



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119699** (13) **C2**
(51) МПК (2019.01)
A61K 35/32 (2015.01)
A61F 2/28 (2006.01)
A61P 19/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2017 09455</p> <p>(22) Дата подання заявки: 27.09.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.07.2019</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 10.04.2019, Бюл.№ 7</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2019, Бюл.№ 14</p> <p>(72) Винахідник(и): Корж Микола Олексійович (UA), Воронцов Петро Михайлович (UA), Сльота Оксана Михайлівна (UA), Гусак Валерія Сергіївна (UA), Воронцова Марія Петрівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): Корж Микола Олексійович, вул. Іванова, 4, кв. 9, м. Харків, 61002 (UA), Воронцов Петро Михайлович, вул. Тверська, 50, м. Харків, 61020 (UA), Сльота Оксана Михайлівна, пров. Польовий, 2, м. Люботин, 62433 (UA), Гусак Валерія Сергіївна, вул. Конституції, 44, кв. 4, м. Мерефа, 62472 (UA), Воронцова Марія Петрівна, вул. Тверська, 50, м. Харків, 61020 (UA)</p>	<p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 108813 C2, 25.11.2014 RU 2172104 C1, 20.08.2001 RU 2517037 C1, 27.05.2014 RU 2155025 C1, 27.08.2000 RU 2278655 C1, 27.06.2006 RU 2495567 C1, 20.10.2013 CN 101164626 A, 23.04.2008 US 20150352235 A1, 10.12.2015 Vangsness C. T. Et al. Overview of safety issues concerning the preparation and processing of soft-tissue allografts. The journal of arthroscopic and related surgery, 2006, Vol. 22, No. 12, P. 1351-1358 Сербин М. Е. и др. Некоторые свойства костной ткани после обработки химическим способом. Український морфологічний альманах, 2011, Том9, №3 (додаток), стор. 123-125 Haimi S. et al. The effect of chemical cleansing procedure combined with peracetic acid-ethanol sterilization on biomechanical properties of cortical bone. Biologicals, 2008, Vol. 36, P. 99-104 Воробьев К. А. и др. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы). Травматология и ортопедия России, 2017, Том 23, №3, стр. 134-147</p>
--	---

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ІМПЛАНТАЦІЙНОГО ДЕГІДРАТОВАНОГО КІСТКОВОГО БІОМАТЕРІАЛУ АЛОГЕННОГО ПОХОДЖЕННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу виготовлення імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу алогенного походження, який включає очищення кістки природного походження, її здрібнювання, обробку кісткових фрагментів перекисом водню та етанолом, а також сумішшю солей, упаковку та стерилізацію, де обробку кісткових фрагментів здійснюють 10 % розчином перекису водню впродовж доби об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1 зі зміною розчину 1-2 рази; з подальшою обробкою кісткових фрагментів сумішшю 96 % етанолу із діетиловим ефіром в пропорції 1:1 впродовж 8 годин, витримують кісткові фрагменти при температурі мінус 25 °С впродовж 20 годин у розчині 0,45 М NaCl, з об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1, потім витримують при температурі 25 °С впродовж 8 годин у розчині 0,1 М Na₂HPO₄, з об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1 з проміжним між стадіями розморожуванням, промиванням водою та висушуванням при кімнатній температурі, після чого кістковий матеріал висушують за

UA 119699 C2

допомогою конвекційного сушіння, пакують та піддають радіаційній стерилізації в дозі від 15 до 25 кГр.

Винахід належить до медицини, а саме до травматології та ортопедії, та призначений для отримання остеопластичного матеріалу шляхом обробки кортикально-губчастої кісткової тканини. Винахід може бути використаний як самостійно, так і як носій біологічно активних речовин, лікарських засобів та клітин для оптимізації репаративного остеогенезу за умов

5 хірургічного лікування пацієнтів із травматичними дефектами та пухлинними ураженнями кісток, переломами, що не зрослись або консолідуються уповільнено, хибними суглобами та в інших областях відновної хірургії в якості остеопластичного матеріалу для заміщення кісткової

10 Поряд із використанням провідних методів хірургічної техніки щодо остеопластики успішний результат заміщення та відновлення значно мірою залежить від фізико-хімічних, osteoconдуктивних та osteoіндуктивних властивостей імплантаційного кісткового біоматеріалу після його попередньої обробки. Ці властивості істотно різняться залежно від застосованих

15 способів обробки на кожному з трьох основних етапів виготовлення мінералізованого кісткового матеріалу: 1) хімічна депротейнізація та знежирення для зменшення імуногенності (руйнування та видалення основних антигенних сполук глікопротеїнів і гліколіпідів); 2) стерилізація для знезараження (забезпечення антисептики); 3) консервація для зберігання.

Відомий спосіб отримання остеопластичного матеріалу, який включає механічне очищення кістки від м'яких тканин і розпилювання губчастої кісткової тканини, обробку 1-10 % розчином натрію хлориду 1-8 діб, розміщення матеріалу в ультразвукову ванну з 1-10 % розчином

20 перекису водню на 1-8 діб, глибоке очищення і знежирення методом надкритичної флюїдної екстракції при температурі 20-70 °C і тиску 1000-10000 psi протягом 30-500 хвилин, демінералізацію розчином соляної кислоти 0,5-4 М протягом 15-300 хвилин і ліофілізацію протягом 1-48 годин [Пат. 2609201 RU МПК А61L 27/36, А61F 2/28, В01D 15/40. Спосіб

25 получения остеопластического материала / Евдокимов СВ. и др. (RU). - № 2015134550; заявл. 14.08.2015; опубл. 30.01.2017, Бюл. №4]. Даний спосіб забезпечує проведення глибокого і безпечного очищення кісткового матриксу, збереження структури кісткового матриксу, зниження антигенності, підвищення біосумісності і osteoconдуктивності. Недоліком даного способу є довготривала обробка перекисом водню, що може призводити до руйнування кісткових

30 морфогенетичних білкових факторів в отримуваному матеріалі. В результаті отримуваний матеріал буде позбавлений osteoіндуктивних властивостей.

Відомий спосіб виготовлення кісткового біосумісного матеріалу, який включає розпилювання губчастої кістки на фрагменти необхідних розмірів, обробку 6 % розчином перекису водню

35 впродовж 48 годин (4 рази через кожні 12 годин), центрифугування, обробку сумішшю етанолу та хлороформу (1:1) впродовж 48 годин (4 рази через кожні 12 годин), центрифугування, висушування на повітрі впродовж 24 годин, заморожування при температурі -70 °C впродовж 24 годин, ліофілізацію впродовж 48 годин, пакування у стандартний подвійний пакет та стерилізацію потоком прискорених електронів дозою 18±5кГр [Пат. 2172104 RU МПК А01N 1/00. Спосіб

40 изготовления имплантатов из губчатой костной ткани / Лекишвили М. В. и др. (RU). - №2000115228/14; заявл. 15.06.2000; опубл. 20.08.2001, Бюл. №23]. Даний спосіб забезпечує низьку антигенність та повну стерильність кінцевого продукту. Недоліком даного способу є використання хлороформу. Це збільшує ризик токсичності кінцевого медичного виробу та небезпеку його використання.

Відомий спосіб виготовлення губчастих кісткових трансплантатів, під час якого проводять заготовку тканин в нестерильних умовах та їх механічну обробку. Перед стерилізацією матеріал експонують в 6 % розчині перекису водню протягом 60 хвилин з подальшим поліпозиційним

45 відмиванням спонгіозної кістки від мієлоїдно-жирового кісткового мозку і елементів крові проточною водою під різним кутом атаки гідродинамічного струменя під тиском 8 Мпа з відстані 10 см протягом 1 хвилини. Стерилізацію проводять в суміші перекису водню та мурашиної

50 кислоти [Пат. 2440730 CI RU МПК А01N 1/00. Спосіб изготовления губчатых костных трансплантатов / Демичев Н.П. и др. (RU) №2010125583/13; заявл. 22.06.2010; опубл. 27.01.2012, Бюл. №3]. Винахід дозволяє підвищити технологічність, поліпшити якість пластичного матеріалу та його osteoіндуктивні властивості, скоротити час підготовки алотрансплантата до клінічного використання. Недоліком даного способу є можлива висока

55 антигенність за рахунок недостатнього видалення жирового компоненту шляхом фізичного впливу води під тиском. Також недоліком є зберігання пластичного матеріалу у скляних флаконах за температури -18 °C, що спричиняє відповідні технічні труднощі у разі транспортування губчастих кісткових трансплантатів.

Відомий спосіб виготовлення крупноблочних ліофілізованих кісткових імплантатів, який

60 полягає в тому, що у попередньо механічно оброблених, відмитих проточною водою великих

кісткових блоках, що складаються з компактного і губчастого компонентів кісткової тканини, роблять хаотично розташовані наскрізні отвори діаметром 1-3 мм. Після виливу на крупноблочні кісткові імплантати ліпосистемами та перекисом водню, низькочастотними ультразвуковими коливаннями частотою 35 ± 10 % кГц протягом 1-3 хвилин. Поміщають крупноблочні кісткові імплантати в камеру, в якій створюють вакуум із залишковим тиском 1-2 Па на 15 хвилин. Після відмивання крупноблочних кісткових імплантатів проточною водою і спирто-ефірним розчином 0,5-1,5 години, заморожують при температурі -60 °С, ліофілізують, герметично упаковують і стерилізують радіаційним методом [Пат. 2366173 СІ RU МПК А01N 1/00. Способ изготовления крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов / Волова Л.Т. (RU) - № 2008119004/14; заявл. 15.05.2008; опубл. 10.09.2009, Бюл. №25]. Спосіб забезпечує підвищення ефективності та якості очищення крупноблочних кісткових і сухожильно-кісткових імплантатів від жиру і кісткового мозку. Недоліками даного способу є низька ефективність способу за рахунок тривалості проведення процесу виготовлення кісткових біоімплантатів, великих матеріальних і трудовитрат при виготовленні кісткових біоімплантатів, пов'язаних з використанням для ліофілізації кісткових біоімплантатів дорогого устаткування.

Відомий спосіб виготовлення кісткового алотрансплантата, який передбачає проведення механічної обробки та промивання заготовки з кісткового матеріалу, виконання в ній наскрізних отворів, демінералізацію в розчині соляної кислоти, консервацію демінералізованої заготовки за допомогою ліофільного сушіння, стерилізацію після завершення сушіння, яку здійснюють шляхом опромінення заготовки, поміщеної в герметичну упаковку, пучком прискорених електронів дозою 15-18 кГр протягом 16-20 с [Пат. 2147800 СІ RU МПК А01N 1/00. Способ изготовления костного аллотрансплантата / Лекишвили М. В. и др. (RU). - №99102801/14; заявл. 17.02.1999; опубл. 27.04.2000, Бюл. №12]. Даний спосіб забезпечує підвищення якості алотрансплантата. Недоліками цього способу є те, що використання дегідратації кісткової тканини методом сублимації (висушування із замороженого стану в умовах вакууму) робить недемінералізовану кісткову тканину крихкою, за рахунок пошкодження мікроструктури, головним чином, колагену. Також процес демінералізації кісткової тканини розчинами соляної кислоти різко знижує її механічні властивості.

Відомий спосіб отримання кісткового алоімплантата з високими механічними властивостями. Суть методу: після механічного очищення кортикальну кістку розпилюють на пластини потрібного розміру, обробляють 3 % розчином перекису водню в ультразвуковій ванні при температурі 30 °С з дворазовою зміною розчину протягом 10-20 годин, обробляють 6 М розчином сечовини в протягом 18 годин, знежирюють і одночасно дегідратують в суміші етанолу та хлороформу (1:1) протягом 8 годин, потім двічі промивають в 96 % етанолі з розрахунку на 1г тканини 10-15 мл етанолу, досушують в спеціальному контейнері під тиском 60-80 Торр протягом 2 годин, упаковують в подвійний пластиковий пакет і стерилізують потоком швидких електронів дозою 18-25 кГр [Пат. 2343934 СІ RU МПК А61L 27/00. Способ получения костного аллоимплантата с высокими механическими свойствами / Лекишвили М.В. и др. (RU). №2007131224/15; заявл. 16.08.2007; опубл. 20.01.2009, Бюл. №2]. Спосіб забезпечує отримання кісткових алоімплантатів з високими механічними властивостями, близькими до нативної кісткової тканини, які можуть бути використані для заміщення великих кісткових дефектів, і бути основою для інших виробів медичного призначення. Недоліками даного способу є обробка біоматеріалу хлороформом, що збільшує ризик токсичності кінцевого медичного виробу та небезпеку його використання.

Відомий спосіб отримання та консервації мінералізованого кісткового матриксу, який полягає у механічній обробці губчастої кістки від хрящової тканини, перфорацію кістки спицею, з подальшою обробкою кістки 0,8 % розчином натрію хлориду і 0,1 % Твін-100 протягом 6 ч, 6 % розчином перекису водню впродовж 24 годин, замінюючи його через 6 ч, центрифугуванням при 3000 об/хв..., після чого на 12 годин зануренням в суміш етанолу і хлороформу (1:1), змінюючи 3 рази через кожні 4 год., потім протягом 6 ч обробляють спирт-ефірну суміш (1: 2), провітрюють губчасту кістку в струмі повітря протягом 12 год., заморожують при -70 °С і ліофільно висушують. Висушену губчасту кістку поміщають в герметичний пластиковий контейнер і стерилізують потоком швидких електронів дозою 18 ± 5 кГр на лінійному прискорювачі електронів У003 МВ. [Пат. 2495567 СІ RU МПК А01N 1/00. Способ получения и консервации минерализованного костного матрикса / Лунева С.Н. и др. (RU). №2012112186/15; заявл. 29.03.2012; опубл. 20.10.2013, Бюл. №29].

Вищеописаний спосіб дозволяє отримати препарат, який може зберігатися протягом 3 років, зберігаючи стерильність і біологічні властивості. Недоліками даного способу є використання хлороформу при обробці біоматеріалу, це збільшує ризик токсичності кінцевого медичного виробу та небезпеку його використання.

Відомий спосіб виготовлення біоматеріалу з кісткової тканини, який включає очищення кістки природного походження, її здрібнювання до необхідних розмірів, обробку кісткових фрагментів перекисом водню, очищеною гарячою водою, з осмотичною обробкою кісткових фрагментів сумішшю із вмістом хлору, наприклад хлоридом калію чи хлоридом літію із наступним витримуванням кісткових фрагментів при наднизьких температурах до мінус 180 °С, додатково великі кісткові фрагменти очищають за допомогою ультразвуку із сумішшю з вмістом хлору, далі кісткові фрагменти витримують в розчині із вмістом фосфатовмісних або сольових розчинів, наприклад, гідрофосфату натрію, після чого кістковий матеріал промивають в розчині соляної кислоти, з послідовним промиванням дезактиваторами соляної кислоти [Пат. 1 18016 UA МПК А61К 35/32, А61F 2/28, А61L 27/00, А01N 1/00, А61Р 19/00. Спосіб виготовлення біоматеріалу з кісткової тканини / Сербін М.Є. та ін. (UA). -№ а 2016 05029; заявл. 06.05.2016; опубл. 25.07.2017, Віол. №14]. Спосіб забезпечує одержання збереженого за архітектонікою кісткового біоматеріалу та чистого кісткового колагену з низькоантигенними властивостями. Недоліками даного способу є використання хлороформу, що збільшує ризик токсичності кінцевого продукту та небезпеку його використання.

Найбільш близький до винаходу, що заявляється, є спосіб виготовлення біоматеріалу з кістки природного походження, який передбачає механічне очищення та здрібнювання кістки до фрагментів необхідного розміру, щонайменше дворазова обробка 10 % розчином перекису водню H_2O_2 впродовж 24 годин, промивання проточною водою впродовж 45 хвилин, висушування на повітрі, обробка сумішшю етанолу та діетилового ефіру (1:1) впродовж 8 годин, промивання проточною водою впродовж 45 хвилин, висушування на повітрі, обробка 0,45 М розчином натрію хлориду $NaCl$ при температурі -25 °С впродовж 20 годин, розморожування та промивання дистильованою водою, обробка 0,1 М розчином натрію фосфорнокислого двозамісного Na_2HPO_4 при температурі -25 °С впродовж 8 годин, розморожування та промивання дистильованою водою, насичення розчином цефтриаксону (у 0,9 % $NaCl$ з додаванням диметилсульфоксиду) та аскорбіновою кислотою, пакування у стерильні пакети, зберігання при температурі -25 °С [Пат. 108813 UA МПК А61К 35/32, А61F 2/28, А61Р 19/00, А01N 1/00, А61L 27/00. Спосіб виготовлення біоматеріалу з кісткової тканини / Корж М.О. та ін. (UA). - № а 2014 03313; заявл. 25.11.2014; опубл. 10.06.2015, Бюл. № 11].

Даний спосіб виготовлення біоматеріалу із кісткової тканини є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю і результатом, який може бути досягнутим, тому його обрано за прототип.

Прототип і винахід, що заявляється, мають такі спільні ознаки: підготовка первинного матеріалу, обробка первинного матеріалу 10 % розчином перекису водню, обробка сумішшю етанолу та діетилового ефіру (1:1), обробка 0,45 М розчином натрію хлориду $NaCl$ при температурі -25 °С, обробка 0,1 М розчином натрію фосфорнокислого двозамісного Na_2HPO_4 при температурі -25 °С. Але, відомий спосіб має такі недоліки: зберігання препаратів потребує морозильної камери з температурою мінус 25 °С та постійного контролю над процесом зберігання; виникають відповідні технічні труднощі при транспортуванні пластичного матеріалу. Окрім того, обробка біоматеріалу хлороформом - збільшує ризик токсичності кінцевого медичного виробу та небезпеку його використання.

В основу винаходу поставлено задачу підвищити якість клінічних та експлуатаційних властивостей імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу алогенного походження шляхом зниження антигенних властивостей кісткової тканини при високому терміні зберігання та спрощеній технології підготовки імплантату до клінічного використання.

Задачу, яку поставлено в основу "винаходу, вирішують тим, що у відомому способі виготовлення імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу, який включає очищення кістки природного походження, її здрібнювання, обробку кісткових фрагментів перекисом водню, сумішшю етанолу з ефіром, а також сумішшю солей, упаковку та стерилізацію, згідно з винаходом, обробку кісткових фрагментів здійснюють 10 % перекисом водню в перебігу доби, об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1 зі зміною розчину 1-2 рази; обробку кісткових фрагментів виконують сумішшю 96 % етанолу із діетиловим ефіром в пропорції 1:1 в перебігу 8 годин, витримування кісткових фрагментів при температурі мінус 25 °С у перебігу 20 годин у розчині 0,45 М $NaCl$, з об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1, з послідовним витримуванням при температурі мінус 25 °С в перебігу 8 годин у розчині 0,1 М Na_2HPO_4 , з об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1, після чого кістковий матеріал висушують за допомогою конвекційного сушіння, пакують та піддають радіаційній стерилізації в дозі від 15 до 25 кГр.

Технічний ефект винаходу досягають за рахунок синергізму сукупності етапів способу, порядку їх виконання та умов, при яких кожен із етапів може бути виконаним.

Спосіб виконують таким чином.

1. Видалення з поверхні кісткових фрагментів м'яких тканин, хряща, окістя, здрібнювання кістки.

2. Обробка кісткових фрагментів 10 % перекисом водню H_2O_2 впродовж доби. Об'єм розчину до об'єму тканини 5:1. Розчин замінують 1-2 рази. Після закінчення часу експозиції, тканину промивають 1 годину під проточною водою та висушують марлею. Етап забезпечує видалення елементів крові та первинну стерилізацію кісткового матеріалу.

3. Обробка кісткових фрагментів сумішшю 96 % етилового спирту із діетиловим ефіром у співвідношенні 1:1 впродовж 8 годин. Обробку виконують у герметично зачиненому ексікаторі, у витяжній шафі, за допомогою магнітної мішалки. Після закінчення часу експозиції тканину промивають 1 годину під проточною водою, висушують марлею та провітрюють кісткові фрагменти протягом 12 годин. Етап забезпечує видалення жирових компонентів - ліпідів, ліпопротеїдів і т.д. та вторинну стерилізацію.

4. Витримування кісткових фрагментів при температурі $-25\text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 20 годин в розчині $0,45\text{ M NaCl}$. Об'єм розчину до об'єму тканини 5:1. Після закінчення часу експозиції розморожують та відмивають тканину у дистилляті. Етап забезпечує зниження антигенних властивостей за рахунок екстракції неколагенових білків.

5. Витримування кісткових фрагментів при температурі $-25\text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 8 годин в розчині $0,1\text{ M Na}_2\text{HPO}_4$. Об'єм розчину до об'єму тканини 5:1. Після закінчення часу експозиції розморожують та відмивають кістковий матеріал у дистилляті. Етап забезпечує зниження антигенних властивостей за рахунок екстракції неколагенових білків, що залишилися.

Після проведення кісткового матеріалу через етапи вищеописаної переробки на виході отримують біоорганічну фазу (мінеральна частина кістки плюс колаген), що далі є основою для отримання імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу.

Фрагменти кісткового матеріалу висушують за допомогою конвекційного сушіння впродовж 4-5 діб.

Кістковий біоматеріал пакують у подвійну упаковку, яка складається із зовнішнього комбінованого пакету та поліпропіленового флакону, маркують та піддають радіаційній стерилізації в дозі від 15 до 25 кГр.

Після стерилізації імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу проводиться мікробіологічне досліджування в бактеріологічній лабораторії. Чотири зразки з кожної партії передають на бактеріологічний посів. Стерильним вважається відсутність зростання колоній на поживних середовищах.

У випадку встановлення факту росту мікрофлори препарати даної партії вилучають і утилізують.

Одержаний із кісткової тканини біоматеріал алогенного походження зберігає нативну структуру кісткового колагену та просторову організацію кісткової тканини, що необхідно для її наступної клітинної колонізації, підвищення приживлення за рахунок зниження антигенних характеристик та підвищення тим самим біосумісності і біоінтеграції.

Винахід промислово придатний, освоєний в лабораторних умовах, результати випробувань доводять практичну цінність одержаного кісткового біоматеріалу алогенного походження.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб виготовлення імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу алогенного походження, який включає очищення кістки природного походження, її здрібнювання, обробку кісткових фрагментів перекисом водню та етанолом, а також сумішшю солей, упаковку та стерилізацію, який **відрізняється** тим, що обробку кісткових фрагментів здійснюють 10 % розчином перекису водню впродовж доби об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1 зі зміною розчину 1-2 рази; з подальшою обробкою кісткових фрагментів сумішшю 96 % етанолу із діетиловим ефіром в пропорції 1:1 впродовж 8 годин, витримують кісткові фрагменти при температурі мінус $25\text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 20 годин у розчині $0,45\text{ M NaCl}$, з об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1, потім витримують при температурі $25\text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 8 годин у розчині $0,1\text{ M Na}_2\text{HPO}_4$, з об'ємом розчину до об'єму тканини 5:1 з проміжним між стадіями розморожуванням, промиванням водою та висушуванням при кімнатній температурі, після чого кістковий матеріал висушують за допомогою конвекційного сушіння, пакують та піддають радіаційній стерилізації в дозі від 15 до 25 кГр.

Комп'ютерна верстка В. Юкін

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601