



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 830**

51 Int. Cl.:  
**A61L 15/32** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05026012 .4**

96 Fecha de presentación : **06.12.1999**

97 Número de publicación de la solicitud: **1695722**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.08.2006**

54 Título: **Espuma hemostática a base de colágeno.**

30 Prioridad: **11.12.1998 US 209600**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**27.05.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**27.05.2011**

73 Titular/es: **C.R.BARD, Inc.**  
**730 Central Avenue**  
**Murray Hill, New Jersey 07974, US**

72 Inventor/es: **Maddalo, Francis, B.;**  
**Iampietro, Mark, V.;**  
**Eldridge, Stephen, N. y**  
**Torgerson, Robert, D.**

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 359 830 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCION**

Espuma hemostática a base de colágeno.

**CAMPO DEL INVENTO**

Este invento se refiere al campo de los dispositivos hemostáticos para controlar y reprimir una hemorragia.

**5 ANTECEDENTES DEL INVENTO**

Una hemorragia incontrolada puede dar como resultado una conmoción y la muerte. En pacientes quirúrgicos y en pacientes que reciben una medicación anticoagulante, el problema de la rápida pérdida de sangre que surge, por ejemplo, de una hemorragia o de un vaso sanguíneo, de un tejido corporal, de un órgano o de un hueso, puede dar lugar a una situación amenazadora de la vida.

10 Están comercialmente disponibles unos dispositivos biodegradables para controlar una hemorragia. Sin embargo, muchos de estos dispositivos requieren que la impregnación de agentes proteínicos tales como trombina o fibrinógeno sea efectiva. Desafortunadamente, se requieren unas condiciones de almacenamiento especiales para conservar la actividad hemostática de estos agentes proteínicos. Por ejemplo, muchos de estos dispositivos deben de ser almacenados en condiciones de refrigeración para mantener la bioactividad de los dispositivos hemostáticos, dentro  
15 de los que se han impregnado los agentes proteínicos. Tales requisitos prohíben ciertas aplicaciones en el campo del parche, en donde no están disponibles unas instalaciones de refrigeración. Otro problema con ciertos dispositivos hemostáticos comercialmente disponibles es su falta de flexibilidad en el estado seco. Muchos dispositivos hemostáticos no se acomodan con facilidad a la forma de la superficie corporal a la que ellos se aplican. Además, unos dispositivos hemostáticos que incluyen además agentes hemostáticos, tales como trombina, requieren típicamente que la trombina sea reconstituida y añadida a los dispositivos secos inmediatamente antes del uso para proporcionar un dispositivo hemostático flexible que tenga una suficiente actividad hemostática para controlar una hemorragia.

20 El documento de patente de los EE.UU. US-A-4390519 se refiere a un artículo homeostático producido combinando un colágeno o una sustancia similar a un colágeno con una almohadilla o esponja. El colágeno es sometido a la acción de HCl durante la preparación.

25 El documento de solicitud de patente europea EP-A-0463887 describe fibras de colágeno producidas reticulando la molécula de colágeno de una fibra de colágeno soluble en agua y luego liofilizando la fibra de colágeno reticulada. La fibra de colágeno es sometida a la acción de ácido acético acuoso 0,5 M.

30 Z. Wachol-Drewek y colaboradores, en Biomaterials, 1996, volumen 17, nº 17, páginas 1733-1738, se refieren a unos granulados de colágeno que están suspendidos en un agua que contiene gentamicina. La suspensión que contiene el fármaco es congelada y luego secada por congelación (liofilización) antes de ser envasada y esterilizada.

El documento US-A-4760131 describe una composición para la curación de heridas en tejidos blandos, que comprende una mezcla acuosa de colágeno fibrilar.

El documento US-A-5800372 se refiere a un colágeno microfibrilar y a un polímero superabsorbente combinado en un vendaje homeostático.

35 El documento US-A-5219576 se refiere a matrices para la curación de heridas a base de un colágeno y a un procedimiento para preparar dichas matrices. El colágeno usado en el documento D6 es formado por fibrillas que no están reticuladas químicamente y tiene una densidad a granel de 0,01-0,3 g/cm<sup>3</sup> y una población de poros, en la que por lo menos un 80 % de los poros tiene un tamaño medio de poros de 35-250 micrómetros.

40 William A Peper y colaboradores, en Surgery, Mayo de 1986, páginas 557-563, describe un colágeno dérmico liofilizado derivado de un cerdo, que contiene una superficie de colágeno microfibrilar.

**SUMARIO DEL INVENTO**

45 El invento está definido en las presentes reivindicaciones. El invento proporciona un dispositivo hemostático que resuelve los problemas antes descritos y de otro tipo de los dispositivos de la técnica anterior. También se proporcionan unos métodos para preparar los dispositivos hemostáticos del invento. Los dispositivos hemostáticos del invento no requieren que sean eficaces los agentes proteínicos añadidos por vía exógena. De modo correspondiente, los dispositivos hemostáticos del invento pueden resistir temperaturas elevadas y no requieren ninguna refrigeración para retener una eficacia hemostática. Además, los dispositivos hemostáticos aquí descritos son fáciles de usar y se amoldan con facilidad a los contornos del cuerpo. Correspondientemente, los dispositivos hemostáticos del invento son particularmente útiles para tratar las problemáticas hemorragias de órganos parenquimales, la columna vertebral y el cerebro. Tales dispositivos hemostáticos pueden ser esterilizados y envasados en un envase estéril para aplicaciones farmacéuticas.

50 De acuerdo con un aspecto del invento, se proporciona un procedimiento para preparar un dispositivo hemostático del invento. El procedimiento implica: (a) suspender una pluralidad de partículas de colágeno en agua para

5 formar una suspensión espesa de colágeno, en la que las partículas de colágeno tienen una densidad a granel suficiente para formar una suspensión en agua y en la que la suspensión espesa de colágeno tiene una concentración situada en el intervalo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 2 % (en peso/volumen); y (b) liofilizar (secar por congelación) la suspensión espesa de colágeno para formar un dispositivo hemostático. Los dispositivos hemostáticos que se forman de acuerdo con este método son unas espumas, preferiblemente unas espumas reticuladas de celdillas abiertas. Las espumas son también citadas en la especialidad como "esponjas". Preferiblemente, las partículas de colágeno del dispositivo hemostático tienen una actividad hemostática que es equivalente a la actividad hemostática de las partículas de colágeno, a partir de las cuales se forma el dispositivo hemostático. Más preferiblemente, los dispositivos hemostáticos están formados a base de una harina de Avitene® y las partículas de colágeno de los dispositivos del invento tienen una actividad hemostática equivalente a la actividad hemostática de la harina de Avitene®.

10 La hemostasis es un término de la especialidad, que se refiere al cese de una hemorragia. Aunque no desea estar vinculado a ninguna teoría ni a ningún mecanismo particular, se cree que la evitación del contacto entre las partículas de colágeno y una solución de un ácido y la minimización de la exposición del colágeno a condiciones desnaturalizadoras, tales como una cizalladura mecánica excesiva, una alta temperatura o largos tiempos de permanencia en H<sub>2</sub>O durante el proceso de fabricación, da como resultado una mayor retención de la actividad hemostática por las partículas de colágeno en comparación con unas partículas que han sido sometidas a dichas condiciones desnaturalizadoras. Correspondientemente, los dispositivos hemostáticos del invento tienen una mayor actividad hemostática en comparación con los convencionales dispositivos hemostáticos a base de colágeno, en los cuales el procedimiento de fabricación ha implicado una disolución del colágeno en una solución de un ácido.

15 En una forma de realización del invento, el método para formar un dispositivo hemostático del invento implica suspender una pluralidad de partículas de colágeno (preferiblemente, fibrillas de colágeno) en agua para formar una suspensión espesa de colágeno y someter la suspensión espesa de colágeno a una liofilización (desecación por congelación) para formar el dispositivo hemostático. Las partículas de colágeno tienen una densidad a granel suficiente para formar una suspensión en agua. En general, la densidad a granel de las partículas de colágeno está situada en el intervalo de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 3,5 lbs/ft<sup>3</sup> (libras por pie cúbico) y más preferiblemente de alrededor de 2 a alrededor de 3 lbs/ft<sup>3</sup>. Las partículas son suspendidas en agua para obtener una concentración del colágeno situada en el intervalo desde aproximadamente 1 % hasta aproximadamente 2 % (en peso/volumen) y, más preferiblemente, en el intervalo desde aproximadamente 1,1 % hasta aproximadamente 1,64 % (en peso/volumen). En las formas preferidas de realización, los dispositivos hemostáticos están formados a base de unas partículas de colágeno que no han sido sometidas a una disolución en ácidos ni a otras condiciones desnaturalizadoras.

20 De acuerdo con todavía otro aspecto del invento, se proporciona un producto preparado por el procedimiento antes descrito. Una forma particular de realización de este procedimiento se proporciona en los Ejemplos. El procedimiento, opcionalmente, incluye además la operación de reticular el colágeno dentro de los dispositivos hemostáticos del invento, p.ej. por calentamiento de las fibras de colágeno del invento a una temperatura y durante un período de tiempo que son suficientes para formar reticulaciones, preferiblemente sin reducir sustancialmente la actividad hemostática de la fibra de colágeno. Preferiblemente, los dispositivos hemostáticos reticulados retienen al menos aproximadamente un 80 %, más preferiblemente al menos aproximadamente un 90 % y de manera sumamente preferible al menos aproximadamente un 95 % de la actividad hemostática, en comparación con la actividad hemostática del dispositivo hemostático antes de la reticulación.

25 En ciertas formas preferidas de realización, el dispositivo hemostático está formado a base de unas partículas de colágeno que tienen una actividad hemostática equivalente a la actividad hemostática de las partículas de colágeno, a partir de las cuales se forma el dispositivo. En las formas preferidas de realización, el dispositivo hemostático está formado a base de una harina de colágeno, preferiblemente una harina de Avitene®, que no ha sido sometida a disolución en un ácido. En estas y otras formas de realización, el dispositivo hemostático tiene preferiblemente una densidad de desde aproximadamente 0,015 a aproximadamente 0,023 g/cm<sup>3</sup> (gramos/centímetro cúbico), y/o un tanto en por ciento en peso de materiales sólidos que fluctúa entre aproximadamente 1,10 y aproximadamente 1,64 tantos por ciento en peso.

30 En todavía otras formas de realización, el dispositivo hemostático del invento está formado a base de un colágeno y tiene una actividad hemostática en un modelo en animales de hemostasis en bazo de porcino, que corresponde a una tamponada para un dispositivo hemostático que tiene un espesor de 3/8 de pulgada, una longitud de 1/2 de pulgada y una anchura de 1/2 de pulgada. Un modelo ilustrativo de hemostasis en un animal en un bazo de cerdo se proporciona en los Ejemplos.

35 En ciertas formas de realización los dispositivos hemostáticos del invento incluyen además una cantidad favorecedora de la hemostasis de por lo menos un agente hemostático. Como se usa en el presente contexto, una "cantidad favorecedora de la hemostasis" es la cantidad efectiva para acelerar la formación de coágulos en una interfase entre una superficie (p.ej. de una herida o lesión) y el dispositivo hemostático. Unos agentes hemostáticos ilustrativos incluyen una molécula de trombina, una molécula de fibrinógeno, una fuente de iones de calcio, un péptido RGD, sulfato de protamina, un ácido épsilon amino-caproico y quitina. En las formas preferidas de realización, el agente hemostático es trombina. Los agentes hemostáticos se pueden introducir dentro de los dispositivos hemostáticos en cualquier etapa durante la preparación de estos dispositivos, incluyendo añadir el agente hemostático a la suspensión espesa de

colágeno, liofilizar los agentes dentro del dispositivo hemostático durante su preparación o aplicar los agentes al dispositivo después del tratamiento.

En ciertas formas de realización, los dispositivos hemostáticos del invento incluyen además una cantidad efectiva terapéuticamente de por lo menos un agente terapéutico, tal como unos agentes que favorecen la curación de las heridas y/o que reducen el dolor (p.ej. un dolor vascular). Los agentes que favorecen la curación de las heridas y/o reducen el dolor incluyen unos agentes antiinflamatorios (esteroideos y no esteroideos) tales como unos agentes que inhiben la migración de los leucocitos dentro de la zona de una lesión quirúrgica, anti-histaminas, agentes que inhiben la formación de radicales libres y agentes bacteriostáticos o bactericidas.

Diversos aditivos, opcionalmente, se pueden incorporar dentro de los dispositivos hemostáticos del invento sin reducir sustancialmente la actividad hemostática de estos dispositivos. El término "vehículo aceptable farmacéuticamente", tal como se usa aquí significa uno o más materiales de carga, diluyentes o sustancias encapsuladoras sólidos/as o líquidos/as compatibles, que son apropiadas para su administración a un ser humano. El término "vehículo" designa a un ingrediente orgánico o inorgánico, natural o sintético, con el que se combina el ingrediente activo para facilitar la aplicación. Los componentes de las composiciones farmacéuticas son también capaces de ser mezclados con las fibrillas de colágeno del presente invento, y unos con otros, de una manera tal que no haya ninguna interacción que perjudique sustancialmente a la deseada actividad hemostática.

Los dispositivos hemostáticos del invento tienen preferiblemente una o más propiedades mecánicas (p.ej. resistencia a la tracción, humectabilidad) y/o funcionales (actividad hemostática), que son equivalentes a, o mayores que, las de los dispositivos hemostáticos comercialmente disponibles, tales como Gelfoam® 100 (de Upjohn Company), Actifoam® (de Davol Inc., Cranston, Rhode Island) y Helistat® (de Johnson & Johnson Medical Inc., Arlington, Texas). La Gelfoam® es una esponja de gelatina absorbible y se describe en el documento de patente de los EE.UU U.S. 2.465.357. La Actifoam® es una esponja de colágeno reticulada y se describe en los documentos U.S. 4.953.299 y 5.331.092. La Helistat® es una esponja de colágeno absorbible que está formada a base de un colágeno de tendones.

Los dispositivos hemostáticos del invento se pueden conformar en una diversidad de formas. En ciertas formas de realización, el dispositivo hemostático está en la forma de una lámina flexible que, opcionalmente, es envasada en un envase estéril. Se consideran también unas formas más complejas. Los dispositivos hemostáticos del invento son útiles para favorecer una hemóstasis en un sitio con hemorragia (p.ej. reducir o eliminar una hemorragia desde una herida). Correspondientemente, un aspecto adicional del invento implica unos métodos para favorecer una hemóstasis. En general, dichos métodos del invento incluyen comprimir manualmente un dispositivo hemostático del invento contra una superficie con hemorragia, tal como una superficie de una herida o una superficie de una lesión en un órgano, tejido u otra superficie con hemorragia de, p.ej., un órgano parenquimal (p.ej. bazo, hígado, pulmones o páncreas), una columna vertebral, un cerebro, durante un período de tiempo necesario hasta que se haya producido una coagulación en la interfase entre el dispositivo hemostático y la superficie.

Se han resumido anteriormente un cierto número de formas de realización del invento. Sin embargo, deberá entenderse que las diversas limitaciones presentadas en cada forma de realización no son mutuamente excluyentes y que, correspondientemente, las limitaciones se pueden combinar para obtener unos aspectos adicionales del invento.

#### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

La Figura 1 muestra una estructura de espuma de celdillas abiertas, reticulada, como se ilustra en una fotocopia de la imagen tomada en SEM (microscopio electrónico de barrido) para un dispositivo hemostático representativo del invento.

La Figura 2 muestra las respuestas hemostáticas para un dispositivo hemostático del invento (que se cita como Ultrafoam®) en comparación con Gelfoam®, indicando que un Ultrafoam® sin trombina se comporta significativamente mejor que una Gelfoam® sin trombina.

#### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FORMAS PREFERIDAS DE REALIZACIÓN**

De acuerdo con un aspecto del invento, se proporciona un dispositivo que tiene una actividad hemostática ("dispositivo hemostático"). El dispositivo hemostático comprende un elemento estructural conformado que es una matriz biodegradable formada a base de un colágeno como un colágeno microfibrilar (p.ej. una harina de Avitene® absorbible), que no ha sido sometida a una disolución en un ácido y que ha sido expuesta a unas condiciones desnaturalizadoras mínimas. Aunque los solicitantes no desean estar vinculados a ninguna teoría ni a ningún mecanismo particular, se cree que la evitación del contacto del colágeno con una solución de un ácido y la minimización de la exposición del colágeno a condiciones desnaturalizadoras antes de, y durante, el proceso para formar el dispositivo, da como resultado una mayor retención de la actividad hemostática por el material de partida de colágeno. En una forma de realización preferida, el dispositivo hemostático del invento está formado a base de una harina de colágeno, preferiblemente una harina de Avitene®, que no ha sido sometida a disolución en un ácido ni expuesta a condiciones desnaturalizadoras, tales como, p.ej., una cizalladura mecánica excesiva, altas temperaturas o largos de períodos de tiempo de permanencia en agua. Correspondientemente, el invento proporciona unos dispositivos hemostáticos que tienen unas propiedades hemostáticas mejoradas inesperadas en comparación con los dispositivos hemostáticos de la técnica

anterior, que son formados por unos procedimientos que implican una disolución de un colágeno en una solución de un ácido o una exposición a condiciones desnaturalizadoras.

De acuerdo con un aspecto del invento, se proporciona un método para preparar un dispositivo hemostático. El método implica: (a) suspender una pluralidad de partículas de colágeno (preferiblemente fibrillas de colágeno) en agua para formar una "suspensión espesa de colágeno", en la que las partículas de colágeno tienen una densidad a granel suficiente para formar una suspensión en agua (preferiblemente, en el intervalo de aproximadamente 1,5 hasta aproximadamente 3,5 lbs/ft<sup>3</sup>) y en que la suspensión espesa de colágeno tiene una concentración de colágeno situada en el intervalo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 2 % (en peso/volumen); y (b) liofilizar la suspensión espesa de colágeno para formar un dispositivo hemostático. En ciertas formas preferidas de realización, las partículas de colágeno que se usan para formar los dispositivos hemostáticos del invento tienen una densidad a granel situada en el intervalo de aproximadamente 2 hasta aproximadamente 3 lbs/ft<sup>3</sup>. En estas y otras formas de realización preferidas, la suspensión espesa de colágeno tiene una concentración de colágeno situada en el intervalo de aproximadamente 1,1 % hasta aproximadamente 1,64 % (en peso/volumen).

El procedimiento del invento evita tener que disolver el colágeno en una solución de un ácido y reduce al mínimo la exposición del colágeno a otras operaciones del procedimiento que podrían desnaturalizar al colágeno y, por lo tanto, afectar desfavorablemente a su actividad hemostática. En las formas preferidas de realización, el colágeno es un colágeno microfibrilar; más preferiblemente una harina de colágeno tal como una harina de Avitene®. Correspondientemente, en ciertas formas de realización, las partículas de colágeno de los dispositivos hemostáticos del invento tienen una actividad hemostática que es aproximadamente la misma actividad que la de la harina de Avitene®. La harina de Avitene® es un hemostato de colágeno microfibrilar que está indicado para todas las especialidades quirúrgicas, incluyendo la neurocirugía, las operaciones vasculares, ortopédicas, urológicas y otras generales. El Avitene® está disponible a partir de Davol, Inc. (números de productos 101001, 101002, 101003, 101004 y 101034, Cranston, Rhode Island). El procedimiento para preparar una harina de Avitene® se describe en la patente de los EE.UU. n° 3.742.955, expedida a Battista y colaboradores.

Tal como se usa en el presente contexto, una "actividad hemostática" se refiere a la capacidad de detener una hemorragia y se puede determinar, p.ej., en modelos con animales que están reconocidos como predictivos de un efecto in vivo por los que poseen una experiencia ordinaria en la especialidad. Unos modelos en animales de hemostasis ilustrativos incluyen los modelos en animales de bazos porcinos y caninos. Un preferido modelo en animales para averiguar una actividad hemostática se proporciona en los Ejemplos.

Opcionalmente, el método para preparar los dispositivos hemostáticos del invento incluye además la operación de introducir la suspensión espesa de colágeno dentro de un molde antes de la liofilización de la suspensión espesa de colágeno. El molde tiene una dimensiones suficientes para contener la suspensión espesa durante la operación de liofilización y para proporcionar una plantilla para establecer las dimensiones finales del dispositivo hemostático. En las formas de realización preferidas, el procedimiento incluye también la operación de eliminar ("raspar") una capa superficial de dispositivo hemostático con el fin de eliminar la delgada piel que se forma sobre la superficie del dispositivo hemostático durante una liofilización.

Opcionalmente, el método para preparar los dispositivos hemostáticos del invento incluye además la operación de reticular el dispositivo hemostático con el fin de formar un dispositivo hemostático reticulado. La reticulación se puede realizar de diversas maneras y el grado de la reticulación se puede averiguar en unos ensayos que miden, p.ej., la humectabilidad o mojabilidad del dispositivo o su resistencia a la tracción. Unos ensayos representativos para medir estos parámetros se proporcionan en los Ejemplos. Unos procedimientos ilustrativos para reticular los dispositivos hemostáticos del invento incluyen: (1) poner en contacto la suspensión espesa de colágeno con 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida HCl) (EDC) durante un período de tiempo y en unas condiciones que son suficientes para formar un dispositivo hemostático reticulado; (2) calentar el dispositivo hemostático liofilizado durante un período de tiempo y en unas condiciones que son suficientes para formar un dispositivo hemostático reticulado; (3) exponer el dispositivo hemostático liofilizado a la acción de un haz de electrones durante un período de tiempo y en unas condiciones que son suficientes para formar un dispositivo hemostático reticulado; y (4) exponer el dispositivo hemostático liofilizado a una esterilización con rayos gamma durante un período de tiempo y en unas condiciones que son suficientes para formar un dispositivo hemostático reticulado.

De acuerdo con otro aspecto del invento, los procedimientos para formar los dispositivos hemostáticos del invento incluyen además la operación de introducir un agente hemostático dentro del dispositivo hemostático. El agente hemostático se puede introducir dentro del dispositivo hemostático del invento en cualquier etapa durante el proceso, incluyendo antes de la operación de formación del dispositivo (p.ej. por adición del agente hemostático a la suspensión espesa) y después de la operación de formación del dispositivo (p.ej. por empapamiento del dispositivo hemostático en una solución que contiene uno o más agentes hemostáticos).

Se cree que los dispositivos hemostáticos del invento no requieren ningún agente hemostático para funcionar de una manera efectiva para controlar una hemorragia, p.ej. una hemorragia de un órgano parenquimal. Como resultado de ello, los dispositivos hemostáticos del invento que no contienen adicionalmente un agente hemostático, tienen una buena estabilidad térmica y se pueden almacenar durante varios meses hasta unos pocos años sin refrigeración ni pérdida de efectividad. Dichas formas de realización del invento son útiles para diversas situaciones médicas y son

particularmente útiles para un uso en el campo y de emergencia, puesto que cada una de ellas se puede almacenar en un estado presto para el uso durante un período de tiempo prolongado, incluso en la ausencia de una refrigeración. Tales dispositivos del invento son también menos caros de producir y/o de usar en comparación con los dispositivos hemostáticos que contienen un agente hemostático adicional para conseguir un nivel comparable de actividad hemostática.

Una ventaja de los dispositivos hemostáticos del invento es su flexibilidad en comparación con unos dispositivos hemostáticos tales como el Gelfoam®, es decir que los dispositivos hemostáticos del invento pueden ser proporcionados en una forma que se acomoda con facilidad a los contornos de una superficie de un órgano o una superficie biológica, haciendo más rápida de realizar la manipulación para aplicar los dispositivos. Como resultado, hay menos pérdida global de sangre para el paciente y se pierde menos tiempo en una operación quirúrgica. Además, los dispositivos hemostáticos del invento pueden ser aplicados, en un estado húmedo o seco, a un sitio con hemorragia y no requieren una humectación con una solución estéril antes del uso ni acomodarse al contorno de la superficie biológica a la que ellos son aplicados.

Los dispositivos hemostáticos son formados preferiblemente a base de un colágeno absorbible procedente de cualquier fuente, p.ej. colágeno del corion, colágeno de tendones y, más preferiblemente, los dispositivos son formados a base de un colágeno microfibrilar, incluyendo una harina de colágeno, tal como una harina de Avitene®. La efectividad de los dispositivos del presente invento para favorecer la formación de coágulos es aumentada aun más mediante sus estructuras reticulares que son de un tamaño suficiente para proporcionar interacciones con substratos de enzimas. En particular, la estructura de los dispositivos hemostáticos del invento se selecciona para aumentar el contacto entre la trombina que, opcionalmente, es proporcionada por vía exógena en los dispositivos con fibrinógeno endógeno que está presente en la sangre que exuda desde una herida o lesión del, p.ej., un órgano parenquimal, una columna vertebral o un cerebro.

En ciertas formas de realización, se puede incluir por lo menos un agente hemostático en los dispositivos hemostáticos del invento. Puesto que ciertas combinaciones de agentes hemostáticos pueden actuar de una manera sinérgica, la cantidad de cada agente hemostático puede ser menor que la que se requeriría para mejorar la actividad hemostática de los dispositivos hemostáticos del invento si los agentes se usasen individualmente. Correspondientemente, la cantidad colectiva del o de los agente(s) hemostático(s) que se incluyen en los dispositivos hemostáticos del invento es una "cantidad favorecedora de la hemóstasis", es decir, la cantidad de al menos un agente hemostático que es efectiva para acelerar la formación de coágulos en una interfase entre una superficie (p.ej. de una herida, de una lesión en un órgano parenquimal, la columna vertebral o el cerebro) y un dispositivo hemostático del invento.

Unos agentes hemostáticos ilustrativos, que se pueden aplicar a los dispositivos hemostáticos del invento en unas cantidades efectivas para estimular una hemóstasis, incluyen, pero no se limitan a: trombina, una enzima que convierte el fibrinógeno en fibrina; iones de calcio, sodio, magnesio u otros que estimulan una hemóstasis; sulfato de protamina, un ácido épsilon amino-caproico, fibrinógeno y quitina. El ácido épsilon amino-caproico y sus compuestos análogos, que poseen una estructura química y una actividad hemostática similares para usarse en un dispositivo hemostático, se describen en la patente de los EE.UU. nº 5.645.849, cedida a Clarion Pharmaceuticals. En términos de aditivos con iones, el cloruro de calcio es generalmente un aditivo preferido para introducir un ion de calcio dentro del dispositivo.

De manera adicional o alternativa, el tripéptido RGD, que se compone de arginina, glicina y ácido aspártico, y opcionalmente de serina, "RGDS", se puede incorporar dentro de los dispositivos hemostáticos del invento como un agente hemostático. El RGD es el sitio activo de fibrinógeno y fibronectina. El RGD acelera la curación de heridas y se cree que estimula la migración de los fibroblastos. El aditivo RGD es mucho menos caro que el fibrinógeno, puesto que puede ser sintetizado usando unas condiciones químicas en fase sólida.

El sulfato de protamina se puede añadir a los dispositivos hemostáticos del invento en una cantidad que es efectiva para neutralizar la heparina en el entorno local del dispositivo. En general, la cantidad de sulfato de protamina es una cantidad situada entre aproximadamente 1-15 mg/cm<sup>2</sup> del dispositivo hemostático, más preferiblemente, una cantidad situada entre 2-5 mg/cm<sup>2</sup> de una superficie del dispositivo hemostático que está en contacto con una herida.

Similarmente, el péptido RGD o RGDS puede ser disuelto en un agua doblemente destilada y rociado sobre una superficie de un dispositivo hemostático del invento que está en contacto con una herida. Preferiblemente, dichas formas de realización del invento contienen una cantidad de RGD que es efectiva para intensificar la formación de un coágulo. Por ejemplo, el RGD o RGDS se puede aplicar a un dispositivo hemostático del invento en una cantidad situada entre aproximadamente 110-130 mg/cm<sup>2</sup>. De esta manera, un dispositivo hemostático de tamaño clásico, que es una tela, podría contener aproximadamente 1-10 mg/tela o aproximadamente 5-7 mg/tela de RGD o RGDS.

La trombina es un ingrediente activo que es hallado en otros dispositivos hemostáticos. Se cree que las partículas de colágeno y de los dispositivos hemostáticos del invento tienen una actividad hemostática que es equivalente a la actividad hemostática de las partículas de colágeno, a partir de las cuales es formado el dispositivo. De esta manera, el invento (sin trombina) proporciona ventajosamente un dispositivo que tiene una actividad hemostática intensificada en comparación con los dispositivos hemostáticos de la técnica anterior. Se puede conseguir un aumento

adicional en la actividad hemostática de los dispositivos hemostáticos del invento incluyendo, opcionalmente, un agente hemostático en los dispositivos hemostáticos.

Como se usa en el presente contexto, el término "equivalente" con respecto a una actividad hemostática significa que la actividad hemostática es sustancialmente la misma cuando se mide en el mismo ensayo de actividad. Un ensayo ilustrativo de actividad hemostática, un ensayo de hemóstasis en un bazo de cerdo, es proporcionado en los ejemplos. El ensayo se puede usar para medir la actividad hemostática de los dispositivos del invento y se puede usar también para medir la actividad hemostática de las partículas de colágeno, p.ej., una harina de colágeno, a base de las cuales es formado el dispositivo hemostático, por ejemplo, por colocación del polvo sobre la incisión, cubrir el polvo con una gasa estéril, y aplicar presión sobre la herida de la misma manera que se ha descrito en el ejemplo para un dispositivo del invento. Los resultados experimentales para el ensayo con un bazo de cerdo son informados en términos del número de tamponadas que se necesitan para conseguir una hemóstasis junto una incisión en el bazo de cerdo. El número de tamponadas para múltiples muestras es determinado para obtener una distribución del número de tamponadas. La distribución de las tamponadas es una medida de la actividad hemostática para el dispositivo o para la harina que se está ensayando. Correspondientemente, los dispositivos que tienen una distribución similar de las tamponadas tienen una actividad hemostática "equivalente". Por ejemplo, si 80 de 100 muestras de un primer dispositivo requieren una tamponada para conseguir una hemóstasis y 70 de 100 muestras de un segundo dispositivo requieren una tamponada para conseguir la hemóstasis, se considera que la actividad hemostática del segundo dispositivo está dentro de un 10 % de la actividad hemostática del primer dispositivo. Una actividad hemostática equivalente significa que la actividad equivalente para dos muestras está dentro de por lo menos un 50 %, más preferiblemente dentro de un 60 %, 70 %, 80 %, 90 % y de manera sumamente preferible, dentro de un 95 %.

El agente hemostático preferido es trombina (p.ej. trombina humana o bovina). Preferiblemente, la trombina es una trombina recombinante para evitar una contaminación vírica o de otro tipo procedente del organismo a partir del que se deriva la trombina. Se entiende que las moléculas de "trombina" y "fibrinógeno", como se definen en el presente contexto, incluyen moléculas de trombina y fibrinógeno naturales, que se derivan de un origen animal o humano, de una forma sintética o de una forma recombinante de las moléculas, incluyendo unos compuestos análogos activos funcionalmente que mantienen de manera efectiva la actividad favorecedora de coágulos por las enzimas en un animal o ser humano. La especie de animal, a partir de la que se deriva la molécula, puede variar y depende del uso pretendido del dispositivo hemostático. Por ejemplo, un dispositivo hemostático destinado a uso en seres humanos, contiene por razones de seguridad preferiblemente una trombina humana o una trombina no humana recombinante, p.ej. trombina bovina. Evitando el uso de un fibrinógeno humano aislado a partir de un tejido humano o usando una trombina humana desactivada víricamente, se reducen al mínimo los riesgos que están asociados con una continuación vírica de productos sanguíneos purificados.

La trombina y otros agentes o aditivos hemostáticos, descritos como componentes de un dispositivo hemostático de acuerdo con el invento, se pueden aplicar al dispositivo hemostático por uno cualquiera de varios métodos que, preferiblemente, son realizados en unas condiciones estériles. La trombina puede ser aplicada como una capa a una superficie o un lado particular de un dispositivo hemostático del invento, cuya superficie es designada entonces como la superficie que está en contacto con la herida. Por ejemplo, esto se puede conseguir rociando trombina en forma de polvo sobre un dispositivo hemostático del invento. Alternativamente, una solución de trombina puede ser aplicada como revestimiento sobre un dispositivo hemostático del invento y secada por liofilización o por medios convencionales. En otro método para aplicar trombina, un dispositivo hemostático del invento es sumergido completa o parcialmente dentro de una solución estéril de trombina, de manera tal que se acumula una cantidad suficiente de trombina dentro del dispositivo hemostático, que es efectiva para inhibir una fibrinólisis en un mamífero. Preferiblemente, la solución de trombina contiene 1.000 I/U de trombina disueltas en 1 ml de solución salina. La cantidad de trombina aplicada en la solución puede variar. Preferiblemente, la cantidad total de trombina aplicada a un dispositivo hemostático del invento o superficie del mismo es de 100-1.000 unidades/cm<sup>3</sup>. Se entiende que se pueden usar también unos métodos alternativos de aplicar los agentes y aditivos hemostáticos a un dispositivo hemostático del invento, además de los métodos aquí descritos.

Los dispositivos hemostáticos del invento, que han sido empapados en una solución de trombina u otra solución que contenga un agente hemostático, pueden opcionalmente ser secados. La operación de desecación se puede realizar por liofilización. Se pueden emplear también otros procesos de desecación que sean apropiados para un material que contiene un ingrediente proteínico activo, siempre y cuando que el proceso de desecación no desnaturalice a las proteínas ni las haga inactivas. Alternativamente, el dispositivo hemostático puede ser secado manteniéndolo a la temperatura ambiente durante un período de tiempo de 1-3 horas, seguido por una refrigeración durante una noche,

En ciertas formas de realización, los dispositivos hemostáticos del invento incluyen además una cantidad efectiva terapéuticamente de uno o más agentes terapéuticos, tal como un agente que favorece la curación de las heridas. Unos agentes que favorecen la curación de las heridas incluyen agentes antiinflamatorios tales como agentes que inhiben la migración de los leucocitos dentro de la zona de una lesión quirúrgica, anti-histaminas; unos agentes que inhiben la formación de radicales; y agentes bacteriostáticos o bactericidas. En general una cantidad efectiva terapéuticamente significa la cantidad que es necesaria para retardar el comienzo de, o inhibir la progresión de, o detener totalmente, la condición particular que esté siendo tratada. Generalmente, una cantidad efectiva terapéuticamente variará con la edad, la condición y el sexo del individuo, así como la naturaleza y la extensión de la condición en el individuo, todas las cuales se pueden determinar por una persona que posea experiencia ordinaria en la

especialidad. La dosificación del agente terapéutico contenido en los dispositivos hemostáticos del invento puede ser ajustada con el fin de acomodarla al individuo y a la condición particulares que se estén tratando.

Como se usa en el presente contexto, la frase “agentes que favorecen la curación de las heridas” se refiere a unos agentes, cuya administración favorece el proceso de curación natural de una herida. Los agentes que favorecen la curación de las heridas incluyen agentes antiinflamatorios, agentes que inhiben la formación de radicales libres, y agentes bacteriostáticos o bactericidas.

Unos agentes antiinflamatorios son unos agentes que inhiben o impiden una respuesta inmunitaria in vivo, e incluyen: (i) unos agentes que inhiben la migración de los leucocitos dentro de la zona de lesión quirúrgica (“agentes que impiden la migración de los leucocitos”), y antihistaminas. Unos agentes representativos que impiden la migración de los leucocitos, incluyen sulfadiazina de plata, ácido acetilsalicílico, indometacina; y Nafazatrom. Unas antihistaminas representativas incluyen pirilamina, clorfeniramina, tetrahidrozolina, antazolina, y otros agentes antiinflamatorios tales como cortisona, hidrocortisona, betametasona, dexametasona, flucortolona, prednisolona, triamcinolona, indometacina, sulindac, sus sales y sus correspondientes sulfuros, y otros similares.

Unos agentes representativos que inhiben la formación de radicales libres incluyen unos agentes antioxidantes que inhiben la formación y/o la acción de productos oxidicos, superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa,  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico, transferrina, ferritina, ceruloplasmina, y desferrioxamina  $\alpha$ -tocoferol.

Unos agentes bacteriostáticos o bactericidas representativos incluyen unas sustancias antibacterianas, tales como antibióticos del tipo de  $\beta$ -lactamas, tales como ceftioxima, n-formamidoil tienamicina y otros derivados de tienamicina, tetraciclinas, cloramfenicol, neomicina, gramicidina, bacitracina, sulfonamidas; antibióticos del tipo de aminoglicósidos, tales como gentamicina, kanamicina, amikacina, sisomicina y tobramicina; ácidos nalidixicos y compuestos análogos, tales como norfloxican y la combinación antimicrobiana de fluoroalanina y pentizidona; nitrofurazonas, y similares.

Los dispositivos hemostáticos del invento pueden contener uno o más agentes terapéuticos, a solas o en combinación con uno o más agentes hemostáticos.

Opcionalmente, se pueden incorporar diversos aditivos en los dispositivos hemostáticos del invento sin reducir sustancialmente la actividad hemostática de estos dispositivos. El término “vehículo farmacéuticamente aceptable”, como se usa aquí, significa uno o más materiales de carga, diluyentes o sustancias encapsuladoras sólidos/as o líquidos/as compatibles que se adecuan para la administración a un ser humano. El término “vehículo” designa a un ingrediente orgánico o inorgánico, natural o sintético, con el cual es combinado el ingrediente activo con el fin de facilitar la aplicación. Los componentes de las composiciones farmacéuticas también son capaces de ser mezclados con las partículas de colágeno (p.ej. fibrillas) del presente invento, y unos con otros, de una manera tal que haya ninguna interacción que perjudicase sustancialmente la deseada actividad hemostática.

Correspondientemente a todavía otro aspecto del invento, se proporciona un producto preparado por el procedimiento antes descrito. Una forma particular de realización de este procedimiento se proporciona en los Ejemplos.

De acuerdo con todavía otro aspecto del invento, se proporciona un dispositivo hemostático que tiene una actividad hemostática en un modelo en animales de hemóstasis en un bazo de porcino, que corresponde a una tamponada para un dispositivo hemostático que tiene un espesor de 3/8 de pulgada, una longitud de 1/2 de pulgada y una anchura de 1/2 de pulgada. Una descripción detallada del modelo con animales en bazos de porcino se proporciona en los Ejemplos.

Los dispositivos hemostáticos del invento se pueden usar en un estado húmedo o en un estado seco. Preferiblemente, los dispositivos hemostáticos del invento tienen un índice de humectabilidad que es equivalente a, o menor que, el de la Gelfoam® (sin trombina). Como se usa aquí, un “índice de humectabilidad” se refiere al tiempo que se necesita para que una muestra de dimensiones conocidas se hidrate totalmente. Una forma preferida de realización del invento, que se ilustra en los Ejemplos, tiene un índice de humectabilidad de menos que, o igual a, 1 minuto en un agua destilada a la temperatura ambiente.

Preferiblemente, los dispositivos hemostáticos del invento, cuando están húmedos o secos, tienen un tiempo de respuesta hemostática que es equivalente a, o menor que, el de Gelfoam® (con o sin trombina). El nombre Gelfoam® se refiere a un hemostato con colágeno formado a base de un colágeno desnaturalizado que está disponible de la compañía Upjohn Company, (número de producto 0342-01, 0315-01, 0353-01, 0315-02, 0349-01, 0301-01, 0323-01, 0433-01, Kalamazoo, Michigan 49001).

En ciertas formas de realización, el dispositivo hemostático del invento tiene un porcentaje más alto de material sólido que el que típicamente es hallado en dispositivos hemostáticos de la técnica anterior. Se cree que el porcentaje más alto de materiales sólidos aumenta las propiedades de resistencia mecánica del dispositivo hemostático. Preferiblemente, los dispositivos hemostáticos del invento tienen una densidad situada en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,030 g/cm<sup>3</sup>, más preferiblemente un intervalo de aproximadamente 0,015 a aproximadamente 0,023 g/cm<sup>3</sup>; y un porcentaje en peso de materiales sólidos que fluctúa entre aproximadamente 1,0 y 2,0 en la suspensión espesa antes de una liofilización, más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1,10

hasta aproximadamente 1,64 tantos por ciento en peso. En general, los dispositivos hemostáticos del invento tienen un punto de fusión (T<sub>m</sub>) situado en el intervalo de aproximadamente 93,4 a aproximadamente 105,7°C, tal como se determina por calorimetría de exploración diferencial, dependiendo del contenido de humedad del dispositivo.

5 Unas formas de realización representativas, que satisfacen algunos o la totalidad de los anteriores criterios, cuando están húmedas, tienen una resistencia mecánica aguda y una resistencia mecánica crónica que son equivalentes a, o mayores que, la de Gelfoam® 100. El nombre Gelfoam® 100 se refiere a un hemostato con colágeno que está disponible de la Upjohn Company (número de productos 0342-01, 0315-01, 0353,01, 0315-02, 0349-01, 0301-01, 0323-01, 0433-01, Kalamazoo, Michigan 49001). Como se usa en el presente contexto, una "resistencia mecánica aguda" se refiere a un inmediato ensayo de tracción después de haber humedecido totalmente y es determinada ensayando a tracción de acuerdo con un procedimiento clásico, tal como se ilustra en los Ejemplos. Una resistencia mecánica es, en parte, una función del estado del dispositivo hemostático (húmedo frente a seco), así como una función de sus dimensiones. Para unas formas de realización en las que el dispositivo hemostático tiene un espesor de aproximadamente 3/8 de pulgada hasta aproximadamente 1/2 de pulgada de anchura, la carga máxima aguda para el dispositivo, cuando está húmedo, es  $\geq 0,08$  lbs (libras) (como mínimo) siendo la carga máxima aguda media de aproximadamente 0,14 lbs.

10 En ciertas formas de realización del invento, el dispositivo hemostático, cuando está seco, tiene un módulo equivalente de, o mayor que, el de Actifoam®. El nombre de Actifoam® se refiere a un hemostato con colágeno que está disponible de Davol, Inc. (Cranston, Rhode Island). El procedimiento para preparar el Actifoam® es descrito en las patentes de los EE.UU. N<sup>os</sup>. 4.953.299 y 5.331.092. Como se usa en el presente contexto, el "módulo" se refiere a una rigidez y es determinado ensayando a tracción de acuerdo con procedimientos clásicos tales como los descritos en los Ejemplos. En ciertas formas de realización, el módulo para el dispositivo hemostático, cuando está seco, es menor que, o igual a, 86 psi (libras por pulgada cuadrada)

15 Ventajasamente, los dispositivos hemostáticos del invento no necesitan contener un agente hemostático para funcionar de manera eficaz con el fin de controlar una hemorragia, p.ej., una hemorragia de un órgano parenquimal. Como resultado de ello, los dispositivos hemostáticos del invento que ya no contienen ningún agente hemostático, tienen una buena estabilidad térmica y pueden ser almacenados durante desde varios meses hasta unos pocos años sin refrigeración ni perder la efectividad. Dichas formas de realización del invento son útiles en diversas situaciones, incluyendo un uso en el campo y de emergencia, puesto que cada una de ellas puede ser almacenada en un estado presto para el uso durante un prolongado período de tiempo.

20 Una ventaja del presente invento es su flexibilidad, comparado con dispositivos hemostáticos tales como el Gelfoam® (que es rígido cuando está seco), es decir, los dispositivos hemostáticos del invento se pueden proporcionar en una forma que se acomoda fácilmente a los contornos de un órgano o de una superficie biológica, haciendo más rápida de realizar la manipulación para aplicar el dispositivo. Como resultado de esto, hay menos pérdida global de sangre para el paciente y se consume menos tiempo en operaciones quirúrgicas. Una ventaja adicional de usar los dispositivos hemostáticos del invento en un estado seco consiste en que los dispositivos secos pueden absorber la sangre que exuda desde una superficie biológica, favoreciendo de esta manera adicionalmente la hemóstasis en la interfase del dispositivo hemostático y de la superficie biológica.

25 Los dispositivos hemostáticos del invento se forman preferiblemente a base de un colágeno absorbible (p.ej. un colágeno microfibrilar) como una matriz. En las formas de realización preferidas, la matriz es una capa plana de espuma de colágeno microfibrilar, que está formada a base de harina de Avitene®. La efectividad de los dispositivos del presente invento para favorecer la formación de coágulos es aumentada por sus estructuras reticulares, que favorecen interacciones con los substratos de enzimas. En particular, la estructura de espuma de colágeno aumenta el contacto entre la trombina, que opcionalmente es proporcionada por vía exógena en el dispositivo, con el fibrinógeno endógeno presente en la sangre que exuda desde una herida o lesión de un órgano parenquimal. Un dispositivo hemostático representativo preparado de acuerdo con el procedimiento aquí descrito tiene una estructura de espuma reticulada, de celdillas abiertas, como se ilustra en la fotocopia de una imagen tomada con SEM (fig. 1).

30 De acuerdo con ciertas formas de realización, un dispositivo hemostático del invento está contenido dentro de un envase estéril sellado que facilita la retirada del dispositivo sin ninguna contaminación. Dicho envase, por ejemplo, puede ser una bolsa de hoja de aluminio u otro material que sea esterilizado con facilidad. Una radiación, p.ej. una radiación gamma, puede ser aplicada para esterilizar el dispositivo y el material de envase conjuntamente. En todavía otras formas de realización, se proporciona un recipiente que tiene dos compartimientos, en el cual un primer compartimiento contiene agua destilada, una solución salina estéril o un tampón estéril, y un segundo compartimiento contiene un dispositivo hemostático del invento. En un uso en el campo, el dispositivo del segundo compartimiento puede ser sumergido con facilidad dentro de un primer compartimiento abierto y subsiguientemente puede ser aplicado a la herida.

35 De acuerdo con todavía otro aspecto del invento, se proporciona un método para favorecer una hemóstasis. El método implica las operaciones de comprimir un dispositivo hemostático del invento contra una superficie de una herida o una superficie de una lesión en un órgano, tejido u otra superficie biológica, p.ej., un órgano parenquimal, la columna vertebral o el cerebro, durante un período de tiempo que es necesario hasta que se haya producido una coagulación en la interfase entre el dispositivo hemostático del invento y la superficie. El dispositivo puede ser aplicado a la superficie

5 en un estado seco o, alternativamente, puede ser empapado en una solución salina estéril o en una solución estéril, que  
 10 contiene un agente hemostático, antes del uso. El uso de un dispositivo hemostático del invento de acuerdo con el  
 15 invento, sin empapar primeramente en una solución salina, permite una aplicación rápida y simple del dispositivo en  
 20 diversas situaciones, incluyendo unas situaciones en el campo tales las que se pueden hallar por un técnico médico de  
 emergencia. En ciertas formas de realización, el dispositivo hemostático es empapado en una solución de trombina  
 antes del uso, para introducir una cantidad efectiva terapéuticamente de trombina dentro del dispositivo. Por lo tanto, un  
 dispositivo hemostático del invento se puede usar aplicando una superficie del dispositivo "que está contacto con la  
 herida" una superficie destinada a entrar en contacto con la herida y que contiene uno o varios agente(s) hemostático(s)  
 y, opcionalmente, unos aditivos, con o sin empapamiento previo en una solución estéril, a una superficie de una herida o  
 lesión con hemorragia. Entonces, el dispositivo es mantenido en contacto con la superficie durante un período de tiempo  
 que es suficiente para que se produzca una coagulación en la interfase entre el dispositivo hemostático del invento y la  
 superficie y para que se detenga sustancialmente la hemorragia. En general, el dispositivo es mantenido en contacto  
 con la superficie durante un período de tiempo de aproximadamente 3-20 minutos, preferiblemente de 3-10 minutos y  
 más preferiblemente de 3-5 minutos.

15 Cuando están presentes también trombina y otros agentes hemostáticos sobre o en el dispositivo hemostático,  
 el período de tiempo es preferiblemente de alrededor de 5 minutos. El dispositivo hemostático es mantenido en su sitio  
 contra la superficie biológica, preferiblemente con una ligera presión, p.ej. por medio de una esponja empapada con una  
 solución salina estéril. Alternativamente, la tela hemostática puede ser mantenida en su sitio simplemente por aplicación  
 de una presión al dispositivo hemostático por medio de una gasa u otro material estéril seco. Dependiendo de la  
 20 situación de la herida, un vendaje puede ser envuelto alrededor del dispositivo hemostático para proporcionar una ligera  
 presión sobre la superficie de la herida.

25 La eficacia de los dispositivos hemostáticos del invento se puede comprobar en modelos con animales  
 reconocidos en la especialidad, que se cree que son predictivos de un efecto hemostático in vivo en seres humanos. Por  
 ejemplo, unas lesiones quirúrgicas inducidas en órganos parenquimales de cerdos proporcionan un buen sistema de  
 modelo para una hemóstasis en los órganos humanos análogos, tal como se evidencia por los estudios preclínicos que  
 emplean modelos de cerdos. Véase, p.ej. SWINE AS MODELS IN BIOMEDICAL RESEARCH [cerdos como modelos en  
 investigación biomédica] Swindle, M., Prensa Universitaria del Estado de Iowa (1992).

30 Un uso preferido de un dispositivo hemostático de acuerdo con el presente invento es para inhibir o detener  
 completamente una hemorragia de un órgano parenquimal, tal como el hígado, los riñones, el bazo, el páncreas o los  
 pulmones. Otros usos preferidos son para inhibir o detener completamente la hemorragia de una herida o lesión en la  
 columna vertebral o en el cerebro. Unos usos adicionales para los dispositivos hemostáticos del invento incluyen inhibir  
 una hemorragia durante una operación quirúrgica, p.ej. unas operaciones quirúrgicas internas/abdominales, vasculares  
 (particularmente para una anastomosis), urológicas, ginecológicas, tiroideas, neurológicas, para usos en trasplantes de  
 tejidos, dentales, cardiovasculares, cardioráxicas; de ENT (oído, nariz y garganta) y ortopédicas.

35 Otro uso de unos dispositivos hemostáticos del invento es en un tratamiento tópico, tal como para quemaduras  
 o trasplantes de tejidos y/o como reemplazo o sustitutos de la dura. Un dispositivo hemostático del invento para uso  
 tópico contiene preferiblemente aditivos, tales como medicamentos antiinfecciosos, bactericidas, fungicidas y agentes  
 para la curación de heridas, por ejemplo neomicina y bacitracina.

40 Además de para inducir una hemóstasis, los dispositivos hemostáticos del invento se pueden usar para sellar  
 herméticamente un tejido corporal. Por ejemplo, cuando hay fugas de aire desde una herida en los pulmones, un  
 dispositivo hemostático del invento puede ser aplicado a la superficie que rodea a la herida, mantenido en su sitio  
 durante un período de tiempo suficiente para inducir una hemóstasis y permitir que se forme un sello hermético.

Los dispositivos hemostáticos del invento son útiles también para tratar a animales, preferiblemente a seres  
 humanos u otros mamíferos, incluyendo mamíferos domésticos y animales de ganado.

45 Los dispositivos hemostáticos del invento se pueden proporcionar en una diversidad de tamaños y formas,  
 dependiendo de su uso pretendido. Típicamente, los dispositivos hemostáticos del invento se proporcionan en una  
 espuma rectangular de tamaño clásico, p.ej., 8 cm x 12,5 cm x 1 cm; 8 cm x 12,5 cm x 3 mm; 8 cm x 6,25 cm x 1 cm; 8  
 cm x 25 cm x 1 cm; 2 cm x 6 cm x 7 mm; 2,5 cm x 2,5 cm x 7 mm; con una tolerancia dimensional exterior de +/- 1/8 de  
 50 pulgada y una tolerancia de espesor de +/- 1/16 de pulgada. Los dispositivos hemostáticos pueden ser cortados al  
 tamaño deseado con un par de tijeras. Los dispositivos hemostáticos del invento pueden estar conformados como  
 esferas, conos, cubos o cilindros, o pueden ser prefabricados dentro de pequeños cuadrados, tal como para  
 empaquetar dentro de una cavidad corporal, tal como una cavidad dental, después de una extracción dental.  
 Alternativamente, el dispositivo hemostático puede ser conformado para epistaxis (en una nostril (ventana nasal) que  
 sangra profusamente) o para la inserción dentro de una cavidad. Los dispositivos hemostáticos del invento, que están  
 55 destinados para aplicaciones por vía tópica, pueden ser aplicados con una cinta adhesiva, como una forma que se  
 ayuda de cintas, en las que el dispositivo hemostático es adherido a un respaldo adhesivo. Una o más capas  
 adicionales de material para vendar heridas, preferiblemente una capa que ayuda a la absorción de sangre u otros  
 materiales exudados, se puede aplicar a, o incorporar dentro de, los dispositivos hemostáticos del invento para formar  
 un vendaje más fuerte. Alternativamente, la capa puede ser aplicada como un suplemento para la cara trasera  
 60 (superficie que no está en contacto con la herida) de un dispositivo de acuerdo con el invento. Particularmente para un

uso tópico, la o las capa(s) puede(n) contener unos agentes superabsorbentes para empaparse por efecto de mecha con una solución que exuda desde el sitio de la herida. Para unos dispositivos hemostáticos del invento, destinados a aplicaciones de cirugía interna, en donde una o varias capa(s) añadida(s) es o son enteriza(s) con el dispositivo, la o las capa(s) deberían ser a la vez biodegradables y farmacéuticamente aceptables.

5 Los dispositivos hemostáticos del invento se pueden diseñar para facilitar su aplicación para fusionar extremos de un vaso sanguíneo o de otro lumen corporal que haya sido cortado, p.ej. quirúrgicamente. Con el fin de aplicar un dispositivo hemostático para una anastomosis, una tela rectangular, por ejemplo, es envuelta alrededor de la superficie externa de los extremos de un injerto de Dacron®, y el injerto es colocado en su sitio. La porción de dispositivo hemostático del injerto acelera el crecimiento de la fibrina dentro del injerto para sellar el injerto en su sitio (de manera hemostática y hermética). De acuerdo con ciertas formas de realización del invento, se proporciona un estuche para esta aplicación. El estuche contiene un injerto y un dispositivo hemostático del invento que está diseñado para acoplarse con los extremos del injerto. Alternativamente, se proporciona un estuche que tiene un dispositivo hemostático del invento previamente acoplado sobre al menos uno de los extremos de un injerto.

10 De acuerdo con todavía otros aspectos del invento, se pueden proporcionar diversos estuches especializados. Los estuches contienen cualquiera de las formas de realización de los dispositivos hemostáticos que aquí se describen y un envase, en las que el dispositivo hemostático del invento está contenido dentro de un envase estéril sellado que facilita la retirada de la tela sin ninguna contaminación. El estuche puede contener múltiples dispositivos hemostáticos del invento, preferiblemente en los que cada dispositivo hemostático está contenido dentro de un envase estéril sellado por separado. Un estuche que está diseñado para un uso autónomo, p.ej., para un uso en el campo o militar, puede, además de un dispositivo hemostático del invento, incluir adicionalmente unos instrumentos quirúrgicos previamente esterilizados desechables y/o unos agentes que se pueden incorporar dentro del dispositivo, p.ej. trombina y cloruro de calcio.

15 A menos que se definan de otra manera distinta, todos los términos técnicos y científicos que aquí se usan tienen el mismo significado que corrientemente es entendido por una persona que tiene experiencia ordinaria en la especialidad del invento. Aunque se pueden usar en la práctica del invento cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los que aquí se describen, los métodos y materiales preferidos han sido descritos. A menos que se mencione otra cosa distinta, las técnicas empleadas o consideradas aquí son unas metodologías clásicas bien conocidas para una persona que tiene una experiencia ordinaria en la especialidad. Los materiales, los métodos y los ejemplos son solamente ilustrativos y no limitadores.

30 **EJEMPLOS**

**EJEMPLO 1. PREPARACIÓN DE UNA FORMA PREFEWRIDA DE REALIZACIÓN**

Descripción de la Ultrafoam™

35 La Ultrafoam™ es una esponja hemostática absorbible preparada como una sal parcial con ácido clorhídrico, insoluble en agua, plegable, porosa y estéril de colágeno de corion bovino purificado; la Ultrafoam™ consiste en una harina de Avitene® liofilizada y agua. En su fabricación se controla el hinchamiento de las fibrillas de colágeno natural mediante alcohol etílico para permitir la fijación no covalente de ácido clorhídrico a grupos amino en la molécula de colágeno y la conservación de la morfología esencial de las moléculas de colágeno natural. Las características de un colágeno, que son esenciales para desarrollar su efecto sobre los mecanismos de la coagulación de la sangre, se conservan sustancialmente, aunque una esterilización con calor seco causa alguna reticulación que es evidenciada por una reducción de las propiedades de hidratación, y una disminución del peso molecular que implica una cierta cantidad limitada de degradación de las moléculas de colágeno.

Los tamaños de la Ultrafoam™ son:

	1 cm x 1 cm x 7mm	2,5" x 2,5" x 1/4"
	2 cm x 6 cm x 7mm	3/4" x 2,5" x 1/4"
45	8 cm x 6,25 cm x 1 cm	3-1/8" x 2,5" x 3/8"
	8 cm x 12,5 cm x 1 cm	3-1/8" x 5" x 3/8"
	8 cm x 25 cm x 1cm	3-1/8" x 10" x 3/8"

50 Las operaciones de añadir agua purificada normalizada de la USP (Farmacopea de los Estados Unidos) a una harina de Avitene®, luego liofilizar esta suspensión espesa, cambia el aspecto físico de la harina de Avitene® desde el de un polvo suelto, similar a una harina, al de una espuma de peso ligero, plegable y sólida. Esto afecta al aspecto físico del colágeno pero la composición química sigue siendo la misma que la de una harina de Avitene®. Puesto que las operaciones añadidas no cambian la composición química de la estructura microfibrilar del colágeno, se conservan el modo de acción y las características hemostáticas de la espuma de colágeno.

Para controlar una hemorragia, la Ultrafoam™ es cortada típicamente al tamaño deseado y aplicada directamente a la fuente de la hemorragia. La Ultrafoam™ es mantenida en su sitio con una presión moderada hasta que resulte una hemóstasis. El período de tiempo durante el que se ha de mantener la presión sobre la espuma variará con la fuerza y la gravedad de la hemorragia. La Ultrafoam™ puede ser mantenida en su lugar en el sitio de la hemorragia cuando sea necesario. Antes de la retirada, la espuma deberá ser humedecida con una solución salina para evitar el desalojo del coágulo.

#### Procedimiento de fabricación

El procedimiento para producir un producto de espuma implica la adición de un agua USP a una harina a granel de Avitene® y eliminar el agua por medio de un procedimiento de liofilización (deseccación por congelación). Lo que sigue es una visión de conjunto del procedimiento y de las operaciones usadas en la fabricación, el control de la calidad y los procesos de ensayo, para esta forma de realización preferida.

En general una harina a granel de Avitene® es mezclada con un agua purificada USP, vertida dentro de bandejas y liofilizada. Después del tratamiento, es inspeccionada y liberada para la fabricación y estacionada para el recinto limpio.

En los recintos limpios, la primera operación es la de raspar, a saber un proceso de eliminar la capa superficial del material con una máquina conocida como un hendedor de cuchilla de cinta, para eliminar la "piel" formada sobre la superficie durante el proceso de liofilización, y luego cortar en rodajas el material hasta llegar al espesor apropiado. Después de haber raspado, las piezas son transferidas a la operación de corte en la que las piezas son cortadas al tamaño apropiado.

Después de haber cortado, los trozos de Ultrafoam™ son colocados dentro de bandejas individuales de policarbonato, que luego son selladas y cerradas térmicamente con una tapa del material Tyvek. Esta unidad envasada es colocada luego sobre un carro y movida a través de un horno de desecación de Despatch Index en el que se seca hasta tener un contenido específico de humedad. Después de haber secado, las bandejas de policarbonato selladas son colocadas dentro de unas bolsas de material estratificado de PET/nylon/hoja metálica, que son luego selladas por calor y los trozos son transferidos a la operación de esterilización. La esterilización empleada es la que usa un calor seco, a 126°C en 20 horas. Después de la compleción de la esterilización, el material es envasado y etiquetado dentro de cajas de cartón, después de lo cual es mantenido en cuarentena hasta que sea liberado para su distribución.

Una descripción detallada de cada una de las operaciones principales del procedimiento, a saber la mezcla, la liofilización, el corte/raspado/envasado y la esterilización, y el envasado final, se presenta seguidamente.

Mezcladura: La harina a granel de Avitene® es mezclada con un agua purificada USP a razón de 13,9 gramos de harina por 1,00 litros de un agua USP usando una bomba peristáltica en el valor de ajuste más alto durante aproximadamente una hora y media para asegurar un porcentaje de materiales sólidos de 1,37 % (nominal) tal como se determina durante la fase de desarrollo inicial del producto.

Tempranamente en la fase de desarrollo del concepto del producto de espuma, se completaron los estudios para determinar la formulación deseada para la espuma. Los estudios examinaron los efectos del porcentaje de colágeno (relación del colágeno al agua USP), la longitud de las fibras de colágeno (nominal y acortada), el tiempo de permanencia entre la mezcla y la liofilización, y diversos métodos de reticulación (esterilización por calor, esterilización por rayos gamma, exposición a haces de electrones y agentes de reticulación química) sobre la espuma. El producto de espuma se produjo con diversas combinaciones de las variables antes mencionadas. Basándose en el ensayo físico y en las evaluaciones de las unidades de prototipos, los factores claves para la producción de la espuma fueron definidos como la relación del colágeno al agua, la longitud de las fibras y el método de reticulación. Estos factores fueron optimizados para que fuesen de 13,9 gramos de harina/litro de agua USP (con un intervalo de 11,1-16,7 gramos de harina/litro de agua USP), una longitud nominal de fibras de harina de Avitene® y una esterilización por calor/reticulación. El tiempo de permanencia entre la mezcla y la liofilización fue determinado para no influir significativamente sobre el producto, siempre y cuando que no superase el de 27 horas (que es el período máximo de permanencia examinado en el estudio).

Una vez que se definió la relación de la harina de Avitene® al agua USP, se desarrolló un proceso de mezcla para asegurar que el colágeno fuese distribuido uniformemente a lo largo de la mezcla de harina y agua para proporcionar un tanto por ciento uniforme de materiales sólidos. Se usó una bomba peristáltica para conseguir la mezcla de una manera que no se comprometiese la longitud de fibras de la harina (baja cizalladura). La mezcla es realizada durante aproximadamente 90 minutos con la bomba ajustada a su valor de ajuste más alto en un recipiente de acero inoxidable. El porcentaje de materiales sólidos para la mezcla está situado preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1,10 % hasta aproximadamente 1,64 % de materiales sólidos.

Liofilización: Después de haber mezclado, el producto es transferido a unas bandejas de acero inoxidable que tienen un tamaño de aproximadamente 12 x 36 pulgadas, y es colocado dentro del aparato liofilizador, en donde es expuesto a un ciclo de liofilización de una temperatura de 5,9°C/hora, una temperatura terminal de 36°C durante 38 horas y un vacío de 100 mT (miliTorr) para obtener un producto de espuma.

El producto de espuma es inspeccionado en cuanto al espesor, la densidad y el aspecto general. Una vez que resulte aceptable, es liberado para la fabricación y estacionado para el recinto limpio, en donde es sometido a las siguientes operaciones de fabricación:

5 Proceso de raspado: El material es recibido desde el proceso de liofilización en forma de unas hojas que tienen un tamaño de aproximadamente 12 por 36 pulgadas. Estas hojas son alimentadas del aparato hendedor de cuchilla de cinta pasando por unos rodillos ajustados a una distancia dada desde la cuchilla central (de acero inoxidable) que elimina la capa de "piel" que se ha formado durante el proceso de liofilización. En algunos casos, se hacen múltiples pasadas del material a través de la máquina hasta que se consiga el espesor apropiado.

10 Proceso de corte: Después del raspado, el material es transferido al puesto de corte, en el que las piezas raspadas son colocadas a través de una máquina cortadora que consiste en un aparato cortador de cuchilla rotatoria de acero inoxidable y un puesto de graduación, que corta las piezas a su tamaño deseado. Después de las operaciones de raspado y corte, las piezas son inspeccionadas en cuanto a las dimensiones apropiadas (longitud, anchura, espesor), el tanto por ciento de humedad y el aspecto general, y luego son liberadas a la siguiente operación, es decir la operación de desecación.

15 Proceso de envasado y desecación: La operación de envasado y desecación es un proceso continuo de envasar dentro de bandejas de policarbonato y sellar con una tapa del material Tyvek, cargar las unidades cerradas herméticamente sobre unos carros y luego colocarlas dentro del horno de desecación Despatch Index, en el que son expuestas a un ciclo de 110°C durante aproximadamente 2 horas para reducir el nivel de humedad en el producto hasta un 4 %.

20 Durante el proceso de desecación, se toman muestras a partir de cada carro para confirmar que el contenido de humedad del producto sea de 4 % o menos. Si es aceptable, el producto es retirado y enviado a la segunda etapa de envasado, la colocación dentro de bolsas de hoja metálica. Si los productos no cumplen la especificación de humedad después de una única exposición al ciclo de desecación, se realizará un ensayo adicional para determinar si el producto puede resistir una exposición a dos ciclos de desecación sin detrimento para el producto ni para el envase. Una vez seco, el producto es colocado dentro de bolsas de material estratificado de PET/nylon/hoja metálica y es sellado por calor.

## EJEMPLO 2. ENSAYO PARA DETERMINAR LA RESISTENCIA A LA TRACCIÓN

30 Este ensayo es realizado para determinar la resistencia a la tracción de un dispositivo hemostático del invento formado a base de una harina de Avitene® (Ultrafoam™) y comparar su resistencia a la tracción con la de un testigo de Gelfoam®. Las muestras de espuma fueron ensayadas en la dirección de tracción usando una muestra con forma de hueso de perro. Las muestras de espuma fueron ensayadas en cuanto a sus propiedades de tracción en el estado húmedo usando un aparato para ensayos de tracción Instron® con mordazas de cara plana, vaso de precipitados, calibres, agua desionizada (a la temperatura ambiente), un troquel rodante de acero con forma de hueso de 1" x 2" (con una anchura de 0,5" en el centro), una prensa Clicker (de trinquete), Gelfoam®, código de producto: 100, y Ultrafoam™.

35 La Ultrafoam™ que se usó para el ensayo fue producida mezclando una suspensión espesa (de polvo de Avitene® y agua: 1,25 % en peso/volumen) usando un mezclador mecánico (de velocidad variable, un agitador eléctrico con hélices propulsoras gemelas). La suspensión espesa se mezcló durante 24 horas. La suspensión espesa acabada tenía todavía pequeños grumos de colágeno en la mezcla. La mezclado no fue un proceso realizado a fondo, pero era suficiente para ensayar el concepto. La suspensión espesa fue colocada en unas jarras de 4 litros de capacidad y liofilizada. Una vez liofilizada, la espuma fue colocada dentro de una hoja de aluminio (envasada en forma suelta) y llevada a través de un proceso de esterilización a 125°C durante 22 horas. La espuma estaba entonces presta para ensayarla. La Gelfoam® fue cortada con troquel usando la prensa de trinquete y el troquel rodante de acero conformado en forma de hueso; 10 piezas conformadas en total como huesos de Gelfoam® fueron cortadas para ensayarlas y 30 piezas de Ultrafoam™ fueron cortadas asimismo. Las muestras fueron colocadas en un vaso de precipitados con agua desionizada, manteniendo separadas tanto la Gelfoam®, como la Ultrafoam™. El aire atrapado dentro de las muestras fue retirado por amasadura, de las muestras (solamente necesaria con las muestras de Gelfoam®).

40 La longitud de calibre de las mordazas en el aparato para ensayos Instron® fue ajustada a 1 pulgada. La primera muestra de Gelfoam® fue colocada en las piezas de agarre y cerrada usando el pedal de pie. El espesor de la muestra fue medido usando los calibres y registrada para la muestra en el ordenador. Las muestras fueron movidas a una velocidad de crucero de 12 pulgadas/minuto en la dirección de tracción.

45 Los siguientes datos para cada muestra fueron registrados: carga máxima (en libras); deformación a la rotura (en %); módulo secante (en psi); energía con la carga máxima (en psi). El proceso fue repetido para el resto de las muestras de Gelfoam®. El proceso fue luego repetido para ensayar las muestras de Ultrafoam™.

50 Las muestras de Gelfoam® fueron sumergidas en agua durante dos horas y fueron amasadas para eliminar el exceso de aire atrapado dentro de las muestras (para hidratar por completo las muestras). Las muestras de Gelfoam no se hidratan con rapidez. Las propiedades de tracción para la carga máxima de las muestras variaban entre 0,15 y 0,23 libras de fuerza, con una media de 0,17 libras. La desviación típica era de 0,02 libras.

Las muestras de Ultrafoam™ no requieren una amasadura para eliminar el aire; sin embargo, la amasadura fue realizada para que fuese compatible con el tratamiento de las muestras de Gelfoam®. Las muestras de Ultrafoam™ no requerían un extenso período de tiempo de empapamiento, inmediatamente se empaparon por efecto de mecha para quedar totalmente hidratadas. Las propiedades de tracción para la carga máxima de las muestras variaban entre 0,13 y 0,20 libras de fuerza. La media fue de 0,16 libras con una desviación típica de 0,03 libras de fuerza.

Las muestras de Ultrafoam™ eran equivalentes a las muestras de Gelfoam®, en cuanto a la carga máxima en la dirección de tracción. Las propiedades de hidratación de la Ultrafoam™ eran mucho rápidas (en el transcurso de 2 minutos) que para las muestras de Gelfoam® (en más de dos horas).

### EJEMPLO 3. ENSAYO PARA DETERMINAR LA DENSIDAD

Este ensayo se realiza para determinar la densidad de una Ultrafoam™ seca tanto para las muestras antes de esterilizarlas como para las de después de esterilizarlas. El equipo usado incluía unos calibres digitales, un troquel rodante de acero, cuadrado o rectangular, una lamina de plexiglás plana, un mazo de caucho, una báscula de carga por arriba (capaz de medir a una tolerancia de por lo menos 0,001 gramos).

Las muestras para ensayar fueron cortadas con troquel a partir de la espuma antes descrita, usando el troquel rodante de acero por colocación de la espuma sobre el troquel. Seguidamente, una lámina de plexiglás plana (suficientemente grande para cubrir el troquel) se colocó sobre la parte superior de la espuma y, usando el mazo de caucho para perforar suavemente el plexiglás, se cortó una forma de espuma a partir de la espuma. Este proceso se repitió hasta que el número de muestras necesarias se hubo cortado a la forma deseada.

Los calibres digitales se usaron para medir la longitud (L), la anchura (W) y el espesor (T) (se hicieron al menos tres mediciones para cada una de las dimensiones y se usaron los valores medios de las mediciones). La medición de los valores medios de las dimensiones de la muestra fue registrada y la muestra fue colocada sobre la báscula para obtener el peso de muestra de la muestra, que luego fue registrado. Este proceso fue repetido hasta que se hubieron medido todas las muestras.

Si se hicieron mediciones dimensionales en unidades de pulgadas, las pulgadas (in) fueron convertidas en centímetros (cm) y las conversiones fueron registradas en unidades de centímetros. Se usó el siguiente cálculo para determinar la densidad de las muestras de espuma:

$$\text{Densidad} = [\text{peso (g)} / (\text{L (cm)} * \text{W (cm)} * \text{T (cm)})]$$

y los resultados de la densidad fueron registrados en unidades de gramos por centímetro cúbico (g/cm<sup>3</sup>) de cada muestra.

### EJEMPLO 4. COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEMOSTÁTICA ENTRE Ultrafoam™ Y Gelfoam®

#### Método de ensayo

El tiempo de respuesta hemostática de la Ultrafoam™ (lote 081398) con y sin trombina, fue comparado con el de la Gelfoam® (lote 40CAR, con y sin trombina) en un modelo de bazo de cerdo (protocolo de Hemóstasis J&J) de la siguiente manera. Se hicieron unas pequeñas incisiones en un bazo retraído de cerdos Yorkshire jóvenes anestesiados. El número de cortes por bazo fluctuaba entre 8 y 18. Se requirieron ocho cerdos. Se añadió trombina al dispositivo por empapamiento de la muestra en una solución de trombina hasta que ésta estuviese totalmente saturada. El dispositivo de ensayo (de aproximadamente 0,5" x 0,5") fue colocado sobre la herida, tamponado por presión con un dedo durante 20 segundos, luego se retiró la presión y el sitio fue observado en cuanto a una hemorragia renovada durante dos minutos. Si se observó una hemorragia renovada en el transcurso de dos minutos, se volvió a aplicar la presión durante 20 segundos, y el ciclo se repitió. El punto final del ensayo hemostático es el número de tamponadas para conseguir que no haya hemorragia renovada. Las siguientes muestras fueron emparejadas durante la realización de ensayo (20 pares de cada una): Ultrafoam™ frente a Gelfoam®, Ultrafoam™ frente a Gelfoam®-trombina, Ultrafoam™-trombina frente a Gelfoam®-trombina. Un par fue definido como dos muestras ensayadas una después de la otra y adyacentemente una a otra en el bazo. Para cada uno de los pares la primera muestra ensayada fue alternada de un par a otro par. Cada par fue ensayado al menos una vez, usualmente dos veces, y en algunos casos 3 veces en cada animal para caracterizar mejor la variabilidad de un animal a otro animal.

#### Métodos estadísticos

La frecuencia del número de tamponadas por cada tipo de producto dentro del grupo emparejado se analizó usando el ensayo exacto de Fisher y el ensayo de Stuart-Maxwell (ambos de una cola) con alfa = 0,05. Se esperaba que la Ultrafoam™ sin trombina necesitase menos tamponadas que la Gelfoam® sin trombina, pero requeriría mas tamponadas que la Gelfoam® con trombina. Estos grupos emparejados fueron analizados por separado. Por lo tanto, era apropiado un ensayo de un lado basado en los resultados esperados.

El paquete de software SAS fue usado para calcular el ensayo exacto de Fisher para cada grupo emparejado. Para unas tablas de contingencia n x n ("x" significa multiplicación) (el tipo de espuma x número de tamponadas), el

ensayo exacto de Fisher proporciona la probabilidad de observar una tabla que da por lo menos tanta evidencia de asociación como la realmente observada, considerando que es verdadera la hipótesis cero. La probabilidad hipergeométrica (valor de p) de cada tabla posible es calculada (a partir de la guía del usuario SAS/STAT, liberación de edición 6.03). Si el valor de p de 1/2 x el de dos colas (que es el valor p de una cola) era menor que o igual a 0,05, las distribuciones de frecuencias fueron consideradas como significativamente diferentes.

El ensayo de Stuart-Maxwell, que es una generalización del ensayo de McNemar, era calculado normalmente usando la Tabla 8.5 y las fórmulas 8.18 y 8.19 en la página 120 de la obra "Statistical Methods for Rates and Proportions [métodos estadísticos para tasas y proporciones]" Joseph L. Fleiss, 2ª edición, publicado por John Wiley & Sons, Nueva York, NY. El ensayo de Stuart-Maxwell implica la determinación del número de pares con el mismo resultado y con resultados diferentes, y calcular el valor del chi-cuadrado de Stuart-Maxwell con 2 grados de libertad para pares acoplados con 3 resultados mutuamente excluyentes. El valor de alfa de una cola fue de 0,10 (valor de dos colas de 0,05 x 2). Para las finalidades de este cálculo, los 3 resultados fueron 1, 2, o 3 tamponadas. En 2 casos (1 de Gelfoam® sin trombina y 1 de Ultrafoam™ sin trombina) una muestra que requería 4 tamponadas fue tratada como un 3 en el orden del uso del ensayo Stuart-Maxwell.

## **Resultados**

Globalmente, el modelo con animales trabajaba bien para la comparación del tiempo de respuesta hemostático. El método de las tamponadas era representativo del uso real del producto. Todas las muestras ensayadas de los productos fueron consideradas como hemóstatos adecuados con diferentes grados de rendimiento.

La frecuencia (en %) de las muestras de Ultrafoam™ que requerían 1, 2, 3 o 4 tamponadas en los pares de Ultrafoam™ y Gelfoam®-trombina fue de 80, 15, 0 y 5 respectivamente. La Gelfoam®-trombina exhibía 85, 15, 0 y 0 respectivamente. Ambas distribuciones de frecuencias fueron movidas a 1 tamponada. No había diferencia significativa entre las distribuciones de frecuencias de tamponadas con Ultrafoam™ y con Gelfoam® de acuerdo tanto con el ensayo exacto de Fisher (valor p de un lado  $> = 0,500$ ) como con el ensayo de Stewart-Maxwell (valor p de un lado  $> = 0,303$ ). Este resultado era importante, puesto que indicaba que en este modelo, la Ultrafoam™ no requiere trombina para ser tan eficaz como la Gelfoam® con trombina.

En los pares de Ultrafoam™-trombina y Gelfoam®-trombina, la frecuencia de muestras de Ultrafoam™-trombina que requerían 1, 2, 3 o 4 tamponadas fue de 80, 10, 5 y 0, respectivamente. La Gelfoam®-trombina exhibía 85, 15, 0 y 0 respectivamente. Ambas distribuciones de frecuencias fueron movidas a 1 tamponada. No había significativa diferencia entre la Ultrafoam™-trombina y la Gelfoam®-trombina de acuerdo con el ensayo exacto de Fisher (valor p de un lado  $> = 0,500$ ) y el ensayo de Stewart-Maxwell (valor p de un lado  $> = 0,274$ ). Este resultado era importante puesto que indicaba que en este modelo, la Ultrafoam™ era compatible con la trombina y que la trombina no reacciona sinérgicamente con la Ultrafoam™.

En los pares de Ultrafoam™ frente a Gelfoam®, la frecuencia de muestras de Ultrafoam™ que requerían 1, 2, 3 o 4 tamponadas fue de 55, 25, 20 y 0 respectivamente (Fig. 2). La Gelfoam® exhibió unos valores de 30, 60, 5, y 5 respectivamente (Fig. 2). La distribución de Ultrafoam™ fue movida a 1 tamponada. La distribución de Gelfoam® fue movida a 2 tamponadas. La distribución de frecuencias de tamponadas para Ultrafoam™ era significativamente diferente de la distribución de frecuencia de tamponadas para Gelfoam® de acuerdo con ensayo exacto de Fisher (valor p de un lado  $> = 0,035$ ). El ensayo de Stewart-Maxwell indicó que las distribuciones de frecuencias de tamponadas eran significativamente diferentes en el límite (valor p de un lado  $> = 0,054$ ). Este resultado era importante, puesto que indicaba que en este modelo la Ultrafoam™ sin trombina se comportaba significativamente mejor que la Gelfoam® sin trombina.

El porcentaje (55 %) para 1 tamponada para las muestras de Ultrafoam™ en los pares de Ultrafoam™ y Gelfoam® fue más bajo que el porcentaje (80 %) para 1 tamponada para la Ultrafoam™ en los pares de Ultrafoam™ y Gelfoam®. El único factor experimental que se podría encontrar, que podría explicar esta diferencia, era la temporización de los cambios de cuchillas de escalpelo. Un gran porcentaje (70 %) de los pares en el grupo de Ultrafoam™ y Gelfoam® se ensayó encortes de bazo hechos con una cuchilla de escalpelo reciente. Ninguno de los pares en el grupo de Ultrafoam™ y Gelfoam®-trombina fue ensayado en cortes de bazo hechos con una cuchilla de escalpelo reciente. La comparación de Ultrafoam™ con la Gelfoam® era válida, puesto que ambas muestras fueron ensayadas en aproximadamente el mismo número de cortes de bazo hechos con cuchillas de escalpelo recientes. Por lo tanto, la variabilidad que puede haber sido introducida por cambios en la temporización de cambios de cuchillas de escalpelo, no afecta de manera significativa a los resultados emparejados.

## **Discusión**

Globalmente, las distribuciones de frecuencias de tamponadas eran similares para todas las muestras con la excepción de las de Gelfoam® sin trombina. Todas las muestras, de Ultrafoam™ sin trombina, de Ultrafoam™ con trombina y de Gelfoam® con trombina, exhibieron unas distribuciones de frecuencias de tamponadas que fueron movidas a 1 tamponada. El hecho de que la Ultrafoam™ sin trombina se comportaba de una manera comparable a la de la Gelfoam® con trombina fue claramente un hallazgo importante. Extrapolando a partir del modelo de animales a la situación clínica, los usuarios clínicos pueden escoger el recurso de usar la Ultrafoam™ en el estado seco sin trombina,

ahorrando tiempo y dinero, puesto que solamente se usaría un producto en lugar de dos. Las características de manipulación blanda y flexible de la Ultrafoam™ permitirán que ella pueda ser usada en el estado seco.

5 La Gelfoam® sin trombina exhibía una distribución de frecuencias de tamponadas que fue movida a 2 tamponadas, mientras que la Ultrafoam™ sin trombina fue movida a 1 tamponada. En este estudio, un método de análisis estadístico determinó que las dos distribuciones eran diferentes, y un segundo método determinó que ellas no eran diferentes aunque el segundo ensayo era de límite. Sin embargo, los datos sugieren ciertamente que la Ultrafoam™ exhibía un rendimiento hemostático aumentado en comparación con la Gelfoam®. La actividad hemostática aumentada de la Ultrafoam™ sin trombina, en comparación con la Gelfoam® sin trombina, era un resultado inesperado puesto que la Ultrafoam™ se compone de un colágeno microfibrilar activo mientras que la Gelfoam® se compone de un colágeno o una gelatina inactivo/a. Además la Ultrafoam™ absorbe el fluido con mayor rapidez que la Gelfoam®, y absorberá rápidamente sangre y estimulará a la cascada de coagulación.

10 Los datos en este estudio indicaron que la Ultrafoam™ con y sin trombina era un hemostato efectivo, que era comparable y, en algunos casos, superaba el patrón industrial de Gelfoam®-trombina.

Tabla 1. Frecuencia (%) del número de tamponadas

Producto	Número de tamponadas			
	1	2	3	4
N = 20 pares				
Pares de Ultrafoam™-trombina y Gelfoam®				
Ultrafoam™	80	15	0	5
Gelfoam®-trombina	85	15	0	0
Pares de Ultrafoam™-trombina y Gelfoam®-trombina				
Ultrafoam™-trombina	85	10	5	0
Gelfoam®-trombina	85	15	0	0
Pares de Ultrafoam™ y Gelfoam®				
Ultrafoam™	55	25	20	0
Gelfoam®	30	60	5	5

15

Tabla 2: Número de pares para cada resultado para pares de Ultrafoam™ y Gelfoam®-trombina

	Gelfoam®-trombina			Total
	Número de tamponadas			
Ultrafoam™	1	2	3	Total
Número de tamponadas				
1	14	2	0	16
2	2	1	0	3
3	1*	0	0	1
Total	17	3	0	20

\*Nota: Una muestra de Ultrafoam™ requería 4 tamponadas pero fue reclasificada a 3 tamponadas para permitir el cálculo de la estadística de Stewart-Maxwell

Tabla 3. Número de pares para cada resultado para los pares de Ultrafoam™-trombina y Gelfoam®-trombina

	Gelfoam®-trombina			
	Número de tamponadas			
Gelfoam®-trombina	1	2	3	Total
Número de tamponadas				
1	14	3	0	17
2	2	0	0	2
3	1	0	0	1
Total	17	3	0	20

Tabla 4: Número de pares para cada resultado para pares de Ultrafoam™ y Gelfoam®

	Gelfoam®			
	Número de tamponadas			
Ultrafoam™	1	2	3	total
Número de tamponadas				
1	4	7	0	11
2	1	3	1*	5
3	1	2	1	4
Total	6	12	2	20

Nota: una muestra de Ultrafoam™ requería 4 tamponadas pero fue reclasificada a 3 tamponadas para permitir el cálculo de la estadística de Stewart-Maxwell

5 Todas las anterioridades, patentes y publicaciones de patentes, identificadas o citadas aquí, se incorporan en su totalidad por su referencia.

10 Aunque este invento ha sido descrito con respecto a unas formas específicas de realización, los detalles de esta forma de realización no han de ser considerados como limitaciones. Pueden hacerse diferentes formas equivalentes, cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu ni del alcance de este invento, y se entiende que dichas formas equivalentes de realización son una parte de este invento.

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para preparar una espuma hemostática reticulada, que comprende:
  - (a) proporcionar unas partículas de colágeno, que tienen una densidad a granel situada en el intervalo de 0,024-0,056 g/cm<sup>3</sup> (1,5-3,5 lbs/ft<sup>3</sup>) y que no han sido sometidas a una disolución en un ácido durante su fabricación,
  - (b) suspender las partículas, sin someterlas a una disolución en un ácido, en agua para formar una suspensión espesa que tiene una concentración de colágeno de 1-2 % (en peso/volumen)
  - (c) liofilizar la suspensión espesa de colágeno para formar una espuma hemostática, y
  - (d) reticular la espuma hemostática.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que las partículas de colágeno comprenden fibrillas de colágeno.
3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, que comprende además la operación de
  - (b1) introducir la suspensión espesa de colágeno dentro de un molde antes de la operación (c).
4. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende además la operación de introducir un agente hemostático en una o ambas tandas de la suspensión espesa de colágeno y de la espuma hemostática.
5. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la espuma hemostática reticulada incluye además una cantidad efectiva de por lo menos un agente terapéutico.
6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende además la operación de eliminar una capa superficial de la espuma hemostática.
7. Una espuma hemostática, que es obtenible por el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.
8. La espuma hemostática de la reivindicación 7, que tiene un espesor de 0,95 cm (3/8 de pulgada) y una carga máxima aguda de  $\geq 36$  g (0,08 lbs).
9. La espuma hemostática de la reivindicación 7 u 8, que está seca y tiene un módulo de  $\geq 593$  kPa (86 psi).
10. La espuma hemostática de una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, que tiene un índice de humectabilidad de  $\leq 1$  minuto en agua destilada a la temperatura ambiente.
11. La espuma hemostática de una cualquiera de las reivindicaciones 7-10, que tiene una densidad de 0,015-0,023 g/cm<sup>3</sup>.
12. La espuma hemostática de una cualquiera de las reivindicaciones 7-11, que tiene un porcentaje de materiales sólidos de 1,10-1,64 % en peso.
13. Un envase estéril, que contiene la espuma hemostática de una cualquiera de las reivindicaciones 7-12.

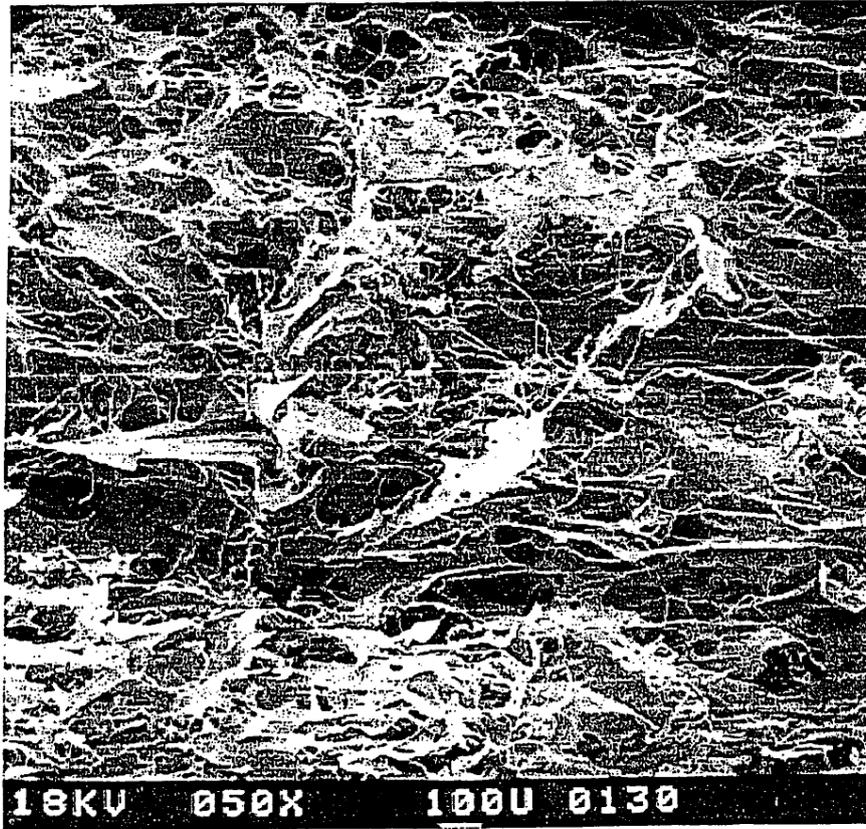


Figura 1

