta statunitense Sigma Inc. Questo sale venne disciolto in 1 litro esatto di acqua distillata ultrapura apirogena, in pochi minuti a temperatura ambiente agitando frequentemente la miscela. Mediante un dispensatore di precisione a stantuffo, con precisione di dispensazione $\pm 5\%$ (tipo Eppendorf) si introdussero nel contenitore di vetro 80 μl della soluzione starter. In questa fase, contemporaneamente alla dispensazione, venne eseguita una filtrazione con filtro Millipore da 0,22 μm sterilizzatore, avendo particolare cura di evitare possibili contaminazioni da polveri o filamenti di qualsiasi genere. Al termine si procedette alla tappatura del contenitore di vetro con un tappo di gomma forabile e tappabile sotto vuoto avendo l'accortezza di non tappare completamente il contenitore in modo da permettere la tappatura successiva sotto vuoto ed eventualmente la successiva sterilizzazione con l'impiego di gas. Il contenitore venne quindi introdotto in un apposito dispositivo per la tappatura sotto vuoto avendo cura di evitare qualsiasi contaminazione da particelle solide presenti in atmosfera (filtrazione HEPA o ULPA in camera bianca). All'atmosfera interna del dispositivo venne

applicato, tramite una pompa da vuoto a membrana ed un regolatore micrometrico, un vuoto pari a 4 ml. Il controllo del livello di vuoto nell'atmosfera interna venne effettuato con l'impiego di un vacuometro di precisione (tolleranza ± 1 mbar). A questo punto, senza sfiatare il dispositivo, si procedette alla tappatura sotto vuoto del contenitore che venne recuperato per essere utilizzato come verrà descritto nell'Esempio che segue.

ESEMPIO 2

Si prelevarono 10 ml di sangue venoso da un paziente seguendo le raccomandazioni degli standard qualitativi per le analisi di laboratorio, per esempio con l'utilizzo di provette sterili sotto vuoto Vacutainer, additivate con una soluzione di citrato sodico 0,106 M. Particolare cura venne tenuta al mantenimento della sterilità del campione in fase di prelievo. Al termine del prelievo si agitò dolcemente la provetta per miscelare bene i componenti assicurando quindi l'azione anticoagulante del citrato sodico. La provetta venne quindi inserita in un'apposita centrifuga avendo cura di bilanciare il peso del rotore per evitare guasti della centrifuga stessa. Dopo aver chiuso il coperchio si procedette alla centrifugazione del campione a 3500 rpm per 15 minuti ottenendo la separazione dei globuli rossi (più densi) dal plasma citratato (sopranatante). La resa di plasma, che dipende prevalentemente dalle caratteristiche del sangue del donatore, in quel caso fu del 55%. La provetta contenente il plasma separato venne mantenuta tappata in condizioni sterili e depositata verticalmente in uno stativo per procedere al recupero del plasma. In questa fase si ebbe l'accortezza di non agitare in alcun modo la provetta onde evitare il rimescolamento delle due fasi separate nella centrifugazione. Si procedette quindi alla sterilizzazione della parte esterna del tappo della

provetta con alcool denaturato e successivamente si introdusse un ago sterile collegato ad una siringa sterile nel tappo della provetta. Si portò la punta dell'ago a 3-4 mm dal menisco di separazione delle due fasi e si prelevarono 4 ml di plasma. Usando lo stesso ago si forò il tappo del contenitore secondo la presente invenzione preparato come descritto nell'Esempio 1, dopo averne preventivamente sterilizzato il suo tappo con alcool. Non appena l'ago forò il tappo, il plasma citratato contenuto nella siringa venne risucchiato completamente nel contenitore. Questo venne agitato dolcemente e dopo circa 2 minuti a 37° si ottenne un coagulo di colla di fibrina autologa sterile già pronta per l'impiego immediato.

Come contenitore di vetro da impiegare nella realizzazione della presente invenzione in alternativa al contenitore per antibiotici descritto nell'Esempio 1, possono essere impiegate anche provette di vetro o di plastica da 5 a 15 ml di volume aventi diametro compreso tra 12 e 16 mm ed un'altezza compresa tra 75 e 100 ml. Lo spessore del contenitore dovrà essere idoneo a resistere alle sollecitazioni della differenza di pressione tra il suo interno e l'atmosfera quando viene evacuato. Tale spessore sarà di circa 0,7 mm per le provette a fondo emisferico o conico e di circa 1 mm per i contenitori a fondo piatto. I contenitori in plastica saranno preferibilmente di resina acrilica trasparente con spessore da 0,2 a 0,8 mm in modo da assicurare la tenuta del vuoto per almeno 12 mesi dopo la produzione. Le provette in plastica, dopo la preparazione, vengono eventualmente inserite in un contenitore ermetico sotto vuoto di stagnola con strato interno in polietilene sigillato a caldo, per garantire una tenuta perfetta sino alla data dell'utilizzo.

Va tenuto presente che l'evaporazione dei contenitori o delle provette

è raccomandabile, ma non è indispensabile per la realizzazione della presente invenzione.

La chiusura dei contenitori o delle provette verrà effettuata con tappi forabili di gomma o silicone atti a garantire la perfetta tenuta del vuoto e consentire la possibilità di tappatura sotto vuoto dopo l'introduzione dei componenti chimici e prima del passaggio alla fase di sterilizzazione a vapore.

Dopo la tappatura i contenitori possono essere sottoposti alla sterilizzazione con vapore a 121° C per circa 30 minuti. È anche possibile effettuare la sterilizzazione utilizzando irradiazione con raggi gamma o beta.

Come stabilizzante della fibrina, al posto dell'acido tranexamico può essere impiegato acido epsilon-amino-caproico puro, cristallino. La sua quantità sarà di circa 1 g quando si impiega un contenitore da 25 ml di volume che serve per una quantità di 20 ml di plasma. Spesso l'impiego dello stabilizzante della fibrina può non essere necessario.

Il $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ può essere introdotto nel contenitore, oltre che in soluzione come descritto nell'Esempio 1, anche in forma solida. Per esempio, nel caso di un contenitore da 5 ml si introdurranno in esso 11,76 mg di cloruro di calcio diidrato utilizzando un dosatore di precisione (errore massimo: 1-2 mg) per evitare l'inserimento di componenti estranei inquinanti.

Nel caso di contenitore da 15 ml di volume per una quantità di 12 ml di plasma, il cloruro di calcio diidrato solido da inserire ammonta a 35,28 mg, mentre la quantità di acido tranexamico sarà proporzionalmente di circa 300 mg di cristallo.

Se il contenitore è da 25 ml di volume per una quantità di 20 ml di plasma, il cloruro di calcio diidrato da inserire sarà di 58,8 mg mentre la

quantità di acido tranexamico sarà proporzionalmente di 500 mg di cristallo.

Oltre che nella forma diidrata usata negli esempi, il cloruro di calcio può essere anche in qualsiasi altra forma idonea reperibile sul mercato, per esempio come $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Altre varianti, aggiunte e modifiche possono essere apportate dagli esperti del ramo al contenitore secondo la presente invenzione restando nell'ambito dell'invenzione stessa.

RIVENDICAZIONI

1. Contenitore di pronto impiego per preparare colla di fibrina autologa comprendente uno starter di coagulazione, caratterizzato dal fatto di contenere come starter di coagulazione cloruro di calcio.
2. Contenitore secondo la precedente rivendicazione, caratterizzato dal fatto di contenere anche uno stabilizzante della fibrina.
3. Contenitore secondo la precedente rivendicazione, caratterizzato dal fatto che come stabilizzante della fibrina si usa acido tranexamico.
4. Contenitore secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che come stabilizzante della fibrina si impiega acido epsilon-amino-caproico.
5. Contenitore secondo una delle precedenti rivendicazioni, caratterizzato dal fatto di essere sotto vuoto.
6. Metodo per preparare colla di fibrina autologa mediante il contenitore secondo una delle precedenti rivendicazioni, caratterizzato dal fatto di prelevare il sangue da un paziente, separarne il plasma e portarlo a contatto con cloruro di calcio in ambiente sterile.

pp. Roberto BERETTA

Il mandatario Pasquale Pizzoli
(Iscr. Albo n. 128)

(Società Italiana Brevetti S.p.A.)

PVP/amp/MI/011457/IN

