



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00769**

(22) Data de depozit: **28/09/2017**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/06/2020** BOPI nr. **6/2020**

(41) Data publicării cererii:  
**29/03/2019** BOPI nr. **3/2019**

(73) Titular:

- **INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU FIZICA MATERIALELOR-INCDFM, STR. ATOMIȘTILOR NR. 405A, MĂGURELE, IF, RO;**
- **SPITALUL CLINIC DE URGENȚĂ BUCUREȘTI, CALEA FLOREASCA NR.8, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI, BD. MIHAIL KOGĂLNICEANU NR. 36-46, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:

- **PREDOI DANIELA, CALEA PLEVNEI NR.94, BL.10D2, SC.1, ET.4, AP.12, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**

- **GHIȚĂ RODICA, STR.VIORELE NR.34, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **ICONARU SIMONA-LILIANA, ȘOS. VIILOR NR. 101, BL. 1, SC. 6, ET. 6, AP. 185, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **BEURAN MIRCEA, ȘOSEAUA MIHAI BRAVU, NR.8, BL. P22 A, SC.A, ET.5, AP.10, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **PRODAN ALINA MIHAELA, STRADA MINIS, NR.2, BL. X5, SC.1, ET.2, AP.26, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **CHIFIRIUC MARIANA CARMEN, STR. COSTACHE STAMATE NR. 5, BL. A8, SC. 1, ET. 9, AP. 37, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:

- RAPORTARE ȘTIINȚIFICĂ ETAPA 3  
STUDII COMPLEXE PRIVIND  
TRATAMENTUL PLĂGILOR CUTANATE  
UTILIZÂND BIOMATERIALE; CN  
106540331 (A)**

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A BIOPANSAMENTULUI  
PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ DOPATĂ CU ARGINT  
ÎN MATRICE DE COLAGEN**



1 Prezentă invenție se referă la un procedeu de obținere a unui pansament pe bază de  
hidroxiapatită dopată cu argint într-o matrice de colagen, pentru aplicații biomedicale.

3 Unul dintre riscurile majore asociate intervențiilor chirurgicale ortopedice și dentare este  
reprezentat de apariția infecțiilor postoperatorii, **D. Predoi, S. L. Iconaru, M. Albu, C. C. Petre,  
5 G. Jiga, Polym. Eng. Sci. 57(6): 537-545 (2017), J.F. Agassant, A. Fortin, and Y. Demay,  
Polym. Eng. Sci., 34,110 (1994), M. Sygnatowicz, K. Keyshar, and A. Tiwari, JOM- J. Min.  
7 Met. Mat. S., 62, 65, (2010)**. În acest context, găsirea unui nou biomaterial cu proprietăți  
antimicrobiene îmbunătățite are un aspect important. Unul dintre biomaterialele des utilizate în  
9 domeniul biomedical este hidroxiapatita (HAp,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), **A. Ewald, D. Hosel, S. Patel,  
L.M. Grover, J.E. Barralet, and U. Gbureck, Acta Biomater, 7(11), 4064, (2011)**. HAp a atras  
11 atenția cercetătorilor din întreaga lume datorită faptului că este principalul component anorganic  
al țesutului osos, și este utilizat în diverse aplicații, cum sunt implanturile, reconstrucția osoasă,  
13 transportor de medicamente etc., **D. Predoi, S. L. Iconaru, M. Albu, C. C. Petre, G. Jiga,  
Polym. Eng. Sci. 57(6): 537-545 (2017); S.V. Dorozhkin, J. Funct. Biomater., 6, 708, (2015)**.

15 Mai mult, studii recente raportate în literatura de specialitate au arătat că HAp posedă  
proprietăți biologice deosebite, cum ar fi biocompatibilitate, bioactivitate, non-toxicitate, osteoin-  
17 ductivitate etc., **A. Ewald, D. Hosel, S. Patel, L.M. Grover, J.E. Barralet, and U. Gbureck,  
Acta Biomater., 7(11), 4064, (2011)**. Pe de altă parte, hidroxiapatita prezintă o structură unică,  
19 ce permite substituția cu diverși ioni metalici, cum ar fi: Ag, Zn, Cu, Eu etc., elemente ce sunt  
de interes pentru aplicații medicale, **D. Predoi, S. L. Iconaru, M. Albu, C. C. Petre, G. Jiga,  
21 Polym. Eng. Sci. 57(6):537-545 (2017); D. Gopia, N. Bhuvaneshwari, L. Kavitha, and S.  
Ramya, Ceram. Int., 41, 3116, (2015)**.

23 Acest tip de substituții sunt, de asemenea, utile pentru îmbunătățirea proprietăților  
biologice (antimicrobiene), precum și a proprietăților fizico-chimice ale **Hap, M. Supova, Ceram.  
25 Int., 41, 9203, (2015)**. Printre tulpinile cele mai des implicate în infecțiile postoperatorii se  
numără *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli*, tulpini care în general devin rezistente la  
27 tratamentul cu antibioticem, **D. Predoi, S. L. Iconaru, M. Albu, C. C. Petre, G. Jiga, Polym.  
Eng. Sci. 57(6): 537-545, (2017), M. Sygnatowicz, K. Keyshar, and A. Tiwari, JOM- J. Min.  
29 Met. Mat. S., 62, 65, (2010)**. Așadar, este de preferat utilizarea argintului ca agent antimicrobian  
în locul antibioticelor, deoarece în general tulpinile bacteriene nu dezvoltă rezistență în acest  
31 caz, **D. Predoi, S. L. Iconaru, M. Albu, C. C. Petre, G. Jiga, Polym. Eng. Sci. 57(6):537-545  
(2017), M. Sygnatowicz, K. Keyshar, and A. Tiwari, JOM- J. Min. Met. Mat. S., 62, 65,  
33 (2010)**. Pe de altă parte, principala componentă organică a țesutului osos este colagenul (tip  
I), un polimer natural, cu proprietăți biologice deosebite, **T.N. Kim, Q.L. Feng, J.O. Kim, J. Wu,  
35 H. Wang, G.C. Chen, and F.Z. Cui, J. Mater. Sci. Mater. Med., 9, 129 (1998)**. Datorită pro-  
prietăților sale, colagenul a fost folosit în cosmetică, farmacologie și în aplicații medicale, **Md.  
37 Shariful Islam, and T. Mitsugu, Mater. Lett., 173, 231 (2016); H. W. Kim, H. E. Kim and V.  
Salih, Biomaterials, 26, 5221, (2005)**.

39 Compozitele de tip colagen/hidroxiapatită pot fi obținute prin diferite metode, inclusiv prin  
liofilizare, separare de fază indusă termic etc., **D.I. Zeugolis, S.T. Khew, E.S.Y. Yew, A.K.  
41 Ekaputra, Y.W. Tong, L.Y.L. Yung, D.W. Hutmacher, C. Sheppard, and M. Raghunath,  
Biomaterials., 29, 2293 (2008); S.C. Rodrigues, C.L. Salgado, A. Sahu, M.P. Garcia, M.H.  
43 Fernandes, and F.J. Monteiro, J. Biomed. Mater. Res., 101 A, 1080 (2013); M.S. Chapekar,  
J. Biomed. Mater. Res., 53, 617 (2000); A.G.A. Coombes, E. Verderio, B. Shaw, X. Li, M.  
45 Griffm, and S. Downes, Biomaterials., 23, 2113 (2002); Q.P. Hou, D.W. Grijpma, and J.  
Feijen, Biomaterials., 24, 1937 (2003); D.W. Hutmacher, J. Biomater. Sci. Polym. Ed. , 12,  
47 107 (2001); E. Piskin, N. Bolgen, S. Egri, and I. Isoglu, Nanomedicine., 2, 441 (2007); A.  
Senkoylu, E. Ural, K. Kesenci, A. Simsek, S. Ruacan, L. Fambri, C. Migliaresi, and E.  
49 Piskin, Int. J. Artif. Organs., 25, 1174, (2002)**.

# RO 133132 B1

Metoda cea mai utilizată este liofilizarea fibrelor de colagen împreună cu pulberea de Hap, *D. Predoi, S. L. Iconaru, M. Albu, C. C. Petre, G. Jiga, Polym. Eng. Sci. 57(6):537-545 (2017); K. Tuzlakoglu, N. Bolgen, AJ. Salgado, M.E. Gomes, E. Piskin, and R.L. Reis, J.Mater. Sci. Mater.Med. ,16, 1099 (2005); G.M. Cunniffe, G.R. Dickson, S.Partap, K.T. Stanton, and F.J. O'Brien, J. Mater. Sci. -Mater.Med., 21, 2293, (2010)*. Pe de altă parte, obținerea de pansamente pe bază de nanoparticule bioceramice (hidroxiapatită dopată cu argint) înglobate într-o matrice de colagen este de interes pentru domeniul biomedical, în special pentru tratarea infecțiilor postoperatorii, *D. Predoi, S. L. Iconaru, M. Albu, C. C. Petre, G. Jiga, Polym. Eng. Sci. 57(6):537-545, (2017)*.

În documentul **Raportare Științifică Etapa 3, Studii complexe privind tratamentul plăgilor cutanate utilizând biomateriale**, se prezintă pansamentul cu acțiune antimicrobiană în tratamentul plăgilor pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen (AgHAp-Coll). Pansamentele obținute au fost caracterizate atât din punct de vedere fizico-chimic, cât și din punct de vedere biologic. Suprafața pansamentelor obținute a fost investigată prin SEM, în timp ce porozitatea și suprafața specifică au fost analizate prin metoda BET. Studiile structurale efectuate prin DRX au evidențiat o structură specifică a hidroxiapatitei, și au arătat că o parte a ionilor de calciu au fost substituiți cu ioni de argint fără a modifica structura hidroxiapatitei. Studiile *in vitro* și *in vivo* realizate au arătat că pansamentele obținute în laborator prezintă activitate antimicrobiană asupra tulpinilor rezistente la antibiotic, cum ar fi *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.

Documentul **CN 106540331** se referă la un procedeu de preparare a rețelei de colagen-hidroxiapatită care conține sulfură de nanoargint. Procedeu cuprinde etapele de preparare a sulfurii de nanoargint printr-o reacție de reducere lichidă, amestecând uniform sulfura de nanoargint cu o soluție de colagen-hidroxiapatită, efectuarea liofilizării printr-un proces cu o singură etapă, care efectuează reticularea pentru a obține rețeaua de colagen-hidroxiapatită, în care intervalul de concentrație al sulfului nanoargint este de 10...50 μg/ml, iar dimensiunile particulelor de particule de sulfură de nanoargint sunt de 10...30 nm.

Problema pe care o rezolvă invenția a fost prezentarea unui procedeu de obținere a unui pansament pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint, înglobată într-o matrice de colagen eficientă în tratarea infecțiilor cutanate.

Procedeu conform invenției înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că obținerea biopansamentului pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen are loc prin următoarea succesiune de etape:

- obținerea gelurilor de hidroxiapatită dopată cu argint,  $Ca_{10-x}Ag_x(PO_4)_6(OH)_2$ , cu concentrații  $x_{Ag}$  de 0,1 și 0,2, are loc prin următoarea succesiune de etape:
- se pornește de la precursori, care sunt: nitratul de calciu de calitate comercială, fosfatul acid de diamoniu de calitate comercială, și nitratul de argint de calitate comercială;
- cantități adecvate de diamoniu hidrogen fosfat și nitrat de argint, astfel încât raportul Ca/P să fie 1,67, sunt dizolvate în etanol de calitate p.a., în condiții de laborator și la temperatura camerei, iar soluția astfel obținută este agitată energic timp de 24 h la 40°C;
- separat, o cantitate stoichiometrică de nitrat de calciu este dizolvată în etanol de calitate p.a., la temperatura camerei și apoi este agitată energic timp de 24 h la 40°C;
- amestecul rezultat din soluțiile obținute la punctele 2 și 3 conduc la obținerea unui gel care se supune unui proces de îmbătrânire la temperatura camerei, în condiții de laborator, timp de 72 h;

# RO 133132 B1

1 - obținerea biopansamentului, prin următoarea succesiune de etape:  
2 - gelul de hidroxiapatită rezultat în prima etapă, după procesul final de îmbătrânire la  
3 temperatura camerei, timp de 72 h, este dispersat în gel de colagen până la omogenizare;  
4 - după omogenizare, gelul se transferă într-o matrită termorezistentă, și este răcit sub  
5 temperatura de 0°C timp de 24 h;  
6 - tratamentul la temperatură scăzută este urmat de un tratament termic la temperatura  
7 de 40 ± 5°C în condiții de laborator;  
8 - dimensiunile finale ale produsului rezultat sunt: 100 mm x 100 mm x 25 mm;  
9 - caracteristicile produsului rezultat la cele două concentrații, respectiv, la  $x_{Ag} = 0,1$  sunt  
10 10AgHApColl, și la  $x_{Ag} = 0,2$  sunt 20AgHApColl, produs care este apoi sterilizat și stocat în  
11 condiții sterile.

12 Prin aplicarea invenției se obțin pansamente cu eficiență ridicată în tratamentul plăgilor  
13 suprainfectate, la costuri reduse, ce ar putea fi utilizate pe scara largă.

14 Morfologia pansamentelor pe bază de nanoparticule bioceramice înglobate într-o matrice  
15 de colagen a fost studiată cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj. Micrografiile MEB  
16 obținute pe pansamentele 10AgHApColl și 20AgHApColl sunt prezentate în fig. 1 (A-B).  
17 Imaginile MEB obținute pe pansamentele 10AgHApColl și 20AgHApColl pun în evidență atât  
18 prezența pulberii de hidroxiapatită dopată cu argint, cât și a fibrelor de colagen. De asemenea,  
19 se poate observa că fibrele de colagen sunt înglobate în pulberea de hidroxiapatită dopată cu  
20 argint. Tot în fig. 1 (C) este prezentat spectrul EDAX obținut pe pansamentul 20AgHApColl.  
21 Spectrul EDAX evidențiază prezența C, Ca, N, P, O și Ag, elemente constitutive ale pansa-  
22 mentului 20AgHApColl. Prezența Au în spectrul EDAX se datorează acoperirii cu aur a  
23 suprafeței pansamentului înainte de studiile MEB și EDAX.

24 Având în vedere rezistența crescută a microbilor față de terapiile existente la ora  
25 actuală, s-a dorit dezvoltarea unor noi agenți antimicrobieni eficienți, dar care să nu prezinte  
26 efectele adverse ale terapiilor clasice. S-a încercat dezvoltarea unor biomateriale compozite pe  
27 bază de hidroxiapatită dopată cu argint într-o matrice de colagen. Pansamentul astfel obținut  
28 a fost testat pentru a-i putea evalua efectul antimicrobian împotriva tulpinilor de *Pseudomonas*  
29 *aeruginosa* și *Klebsiella pneumoniae*. În fig. 2 este prezentată evaluarea *in vitro* a proprietăților  
30 antimicrobiene a pansamentelor pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de  
31 colagen asupra celor două tulpini bacteriene studiate. Rezultatele au evidențiat proprietățile  
32 antimicrobiene ale pansamentelor utilizate asupra celor două tulpini de bacterii gram negative  
33 utilizate.

34 Pentru experimentele *in vivo* a fost necesară realizarea unor plăgi în regiunea dorsală  
35 a șobolanilor albi de sex feminin, din rasa Wistar. Aceste plăgi au fost contaminate cu tulpini de  
36 *Pseudomonas aeruginosa* și *Klebsiella pneumoniae* (fig. 3). Tulpinile de *Pseudomonas*  
37 *aeruginosa* și *Klebsiella pneumoniae* au fost obținute din plăgile postoperatorii infectate ale  
38 pacienților din cadrul Spitalului Clinic de Urgență București. În tabelul de mai jos sunt prezentate  
39 rezultatele antibiogramelor tulpinilor de *Pseudomonas aeruginosa* și *Klebsiella pneumoniae*.

41 *Antibiograma tulpinilor de Pseudomonas aeruginosa și Klebsiella pneumoniae*

Antibiotic	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Trimethoprim/Sulphametoxazol	rezistent	rezistent
Chloramphenicol	sensibil	sensibil
Doxiciclină	sensibil	sensibil

Antibiotic	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Ciprofloxacin	rezistent	sensibil
Levofloxacin	sensibil	sensibil
Rifampicină	sensibil	sensibil
Gentamicină	sensibil	sensibil
Eritromicină	rezistent	rezistent
Clindamicină	rezistent	sensibil
Cefoxitin	rezistent	sensibil
Tetraciclină	rezistent	rezistent

Testarea la antibiotice a fost făcută și interpretată conform ghidului CLSI, varianta din 2016. Pentru inocularea șobolanilor s-au folosit două tipuri de tulpini microbiene. Cele două tulpini folosite în acest studiu sunt considerate ca fiind reprezentative pentru infecțiile nozocomiale. Bacteriile prelevate au fost cultivate pe mediile geloza sânge, CLED și mediu cromogen (CHROMagar Orientation), și au fost incubate la 37°C timp de 24 h. Identificarea a fost făcută cu teste biochimice clasice și pe aparatul Microscan (producător Siemens) de identificare și testare la antibiotice. Pentru testarea la antibiotice fost utilizat mediul Mueller Hinton și metoda de testare a antibioticelor Kirby-Bauer, iar interpretarea a fost făcută folosind ghidul CLSI Ed. 2016.

Infecțiile de plagă reprezintă o patologie des întâlnită în spitalele din România. Acestea sunt cauzate de agenți microbieni ce prezintă rezistență mare față de terapiile existente la ora actuală pe piață. Infecțiile de plagă reprezintă complicații redutabile, ele crescând atât morbiditatea, cât și mortalitatea în rândul pacienților care prezintă aceste complicații, fapt ce duce la creșterea cheltuielilor de spitalizare și la scăderea calității vieții pacienților. Hidroxiapatita dopată cu argint eliberează în mod continuu argintul din pansament, astfel încât concentrația ionilor de argint este menținută timp de câteva zile la nivelul plăgii.

În continuare este prezentat un exemplu de realizare a invenției în legătură cu fig. 1...5, care reprezintă:

- fig. 1, micrografiile MEB obținute pentru pansamentelor 10AgHApColl (A) și 20AgHApColl (B), și spectrul EDAX obținut pentru pansamentul 20AgHApColl (C);

- fig. 2, efectul antimicrobian al pansamentelor pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen (10AgHApColl) asupra *Pseudomonas aeruginosa* (A) și *Klebsiella pneumoniae* (B);

- fig. 3, culturile de *Pseudomonas aeruginosa* (A) și *Klebsiella pneumoniae* (B) din care s-a realizat contaminarea plăgilor șobolanilor Wistar;

- fig. 4, plagă infectată cu tulpini de *Pseudomonas aeruginosa*, tratate cu pansamentele pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen, după 24 și 48 h de tratament;

- fig. 5, plagă infectată cu tulpini de *Klebsiella pneumoniae* tratate cu pansamentele pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen, după 24 și 48 h de tratament.

### Exemplu

Studiul *in vivo* al efectului pansamentelor pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen a fost realizat la diferite intervale de timp (24 și 48 h) după ce plăgile produse în regiunea cervicală a șobolanilor Wistar au fost infectate cu tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* și *Klebsiella pneumoniae*. Plaga infectată a fost pansată la 24 h și, respectiv, 48 h.

# RO 133132 B1

1 La fiecare analiză au fost prelevate probe, respectând condițiile de asepsie. În fig. 4 și 5 sunt  
prezentate plăgile infectate cu tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* și *Klebsiella pneumoniae*  
3 tratate cu pansamentele pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen, după  
24 și 48 h de tratament.

5 În urma acestor experimente au supraviețuit toate animalele de laborator cărora le-au  
fost aplicate pansamente cu hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen. De ase-  
7 menea, pe întreaga durată a desfășurării experimentului, șobolanii nu au prezentat efecte  
secundare, cum ar fi letargie, vărsături sau diaree.

9 Prin aceste studii s-a demonstrat că încorporarea ionilor de Ag în structura hidroxi-  
apatitei îmbunătățește proprietățile chimice și biologice ale acesteia.

11 Prin încorporarea ionilor de argint în structura hidroxiapatitei, prin substituția ionilor de  
Ca<sup>2+</sup> se obține un nou material ce combină proprietățile biologice ale hidroxiapatitei cu cele  
13 antimicrobiene ale argintului, fără efecte secundare ce ar putea  
apărea din cauza excesului de argint. Pe de altă parte, ionii de argint legați în rețeaua  
15 hidroxiapatitei devin mult mai stabili, iar efectul antimicrobian se observă pe intervale mai lungi  
de timp, ca urmare a eliberării constante în timp.

# RO 133132 B1

## Revendicare

	1
Procedeu de obținere a biopansamentului pe bază de hidroxiapatită dopată cu argint în matrice de colagen, <b>caracterizat prin aceea că</b> are loc prin următoarea succesiune de etape:	3
- obținerea gelurilor de hidroxiapatită dopată cu argint, $\text{Ca}_{10-x}\text{Ag}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , cu concentrații $x_{\text{Ag}}$ de 0,1 și 0,2 are loc prin următoare succesiune de etape:	5
- se pornește de la precursori, care sunt: nitratul de calciu de calitate comercială, fosfatul acid de diamoniu de calitate comercială, și nitratul de argint de calitate comercială;	7
- cantități adecvate de diamoniu hidrogen fosfat și nitrat de argint, astfel încât raportul Ca/P să fie 1,67, sunt dizolvate în etanol de calitate p.a., în condiții de laborator și la temperatura camerei, iar soluția astfel obținută este agitată energic timp de 24 h la 40°C;	9
- separat, o cantitate stoichiometrică de nitrat de calciu este dizolvată în etanol de calitate p.a., la temperatura camerei, și apoi este agitată energic timp de 24 h la 40°C;	11
- amestecul rezultat din soluțiile obținute la punctele 2 și 3 conduc la obținerea unui gel care se supune unui proces de îmbătrânire la temperatura camerei, în condiții de laborator, timp de 72 h.	13
- obținerea biopansamentului prin următoarea succesiune de etape:	15
- gelul de hidroxiapatită rezultat în prima etapă, după procesul final de îmbătrânire la temperatura camerei timp de 72 h, este dispersat în gel de colagen până la omogenizare;	17
- după omogenizare, gelul se transferă într-o matriță termorezistentă și este răcit sub temperatura de 0°C timp de 24 h;	19
- tratamentul la temperatură scăzută este urmat de un tratament termic la temperatura de $40 \pm 5^\circ\text{C}$ , în condiții de laborator;	21
- dimensiunile finale ale produsului rezultat sunt: 100 mm x 100 mm x 25 mm;	23
- caracteristicile produsului rezultat la cele două concentrații, respectiv, la $x_{\text{Ag}} = 0,1$ sunt 10AgHApColl și la $x_{\text{Ag}} = 0,2$ sunt 20AgHApColl, produs care este apoi sterilizat și stocat în condiții sterile.	25
	27

(51) Int.Cl.

A61L 15/18 (2006.01);

A61L 15/32 (2006.01)

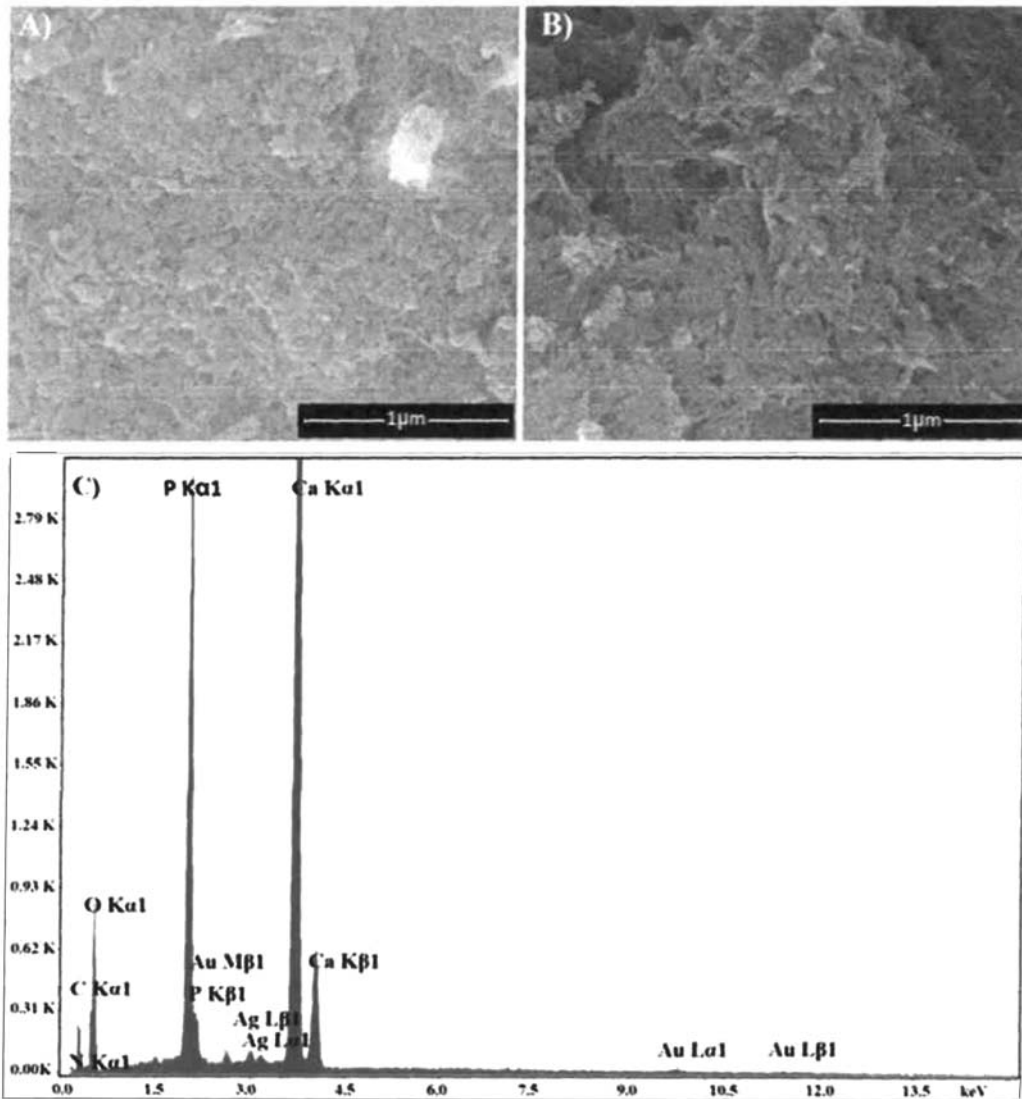


Fig. 1



(51) Int.Cl.

A61L 15/18 (2006.01);

A61L 15/32 (2006.01)

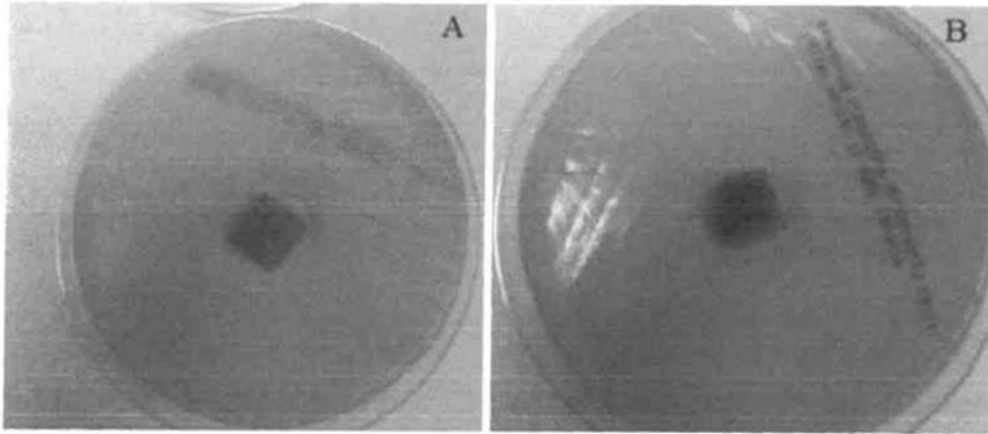


Fig. 2

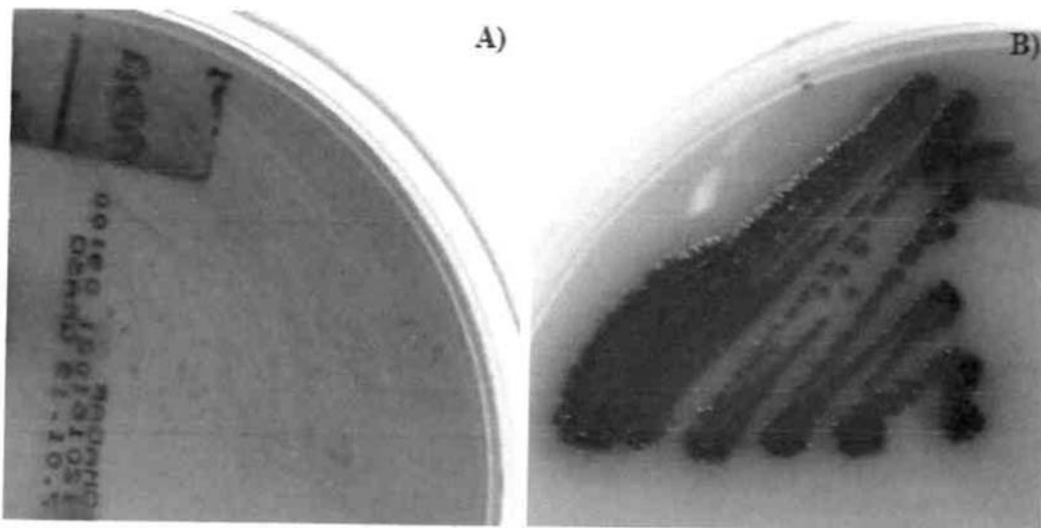
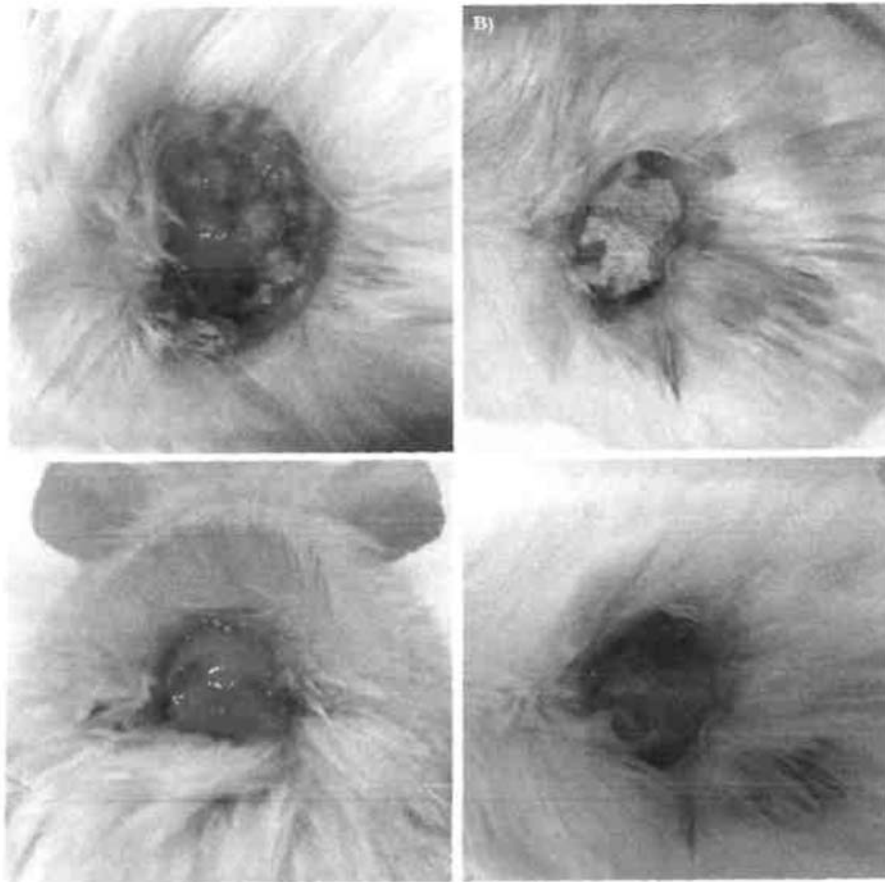


Fig. 3

(51) Int.Cl.

**A61L 15/18** (2006.01);

**A61L 15/32** (2006.01)



**Fig. 4**

(51) Int.Cl.

A61L 15/18 (2006.01);

A61L 15/32 (2006.01)

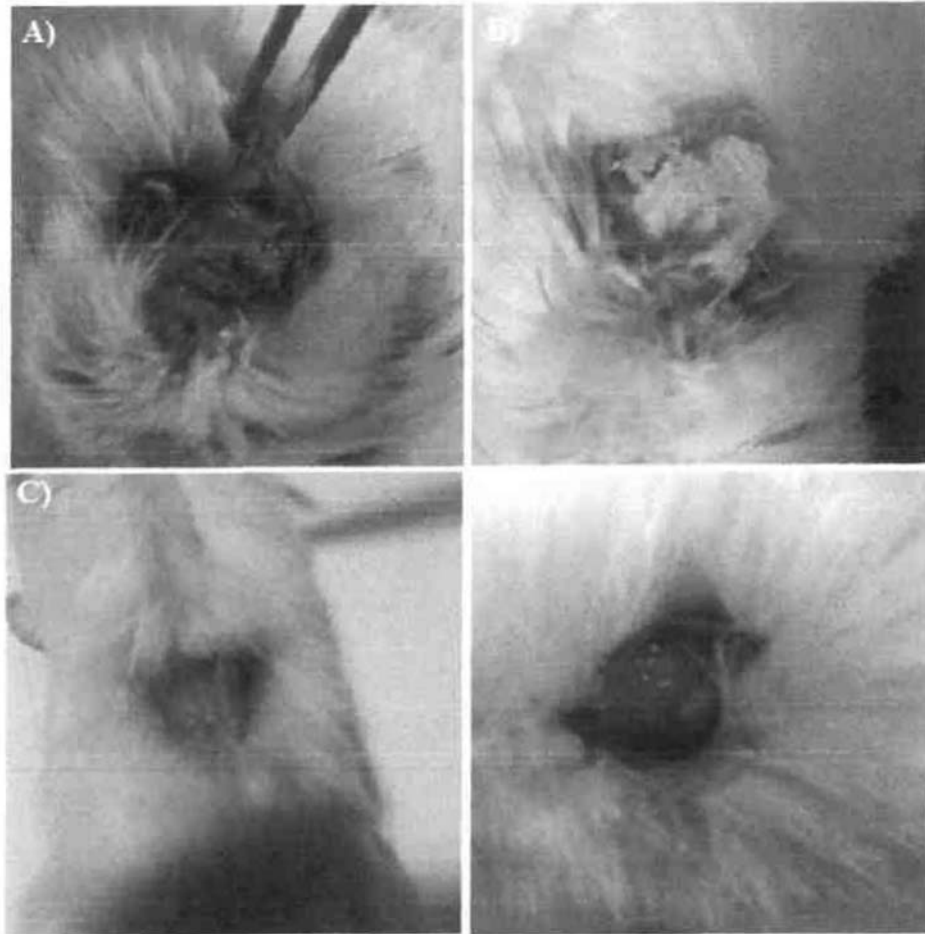


Fig. 5