

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 344**

51 Int. Cl.:

A61K 38/48 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
C12N 9/74 (2006.01)
C12Q 1/56 (2006.01)
A61L 26/00 (2006.01)
A61P 7/02 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.07.2004** **PCT/US2004/023765**
87 Fecha y número de publicación internacional: **24.02.2005** **WO05016256**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2004** **E 04779021 (7)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.03.2017** **EP 1663297**

54 Título: **Composiciones hemostáticas que contienen una solución estéril de trombina**

30 Prioridad:

07.08.2003 US 493116 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.07.2017

73 Titular/es:

ETHICON, INC. (100.0%)
U.S. ROUTE 22
SOMERVILLE, NJ 08876-1515, US

72 Inventor/es:

PENDHARKAR, SANYOG, M. y
GORMAN, ANNE, J.

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 625 344 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).

DESCRIPCIÓN**Composiciones hemostáticas que contienen una solución estéril de trombina****CAMPO DE LA INVENCION**

5 La presente invención se refiere a composiciones hemostáticas que contienen trombina estéril y a métodos de fabricación de tales composiciones hemostáticas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Hemostatos a base de gelatina, tanto en esponja sólida como en forma de polvo, están disponibles comercialmente y se utilizan en los procedimientos quirúrgicos. El polvo de gelatina, cuando se mezcla con el fluido, se puede preparar en diversas formas dependiendo del uso final contemplado y la relación de líquido a polvo. Por ejemplo, cuando se emplean concentraciones más altas de fluido, una pasta o suspensión que es útil como un
 15 hemostato fluido, extruible e inyectable se pueden preparar para su uso en el sangrado difuso, en particular de superficies irregulares o zonas de difícil acceso. Tales suspensiones convencionales se preparan en el punto de uso mediante agitación mecánica y la mezcla del polvo y el líquido para proporcionar la uniformidad de la composición. La pasta entonces se coloca en un medio de entrega o aplicador, por ejemplo una jeringa, y se aplica a la herida. En otros casos, las composiciones moldeables pueden prepararse con menores cantidades de fluido y moldeadas o empaquetadas para formar un apósito para su uso en heridas externas. Polvos de gelatina se esterilizan antes de la
 20 preparación de tales composiciones, pero la mezcla de los polvos y los líquidos pueden comprometer la esterilidad de la composición hemostática debido a la manipulación de los materiales en el sitio de uso, o en general por la exposición al medio ambiente durante períodos relativamente prolongados de tiempo durante la mezcla y similares.

25 La trombina que no se esteriliza terminalmente es conocida para utilizarse en combinación con tales composiciones hemostáticas. Las proteínas tales como la trombina se preparan asépticamente y por lo tanto existe el riesgo de que proteínas no esterilizadas tales como la trombina, cuando se utiliza en composiciones hemostáticas, puede comprometer la esterilidad de los materiales previamente esterilizados, tales como polvo de gelatina esterilizado. Sin embargo, al conocerse que la trombina debe ser desnaturalizada por la exposición a condiciones de esterilización tal como radiación ionizante usada convencionalmente para esterilizar los polvos, los cuales, al
 30 desnaturalizarse, destruyen toda la actividad enzimática de la trombina, no se ha informado de que trombina pueda incorporarse en las composiciones hemostáticas y luego esterilizarse terminalmente antes de su uso para asegurar una composición estéril. De hecho, cuando la trombina se utiliza en composiciones hemostáticas convencionales, se añade trombina no esterilizada después de la esterilización de la composición hemostática. US6045570 describe un dispositivo para "oclusión percutánea de los sitios de acceso vascular en el cuerpo humano" y una "suspensión de gelatina" que puede utilizarse con el mismo. US5595735 describe una "composición de pasta hemostática que
 35 comprende una cantidad eficaz hemostática de la trombina en una base de polietilenglicol". El documento WO 98/31403 describe métodos de liofilización de biomateriales a base de colágeno, cuyos liofilizados, cuando se reconstituyen, retienen la actividad hemostática y pueden extruirse. También se describen métodos de radiación-esterilización de biomateriales a base de colágeno liofilizados.

40 Sería deseable si una composición hemostática estéril que contiene trombina estéril activa estaba disponible para el cirujano en el punto de uso sin necesidad de preparación, por ejemplo, sin tener que añadir trombina antes de su uso. Las composiciones de la presente invención satisfacen esa necesidad.

RESUMEN DE LA INVENCION

45 La presente invención está dirigida a composiciones hemostáticas esterilizadas que comprenden una fase líquida, continua, biocompatible que comprende trombina estéril; y una fase sólida que comprende partículas de un polímero biocompatible adecuado para su uso en hemostasia y que es sustancialmente insoluble en la fase líquida, en la que el polímero biocompatible comprende gelatina. La fase líquida continua es acuosa y comprende la fase de
 50 particulado sólido y trombina estéril sustancialmente homogéneamente dispersada. La relación en peso de las partículas de sólido a líquido es de 1: 1 a 1:12, eficaz para proporcionar la composición con propiedades hemostáticas, tanto antes como después de la esterilización. Las composiciones estériles de la presente invención se pueden preparar bien por adelantado del momento de su uso mientras se mantiene la actividad enzimática de trombina incluso después de someterse a esterilización por radiación.

La presente invención también incluye métodos de fabricación de composiciones hemostáticas que comprende:

60 proporcionar un líquido biocompatible que tiene trombina disuelta en el mismo, combinar dicho líquido, que comprende dicha trombina con partículas de un polímero biocompatible adecuado para su uso en hemostasia y que es sustancialmente insoluble en dicho líquido, mezclando dicho líquido que comprende dicha trombina y dichas partículas en condiciones eficaces para formar una fase líquida continua que comprende dicha trombina y dichas partículas sustancialmente homogéneamente dispersadas, formando con ello una composición hemostática sustancialmente homogénea; y
 65 irradiar dicha composición hemostática sustancialmente homogénea con una cantidad de radiación

ionizante y durante un tiempo eficaz para proporcionar una composición hemostática estéril, sustancialmente homogénea, en la que la relación en peso de las partículas de sólido a líquido es de 1: 1 a 1:12 y donde dicha trombina mantiene al menos una parte de su actividad enzimática y donde la fase líquida es acuosa.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Composiciones esterilizadas de la presente invención contienen partículas sólidas, porosas o no porosas de un polímero biocompatible adecuado para su uso en la hemostasis, donde el polímero biocompatible es gelatina, una trombina líquida y estéril biocompatible como sus tres componentes primarios. Las partículas, líquidos y trombina se combinan y se mezclan en condiciones eficaces para proporcionar una composición hemostática sustancialmente homogénea que comprende una fase líquida continua que comprende la trombina y que tiene las partículas sólidas de polímero homogéneamente dispersas a su través. La cantidad y el diámetro medio de las partículas contenidas en la composición y las cantidades relativas de sólido, líquido y trombina es eficaz para proporcionar a la composición hemostática y las propiedades físicas, como se describe en el presente documento a continuación.

Las composiciones de la presente invención pueden prepararse y esterilizarse por irradiación ionizante mucho antes de la hora de su uso previsto, mientras que el mantenimiento de la actividad de trombina enzimática eficaz para mejorar la hemostasia de la composición cuando se compara con una composición similar que no contiene trombina o donde la actividad de trombina se ha disminuido sustancialmente de tal manera que ya no se mejora la hemostasia. Esto es particularmente sorprendente dado que se sabe en la técnica que la trombina se desnaturaliza cuando se expone a la irradiación del tipo utilizado para esterilizar composiciones convencionales hemostáticas que contienen, por ejemplo, polvo de gelatina. Desnaturalización hace que la trombina pierda su actividad enzimática. Las composiciones pueden incluir además aditivos para facilitar la preparación de la composición, mejorar las propiedades físicas y mecánicas, mejorar las propiedades hemostáticas de la composición o proporcionar propiedades antimicrobianas. Tal como se usa en el presente documento, "continuo" y "discontinuo" se usan en el sentido corriente de esas palabras en el contexto de la nomenclatura estándar usada para definir y describir dispersiones.

Tal como se usa en el presente documento, "sustancialmente homogéneo" denota que el estado físico de las composiciones o pastas donde las partículas sólidas se dispersa uniformemente en toda la fase líquida continua de tal modo que la relación de sólido: líquido y la densidad de cualquier porción o sección transversal de la composición o pasta son sustancialmente la misma.

Tal como se usa en este documento, "estéril" significa sustancialmente libre de gérmenes vivos y/o microorganismos y tal como se reconoce y describe por las normas gubernamentales relativas a composiciones y dispositivos médicos descritos y reivindicados en el presente documento. Tal como se usa en este documento, "hemostático", o "propiedades hemostáticas", significa la capacidad de detener o minimizar el sangrado, como entendería esos términos un experto en la técnica, como se ejemplifica adicionalmente en los ejemplos de la especificación. Una variedad de polímeros naturales, semisintéticos o sintéticos biocompatibles puede usarse para preparar las partículas sólidas utilizadas en el método de la presente invención. El polímero seleccionado debe ser sustancialmente insoluble en el líquido elegido para la composición particular. Preferiblemente, se utilizan polímeros biodegradables insolubles en agua que proporcionan actividad hemostática biológica mecánica, y/o química. Los polímeros que pueden usarse incluyen, sin limitación, proteínas y polisacáridos. Los polisacáridos que pueden ser usados incluyen celulosa oxidada, quitosano, quitina, alginato, alginato oxidado y almidón oxidado. El polímero biocompatible utilizado para preparar las partículas, es preferiblemente una proteína reticulada o desnaturalizada, tal como gelatina, colágeno, fibrinógeno o fibronectina. Un polvo de gelatina preferido es un polvo de gelatina parcialmente reticulado preparado por molienda de esponja de gelatina en partículas con un diámetro medio de aproximadamente 40 micrómetros a aproximadamente 1200 micrómetros, más preferiblemente de aproximadamente 100 micrómetros a aproximadamente 1.000 micrómetros, según se determina por difracción láser. Las composiciones estériles de la presente invención comprenden una fase líquida continua en la que se dispersan la trombina estéril y partículas sólidas. La fase líquida es acuosa. Líquidos acuosos pueden incluir, sin limitación, soluciones acuosas biocompatibles, tales como cloruro de calcio y solución salina. Preferiblemente, la fase líquida comprende una solución salina. La fase líquida y la fase sólida en partículas están presentes en cantidades relativas eficaces para proporcionar una composición, por ejemplo una pasta, o suspensión, adecuadas para su uso en la provisión de hemostasia. La relación en peso de las partículas de sólido a líquido es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:12. En ciertas realizaciones, es de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 1:8, o incluso aproximadamente 1:5.

Las composiciones de la presente invención incluyen composiciones descritas en este documento que son estériles, en que han sido irradiadas con un nivel de, por ejemplo, irradiación ionizante. Dicha irradiación puede incluir irradiación electrónica o gamma. El nivel de irradiación y las condiciones de esterilización, incluyendo el tiempo que las composiciones se irradian, son los que proporcionan composiciones estériles, como se define aquí. Una vez que tenga el beneficio de esta descripción, un experto en la técnica será capaz de determinar fácilmente el nivel de irradiación necesario para proporcionar composiciones estériles.

Tal como se ha señalado en el presente documento, se ha encontrado que la trombina, en una solución acuosa, pierde toda la actividad procoagulante cuando se expone a la irradiación de la esterilización. En contraste, la trombina estéril contenida en las composiciones de la presente invención retiene actividad enzimática suficiente para proporcionar propiedades hemostáticas a composiciones de la presente invención después de someterse a irradiación suficiente para proporcionar composiciones esterilizadas descritas aquí. Trombina estéril en composiciones de la presente invención puede perder sólo alrededor del 20 por ciento de su actividad enzimática original antes de la esterilización. En ciertas realizaciones de la presente invención, la trombina estéril exhibió una pérdida de la actividad enzimática de no más de aproximadamente el 40% de su actividad enzimática original antes de la esterilización, manteniendo al mismo tiempo la totalidad de su actividad hemostática después de la esterilización, cuando se formulan en composiciones de acuerdo con esta invención. Mientras que la trombina bovina se ejemplifica en el presente documento, trombina derivada de humanos, tal como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.143.838, también se puede usar en composiciones de la presente invención. El descubrimiento de que la trombina mantendrá la actividad después de haber sido expuesta a una radiación esterilizante como se describió anteriormente es particularmente sorprendente dadas las enseñanzas de la técnica anterior que sugieren fuertemente que si la trombina se utilizara en composiciones hemostáticas, debe añadirse después de la esterilización de la composición, no antes de la esterilización.

Las composiciones hemostáticas pueden comprender además cantidades eficaces de uno o más aditivos o compuestos, incluyendo, pero no limitado a, agentes antimicrobianos, tensioactivos, antioxidantes, humectantes, agentes, lubricantes, espesantes, diluyentes, estabilizadores de irradiación, por ejemplo, eliminadores de radicales, plastificantes y estabilizadores de humectación. Por ejemplo, glicerol tal vez añadido para mejorar la capacidad de extrusión o inyectabilidad de la composición. Cuando se utiliza, el glicerol puede estar presente en las composiciones desde aproximadamente 0% a aproximadamente 20% en peso, basado en el peso de la fase líquida. Preferiblemente, la composición puede comprender de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% en peso de glicerol, en base al peso de la fase líquida. Más preferiblemente, las composiciones pueden comprender de aproximadamente 1% a aproximadamente 5% en peso de glicerol, en base al peso de la fase líquida.

En adición, aminos cuaternarias se pueden utilizar para proporcionar propiedades mejoradas a las composiciones. Por ejemplo, cloruro de benzalconio, polibreno o onámero M se pueden usar a niveles de hasta aproximadamente 1 por ciento en peso, basado en el peso de la fase líquida. Preferiblemente, el cloruro de benzalconio se usa a niveles de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 0,01% en peso, basado en el peso de la fase líquida. Más preferiblemente, las composiciones pueden comprender de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 0,006% en peso de cloruro de benzalconio, en base al peso de la fase líquida. Se cree que las aminos cuaternarias pueden servir para múltiples funciones, actuando como un agente antimicrobiano, un agente espumante, un eliminador de radicales y como un neutralizador de heparina.

Tales composiciones hemostáticas pueden comprender además neutralizadores de heparina, procoagulantes adicionales o agentes hemostáticos, tales como el fibrinógeno, fibrina, Factor Xa, o Factor VIIa. Por "cantidad eficaz", se entiende aquella cantidad necesaria para proporcionar a las composiciones esas propiedades para las que se está añadiendo el aditivo. La cantidad efectiva también está limitada por la cantidad máxima que puede añadirse sin causar efectos biológicos perjudiciales.

Los dispositivos médicos en los que las composiciones hemostáticas de la presente invención se pueden utilizar incluyen actualmente cualquier dispositivo que se utiliza para aplicar un fluido o pasta hemostática inyectable o suspensión a un sitio, o herida, que requiere hemostasia. El sitio que requiere hemostasia puede ser el resultado de una lesión o un procedimiento quirúrgico. Los ejemplos de dispositivos o aplicadores incluyen jeringas tales como Becton Dickinson o jeringas luer Monoject. Otros dispositivos se describen en detalle en la Patente de Estados Unidos N° 6.045.570, cuyos contenidos se incorporan por referencia en su totalidad.

En una forma de realización para la fabricación de composiciones de la invención, una pasta sustancialmente homogénea se prepara mezclando las partículas con el líquido para formar una pasta uniforme. El líquido incluye la trombina y puede incluir cantidades eficaces de otros aditivos disueltos en la misma como se describió anteriormente. La mezcla puede llevarse a cabo mediante extrusión o mediante la mezcla en un espacio cerrado en condiciones eficaces para proporcionar una dispersión uniforme de las partículas sólidas en la fase líquida.

Alternativamente, un mezclador, por ejemplo un mezclador planetario doble, se puede utilizar en la fabricación de composiciones de la presente invención. Se añade el líquido que contiene la trombina al mezclador. El líquido puede incluir cantidades efectivas de aditivos disueltos en ella antes de la adición de las partículas a la solución. Por ejemplo, una solución salina que contiene trombina, glicerol y cloruro de benzalconio se puede preparar y después añadirse al mezclador. Las partículas sólidas se añaden al mezclador a lo largo del tiempo con mezcla continua hasta que se hayan añadido todos los ingredientes. La mezcla se continúa hasta que se forme una composición sustancialmente homogénea que contiene las partículas sólidas dispersadas uniformemente en toda la fase líquida continua.

Las composiciones hemostáticas preparadas del modo anterior se esterilizan para proporcionar

composiciones estériles que comprenden la trombina estéril. En algunas realizaciones las composiciones se transfieren a un dispositivo médico como se describió anteriormente y el dispositivo que contiene la composición hemostática se esteriliza, preferiblemente por la radiación ionizante. Más preferiblemente, la esterilización es por irradiación gamma como se ejemplifica en el presente documento.

Mientras que los siguientes ejemplos demuestran ciertas realizaciones de la invención, no han de interpretarse como limitantes del alcance de la invención, sino más bien como contribuyentes a una descripción completa de la invención.

Ejemplo 1:

Dos viales de trombina bovina liofilizada (20.000 unidades de thrombogen JJMI) se reconstituyeron en 20 ml de solución salina para proporcionar una solución de trabajo de 1.000 unidades/ml. La actividad de coagulación se midió en un ensayo *in vitro* como se describió en el Ejemplo 2. Un vial de este material se almacenó a 4-8°C y la actividad de coagulación se midió a día 1, día 8 y día 30, respectivamente. El segundo vial se esterilizó por irradiación gamma (25 kGy) y la actividad de coagulación medida como anteriormente. Las muestras no esterilizadas y esterilizadas fueron muestras designadas 1a y 1b, respectivamente. Muestras tanto esterilizadas y no esterilizadas se almacenaron a 48°C entre las mediciones.

Otros 2 viales de 20.000 unidades de trombina bovina liofilizada eran reconstituidos en solución salina que contiene 0,005% de cloruro de benzalconio y 5% de glicerol. Un vial se almacenó a 48°C y se midió la actividad de coagulación en el día 0, día 1, día 8 y día 30. El segundo vial se esterilizó por irradiación gamma (25 kGy) y la actividad de coagulación se midió como anteriormente. Entre las mediciones tanto las muestras esterilizadas como no esterilizadas se almacenaron a 48°C. Las muestras no esterilizadas y esterilizadas se designaron muestras 1c y 1d, respectivamente.

Varias muestras de pasta de gelatina que contiene trombina indicada anteriormente se prepararon mezclando 1 gramo de polvo de gelatina Surgifoam con 5 ml de solución de trombina. La pasta resultante se cargó en una jeringa de 10 cc. Las muestras fueron entonces o bien esterilizadas a 25kGy seguido por almacenamiento a 4-8°C o almacenadas sin esterilizar a 4-8°C. Las muestras así preparadas se designan y se identifican a continuación.

Muestra 1e = 1 g de polvo Surgifoam® más 5 ml de la muestra 1a; esterilizada

Muestra 1f = 1 g de polvo Surgifoam® más 5 ml de la muestra 1c; no esterilizada

Muestra 1g = 1 g de polvo Surgifoam® más 5 ml de muestra 1c; esterilizada

Ejemplo 2

Medición de la actividad de trombina por una prueba de coagulación *in vitro* en un instrumento de fibrómetro (BBL)

Método: diluciones seriadas de la muestra de ensayo que contiene la trombina se prepararon en tapón veronal de pH 7,2. 0,2 ml de plasma normal agrupado (plasma de control de nivel de citrol 1-Dade Diagnostics) se calentó a 37°C en el bloque fibrómetro incubador. Se añadió 0,1 ml de dilución de la muestra precalentada al plasma y el temporizador comenzó simultáneamente. Se registró el tiempo de formación del coágulo. Todas las muestras se ensayaron por duplicado y se calculó un tiempo medio de coagulación. Los datos se grafican como la dilución $\log_{10}$ vs. tiempo de coagulación $\log_{10}$ y un análisis de regresión realizado. Trombina recién hecha se consideró que tiene 100% de actividad y se calcularon todas las otras muestras como un porcentaje de la actividad relativa a la trombina recién preparada. Los resultados se presentan en la Tabla 1 y la Tabla 2.

TABLA 1

Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la actividad de trombina: Estabilización por pasta de gelatina formulada				
Solución de almacenamiento (Almacenada a 6°C)	Pérdida de por ciento en actividad de trombina			
	Tiempo 0	Día 1	Día 8	Día 30
1a	0	0	53,3	90,8
1c	0	N/A	41,1	82,9
1f	0	0	0,8	0

TABLA 2

Efecto de la irradiación gamma sobre la actividad de trombina:
Estabilización de pasta de gelatina formulada

Medios para trombina esterilizada * Muestras (5ml/g polvo de gelatina- dosis de 25 kGy)	% Pérdida de actividad de trombina
	Día 6
1b	100
1d	96,0
1e	72,6
1g	79,2

TABLA 3

Realización de hemostasis *in vivo* de pasta de trombina/gelatina prerellenada

TIEMPO: MUESTRA	Número de compresiones	Tiempo a hemostasia (minutos: segundos)
Día 0: 1f	1	0:30
Día 42: 1f	1	0:30
Día 42: 1f	1	0:30
Día 42: 1g	1	0:30
Día 42: 1g	1	0:30

Ejemplo 3: Esterilización de trombina congelada por la pasta de gelatina

Un vial de 20.000 unidades de trombina bovina liofilizada (Thrombogen JJMI) se reconstituyó en solución salina que contiene 0,005% BAK y 5% de glicerol. 1 gramo de polvo Surgifoam® se mezcló con 5 ml de solución salina que contiene trombina. La pasta resultante se cargó en una jeringa de 10 ml. La muestra se congeló a 20°C y se esterilizó mediante irradiación gamma a una dosis de 25kG. La actividad de coagulación de trombina se midió como se describió en el Ejemplo 2. Se observó que sólo el 42 por ciento de actividad de la trombina se perdió debido a la esterilización.

REIVINDICACIONES

1. Una composición hemostática estéril, que comprende:

5 una fase continua, biocompatible líquida que comprende trombina estéril; y una fase sólida que comprende partículas de un polímero biocompatible adecuado para su uso en hemostasis y que es sustancialmente insoluble en dicha fase líquida,

10 dicha fase líquida continua que comprende dicha fase sólida y dicha trombina estéril sustancialmente homogéneamente dispersada a su través, en donde la relación en peso de las partículas de sólido a líquido es de 1:1 a 1:12 y dicha trombina estéril comprende la actividad enzimática, y en donde el polímero biocompatible comprende gelatina y la fase líquida es acuosa.

15 2. La composición hemostática estéril de la reivindicación 1 en la que dicha fase líquida comprende solución salina.

3. La composición hemostática estéril de la reivindicación 1 en la que dicha trombina estéril ha perdido no más de aproximadamente 20 por ciento de la actividad enzimática que poseía antes de la esterilización.

20 4. La composición hemostática estéril de la reivindicación 1 en la que dicha trombina estéril ha perdido no más de aproximadamente 40 por ciento de la actividad enzimática que poseía antes de la esterilización.

5. Un método para hacer una composición hemostática estéril, que comprende:

25 proporcionar un líquido biocompatible que tiene trombina disuelta en el mismo, combinar dicho líquido, que comprende dicha trombina con partículas de un polímero biocompatible adecuado para su uso en hemostasia y que es sustancialmente insoluble en dicho líquido, mezclando dicho líquido, que comprende dicha trombina y dichas partículas bajo condiciones eficaces para formar una fase líquida continua que comprende dicha trombina y dichas partículas sustancialmente homogéneamente dispersadas a su través, formando con ello una composición sustancialmente hemostática homogénea; e
30 irradiar dicha composición hemostática sustancialmente homogénea con una cantidad de radiación ionizante y durante un tiempo eficaz para proporcionar una composición estéril, sustancialmente homogénea hemostática, en la que la relación en peso de partículas de sólido a líquido es de 1:1 a 1:12 y en la que dicha trombina mantiene al menos una parte de su actividad enzimática
35 y en la que la fase líquida es acuosa.

6. El método de la reivindicación 5 en el que dicha fase líquida comprende solución salina.

40 7. El método de la reivindicación 6 donde el polímero biocompatible se selecciona del grupo que consiste en proteínas y polisacáridos.

8. El método de la reivindicación 7 en el que dicha proteína se selecciona del grupo que consiste de gelatina, colágeno, fibrinógeno y fibronectina.

45 9. El método de la reivindicación 8 en el que dicha proteína comprende gelatina.

10. El método de la reivindicación 5 en el que dicha trombina estéril ha perdido no más de aproximadamente 20 por ciento de la actividad enzimática que poseía antes de la esterilización.

50

55

60

65