



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 35/76 (2023.01); A61L 15/12 (2023.01); A61L 15/36 (2023.01); A61L 15/60 (2023.01)

(21)(22) Заявка: 2021131530, 27.10.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
27.10.2021

Дата регистрации:  
28.02.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.10.2021

(45) Опубликовано: 28.02.2023 Бюл. № 7

Адрес для переписки:

121096, Москва, а/я 1, Салмина Ольга  
Борисовна

(72) Автор(ы):

Бесчастнов Владимир Викторович (RU),  
Погодин Игорь Евгеньевич (RU),  
Леонтьев Андрей Евгеньевич (RU),  
Тулупов Александр Андреевич (RU),  
Бадиков Эмиль Фирдависович (RU),  
Рябков Максим Георгиевич (RU),  
Юданова Татьяна Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью  
"Новые Перевязочные Материалы" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2352364 C2, 20.04.2009. RU  
2687108 C1, 07.05.2019. RU 2156133 C1,  
20.09.2000. GE 3138 B, 25.12.2003. WO  
2008043175 A1, 17.04.2008. Steele A, Stacey HJ,  
de Soir S, Jones JD. The Safety and Efficacy of  
Phage Therapy for Superficial Bacterial  
Infections: A Systematic Review. Antibiotics  
(Basel). 2020. Oct 29; 9(11): 754. Додова Е.Г.  
(см. прод.)

(54) СПОСОБ МИКРОГРАФТИНГА ПРИ ЗАКРЫТИИ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН МЯГКИХ  
ТКАНЕЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к общей хирургии, реконструктивно-пластической хирургии, комбустиологии, травматологии, и может быть использовано для закрытия инфицированных ран мягких тканей. Способ микрографтинга при закрытии инфицированных ран мягких тканей характеризуется тем, что предварительно выявляют микрофлору, колонизирующую реципиентную рану, подготавливают набор бактериофагов, к которым чувствительны выявленные патогены, затем микрографты с размерами стороны эпителиальной поверхности 1÷3 мм, полученные с использованием пластины-подложки, переносят на рану, без изменения их ориентации эпителием

вверх, при помощи пленки-заготовки для гидрогелевой пластины, наложенной на эпидермальную поверхность микрографтов, и прижимной пластины с насечками, размещенной сверху пленки-заготовки, после размещения на ране пленки-заготовки, с интегрированными в нее микрографтами, и удаления прижимной пластины, в пленку-заготовку добавляют 0,05-0,2 мл/см<sup>2</sup> раствора бактериофагов, к которым чувствительны колонизирующие рану бактерии, с полным переходом пленки-заготовки в гелевую форму. Изобретение обеспечивает снижение риска местных инфекционных осложнений при выполнении микрографтинга, снижении трудоемкости и длительности процесса переноса

микрографтов на реципиентную рану с ил.  
сохранением их ориентации. 2 з.п. ф-лы, 1 пр., 17

(56) (продолжение):

Постантибиотиковая эра: бактериофаги как лечебная стратегия / Е.Г. Додова, Е.А. Горбунова, И.А. Аполихина  
// Медицинский вестник. - 2015. - 1. - С. 49-53.

RU 2790927 C1

RU 2790927 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

*A61K 35/76* (2015.01)*A61L 15/12* (2006.01)*A61L 15/36* (2006.01)*A61L 15/60* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 35/76 (2023.01); A61L 15/12 (2023.01); A61L 15/36 (2023.01); A61L 15/60 (2023.01)*(21)(22) Application: **2021131530, 27.10.2021**(24) Effective date for property rights:  
**27.10.2021**Registration date:  
**28.02.2023**

Priority:

(22) Date of filing: **27.10.2021**(45) Date of publication: **28.02.2023** Bull. № 7

Mail address:

**121096, Moskva, a/ya 1, Salmina Olga Borisovna**

(72) Inventor(s):

**Beschastnov Vladimir Viktorovich (RU),  
Pogodin Igor Evgenevich (RU),  
Leontev Andrei Evgenevich (RU),  
Tulupov Aleksandr Andreevich (RU),  
Badikov Emil Firdavisovich (RU),  
Riabkov Maksim Georgievich (RU),  
Iudanova Tatiana Nikolaevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoi otvetstvennostiu  
"Novye Pereviazochnye Materialy" (RU)**

(54) **MICROGRAFTING METHOD IN CLOSING INFECTED WOUNDS OF SOFT TISSUES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; general surgery; reconstructive plastic surgery; combustiology; traumatology.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to general surgery, reconstructive plastic surgery, combustiology, traumatology; it can be used for closing infected wounds of soft tissues. A micrografting method in closing infected wounds of soft tissues is characterized by that, first, microflora colonizing a recipient wound is detected, a set of bacteriophages, to which detected pathogens are sensitive, is prepared. Then, micro-grafts with a size of an epithelial surface side of  $1 \div 3$  mm, obtained using a substrate plate, are transferred to the wound, without changing their orientation epithelium up, using a film

billet for a hydrogel plate applied to an epidermal surface of micro-grafts and a pressing plate with cuts, placed above the film billet. After placement of the film billet with integrated micro-grafts on the wound and removal of the pressing plate, the film billet is added with  $0.05-0.2$  ml/cm<sup>2</sup> of a solution of bacteriophages, to which bacteria colonizing the wound are sensitive, with complete transition of the film billet to a gel form.

EFFECT: invention provides reduction in the risk of local infectious complications during micrografting, reduction in labor intensity and duration of a process of micrograft transfer to a recipient wound, saving their orientation.

3 cl, 1 ex, 17 dwg

Предлагаемое изобретение относится к медицине, а именно к общей хирургии, реконструктивно-пластической хирургии, комбустиологии, травматологии и может быть использовано для закрытия инфицированных ран мягких тканей.

Основным методом закрытия хронических и ожоговых ран мягких тканей является свободная кожная пластика расщепленным аутодермотрансплантатом. Однако возможностей этого метода недостаточно в случае дефицита донорских ресурсов или нарушения перехода раневого процесса от фазы воспаления к фазе пролиферации [1]. Для преодоления этих ограничений в 1958 году американским хирургом Цицери Паркером Миком (С.Р. Meek) из Университета Южной Каролины (США) была разработана техника микротрансплантации (микрографтинга) МЕЕК [2]. Способ, предложенный С.Р. Meek, не получил широкого распространения из-за трудновыполнимого в то время требования к ориентации микротрансплантатов дермальной поверхностью к ложу раны и практически одновременного внедрения конкурирующего метода кожной пластики с использованием сетчатых трансплантатов MESH [3]. Метод MESH, то есть выполнение из сплошного трансплантата сетчатого, получил широкое распространение, однако он имеет собственные недостатки, в частности увеличение площади трансплантата значительно меньше заявленной, низкий косметический эффект - формирование рубцовой ткани в виде сетки или «вафли» и слабая стимулирующая способность [4]. В связи с этим в настоящее время активно ведутся работы по совершенствованию методики МЕЕК для закрытия хронических и ожоговых ран мягких тканей [5].

Суть способа С.Р. Meek, заключается в том, что при разделении трансплантата на части («микротрансплантаты» или «микрографты»), сумма площади всех сторон этих частей больше суммы площади сторон целого трансплантата. Причем это отношение тем больше, чем меньше размер микротрансплантатов. Поскольку, микрографты имеют большую суммарную площадь, чем целый трансплантат, это влечет за собой два важных следствия: во-первых, можно закрыть площадь раневой поверхности большую, чем исходный донорский участок, во-вторых, увеличивается количество биологически активных веществ, молекул и клеток, выделяющихся из перемещаемой кожи в ткань раны. Стимуляция перехода воспалительной фазы заживления раны в пролиферативную при помощи сверхэкспрессии биологически активных веществ является серьезным преимуществом микрографтинга по сравнению с другими методами кожной пластики. Так, в исследовании G. Pertusi et al. (2012), доказано, что среда, в которой находились микрографты по сравнению со средой, в которой находился традиционный трансплантат, характеризуется более высокой концентрацией фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкина-1 $\alpha$ , фактора роста тромбоцитов и основного фактора роста фибробластов. [6]. Исследования *in vitro* показали, что микротрансплантаты дают положительную реакцию с маркерами мезенхимальных стволовых клеток, таких как CD73, CD90, CD115 и CD146 [7; 8], что свидетельствует о высоком регенеративном потенциале микротрансплантатов.

С целью достижения указанных преимуществ предлагаются различные варианты выполнения микрографтинга. В основе технической реализации способа микрографтинга лежит задача обеспечения правильной пространственной ориентации микротрансплантатов. Традиционно считается, что для успешной реваскуляризации крайне важно, чтобы дермальная поверхность трансплантата была обращена к ложу раны, а эпидермальная, соответственно, вверх. F. Hackl et al. [9] и M. Singh [10] показали в экспериментах на животных, что, при размере микрографтов 0,8×0,8 мм и 0,3×0,3 мм и при наличии влажной среды, ориентация не оказывает значительного влияния на

выживаемость микрографтов. Это связано с тем, что микрографты субмиллиметрового размера получают питание за счет диффузии из раневого ложа, а не за счет неоваскуляризации [9], что, по мнению, авторов обосновывает способ свободного, «хаотичного» распределения микрографтов на реципиентной ране. Существенным ограничением этой методики является необходимость создания и поддержания локальной «влажной среды», для чего авторы используют специальные «раневые камеры» [11]. Кроме того, хаотичная ориентация микрографтов субмиллиметрового размера снижает качество регенерирующей ткани и повышает риск образования дермоидных кист в области кожной пластики [12]. Указанные недостатки значительно снижают эффективность способа.

В работе X. Zheng et al. в эксперименте было доказано, что при ориентации микрографтов размерами 1×1 мм эпителиальной стороной вверх отмечается увеличение скорости заживления раны и более высокое качество вновь образованного эпителия [12]. Таким образом, целесообразно размещать на ране микрографты с размерами эпителиальной поверхности более 1×1 мм, но не более 3×3 мм. Эти данные послужили основанием для разработки новых способов решения задачи ориентации микрографтов на реципиентной ране. С целью упрощения технологии для обеспечения правильной ориентации микрографтов применяется способ флотации [13]. Способ заключается в том, что микрографты помещаются в емкость с физиологическим раствором, при этом большая их часть всплывает эпителиальной стороной вверх. При помощи марли микрографты поднимают из жидкости и помещают на раневую поверхность. Однако и этот способ имеет недостатки: трудоемкость, использование традиционных раневых покрытий (марли), кроме того, при такой методике доля микрографтов, ориентированных эпителием вверх, составляет всего 50-70% [12]. Усовершенствованный способ флотации [12], заключается в приклеивании коллагеновой мембраны на эпидермальную поверхность трансплантата перед разрезанием его на микрографты, что обеспечивает правильную ориентацию 90% микрографтов при их флотации. Описанный способ также имеет недостатки, в частности увеличение трудоемкости и длительности операции, использование дополнительных материалов (коллагеновая мембрана выполнена из белка кожи рыбы тилапии), что приводит к снижению доступности способа.

При закрытии ран при помощи кожной пластики серьезной проблемой является обеспечение профилактики местных инфекционных осложнений. В работе немецких исследователей изучена инфекционная безопасность использования традиционных раневых покрытий при выполнении микрографтинга и традиционного сетчатого трансплантата [14]. Стандартным защитным раневым покрытием в течение пяти-семи дней при выполнении методики МЕЕК является специальная марля с адгезивом, а при использовании сетчатых трансплантатов (MESH) - марля или пена. По данным авторов наложение на рану повязок из этих материалов создает благоприятные условия для роста микроорганизмов. При помощи автофлуоресцентной визуализации была выявлена высокая концентрация патогенов в перевязочном материале, которым были укрыты как микротрансплантаты, так и сетчатые трансплантаты. По данным литературы колонизирующими микроорганизмами хронических и ожоговых ран в абсолютном большинстве случаев является полирезистентная госпитальная микрофлора [15; 16]. Исходя из анализа имеющихся данных, профилактика инфекционного процесса в области реципиентной раны путем использования безопасного и эффективного противомикробного средства в составе раневого покрытия является нерешенным вопросом и одним из принципиальных условий неосложненного течения раннего

послеоперационного периода и приживления трансплантата.

В связи с широким распространением антибиотикорезистентности среди микроорганизмов, вызывающих раневые инфекции, для обеспечения инфекционной безопасности при лечении ран активно применяется фаготерапия [17; 18]. Известен способ профилактики инфекционных процессов при свободной кожной пластике [19], включающий применение бактериофагов, отличающийся тем, что методом ретроспективного анализа выявляют актуальную госпитальную микрофлору, являющуюся причиной местных раневых осложнений при кожной пластике, готовят набор бактериофагов, к которым чувствительны выявленные госпитальные патогены, затем готовят повязку на реципиентную рану путем нанесения на пленку из поливинилового спирта, содержащую фосфатный буфер с pH 6,6÷7,8 в количестве  $(1\div3)\times 10^{-5}$  моль/г, 0,05-0,2 мл/см<sup>2</sup> раствора бактериофагов, к которым чувствительны выявленные госпитальные патогены, с последующим укрытием трансплантата и реципиентной раны полученной гелевой пластиной. Однако указанный способ имеет недостатки: в рамках данного способа бактериофаги готовят, исходя из анализа госпитальных патогенов медицинской организации. При этом у конкретного пациента могут быть другие патогены или может отличаться их чувствительность к бактериофагам. Кроме того, способ применяется после выполнения кожно-пластической операции, в связи с чем он не обеспечивает возможность переноса микрографтов на реципиентную рану.

Таким образом, существуют серьезные технические проблемы, которые препятствуют распространению микрографтинга в широкой клинической практике. Прежде всего, это трудоемкость существующих способов, а также нерешенные вопросы обеспечения ориентации микрографтов на реципиентной ране эпителием вверх и профилактики местных инфекционных осложнений при выполнении микрографтинга.

Наиболее близким к заявляемому по технической сущности и достигаемому результату, является способ выполнения техники С.Р. Meek в современной модификации, выбранный в качестве прототипа, описанный в [20]. Способ заключается в следующем. Аутооттрансплантат кожи размещают дермальной стороной вниз на пробковой пластине квадратной формы размером 42×42 мм и толщиной 2 мм. Пробку с кожей проводят через аппарат МЕЕК, который содержит 13 параллельных круглых лезвий и лезвия прорежут кожу. Таким образом получают 14 полос шириной 3 мм. После того как кожу проведут через режущую машину первый раз, пробковую пластину поворачивают на 90° и вторично проводят через аппарат МЕЕК, разрезая кожу на 196 частей (14×14) размером 3×3 мм. Верхнюю (эпидермальную) поверхность полученных микрографтов опрыскивают адгезивным спреем и подсушивают. Пробковую пластину с микрографтами, на которые нанесен адгезив, накрывают марлей. Затем пробку удаляют, оставляя микрографты на марле. Марлю растягивают на четыре стороны до увеличения ее площади в 6-9 раз, после чего ее прикладывают к ране, таким образом, что микрографты оказываются ориентированными дермальной стороной вниз, на рану. Через 4-6 дней марлю удаляют, оставляя микрографты на ране.

Представленный способ, взятый за прототип, имеет следующие недостатки: трудоемкость - способ длительный и требует привлечения дополнительного персонала; высокий риск местных инфекционных осложнений при выполнении микрографтинга в условиях контаминированной раны, высокая стоимость предложенного коммерческого устройства.

Техническая проблема, решаемая предлагаемым изобретением, - упрощение процесса размещения микрографтов эпителиальной стороной вверх на контаминированной

патогенной микрофлорой реципиентной ране с одновременной профилактикой развития местных раневых осложнений.

Технический результат от использования предлагаемого способа заключается в снижении риска местных инфекционных осложнений при выполнении микрографтинга, снижении трудоемкости и длительности процесса переноса микрографтов на реципиентную рану с сохранением их ориентации за счет применения гелевой пластины, в которую интегрируются микрографты.

Указанный технический результат достигается тем, что в способе микрографтинга при закрытии инфицированных ран мягких тканей, предварительно выявляют микрофлору, колонизирующую реципиентную рану, подготавливают набор бактериофагов, к которым чувствительны выявленные патогены, затем микрографты переносят на рану, без изменения их ориентации эпителием вверх, при помощи пленки-заготовки для гидрогелевой пластины, наложенной на эпидермальную поверхность микрографтов, после размещения на ране, частично перешедшей в состояние геля, пленки-заготовки с интегрированными в нее микрографтами, в пленку добавляют 0,05-0,2 мл/см<sup>2</sup> раствора бактериофагов, к которым чувствительны колонизирующие рану бактерии.

Изобретение иллюстрируется следующими фигурами, на которых изображены:

Фиг. 1. Подготовка пластиковой пластины-подложки;

Фиг. 2. Микрографты, полученные после двух проходов кожного трансплантата на пластине-подложке через перфоратор;

Фиг. 3. Микрографты накрыты пленкой-заготовкой из поливинилового спирта;

Фиг. 4. Микрографты и пленка-заготовка накрыты прижимной пластиной;

Фиг. 5. Микрографты интегрированы в гель, в который частично превратилась пленка-заготовка;

Фиг. 6. Схема переноса микрографтов на реципиентную рану: нанесение на микрографты, расположенные на пластиковой пластине-подложке, пленки-заготовки, которая при перемещении в нее жидкости, содержащейся в микрографтах, частично превращается в гель, а гель обволакивает микрографты;

Фиг. 7. Схема переноса микрографтов на реципиентную рану: размещение сверху геля и микрографтов прижимной пластины, при этом насечки, имеющиеся на прижимной пластине, заполняются гелем;

Фиг. 8. Схема переноса микрографтов на реципиентную рану: обе пластины с зажатыми между ними микрографтами и гелем переворачивают на 180°, прижимная пластина с насечками оказывается внизу, а пластина-подложка с гладкой поверхностью - вверх. Верхнюю пластину сдвигают вбок, при этом она скользит беспрепятственно, а нижняя пластина своими насечками фиксирует гель с интегрированными в него микрографтами;

Фиг. 9. Схема переноса микрографтов на реципиентную рану: после удаления пластины-подложки микрографты оказываются размещенными на прижимной пластине, при этом микрографты интегрированы в гель эпителиальной поверхностью, а дермальная поверхность остается свободной;

Фиг. 10. Схема переноса микрографтов на реципиентную рану: пластину с микрографтами вновь переворачивают на 180°;

Фиг. 11. Схема переноса микрографтов на реципиентную рану: после размещения на реципиентной ране прижимную пластину удаляют, на ране остаются микрографты, ориентированные дермальной стороной вниз, эпителиальная поверхность микрографтов закрыта пленкой-заготовкой, частично превратившейся в гель;

Фиг. 12. Микрографты, интегрированные в пленку-заготовку;

Фиг. 13. Пленка-заготовка с интегрированными в нее микрографтами размещена на ране;

Фиг. 14. Добавление к пленке-заготовке раствора бактериофагов;

5 Фиг. 15. Контроль наличия бактериофагов в гелевой повязке через 4 суток. При нанесении материала из-под раневого покрытия на тест-культуру зафиксировано наличие зоны лизиса.

Фиг. 16. Результаты выполнения микрографтинга на 13-е сутки после операции: мозаичность эпителизации, признаков гнойного воспаления нет;

10 Фиг. 17. Результаты выполнения микрографтинга на 27-е сутки после операции: полное восстановление кожного покрова, поверхность эпителия в области раны, покрытой микрографтами, ровная, розового цвета. В области сетчатого трансплантата сформировался «вафельный» рубец с неровной поверхностью.

Способ осуществляют следующим образом. Предварительно методом  
15 микробиологического анализа выявляют актуальную микрофлору, колонизирующую реципиентную рану и определяют ее чувствительность к бактериофагам. Подготавливают набор бактериофагов, к которым чувствительны выявленные патогены. Подготавливают пленку-заготовку из поливинилового спирта, содержащую фосфатный  
20 буфер с pH 6,6÷7,8 в количестве  $(1\div3)\times 10^{-5}$  моль/г. Пленка-заготовка представляет собой стандартное изделие (например, раневое покрытие типа «Полипран»). Подготавливают пластину-подложку для кожного медицинского перфоратора типа Aescular, Zimmer, Numesa [21]. Для этого от подложки перфоратора, которая представляет собой пластиковую пластину размером 79×222 мм, ножницами отрезают квадрат со стороной 74 мм, для того чтобы она смогла пройти через канал перфоратора  
25 при поворачивании ее на 90° (Фиг. 1).

Расщепленный кожный трансплантат толщиной  $0,35\pm 0,05$  мм помещают на гладкую сторону пластины-подложки и пропускают через перфоратор, после чего пластину-подложку поворачивают на 90 и пропускают еще раз. В перфораторах указанного типа  
30 имеется 50 дисковых ножей с расстоянием между ними 1,5 мм. После первого прохода трансплантат разрезается на полосы шириной 1,5 мм, после второго прохода образуются микрографты - квадраты кожи со стороной 1,5 мм (Фиг. 2).

Далее, не снимая микрографты с пластины-подложки их накрывают пленкой-заготовкой из поливинилового спирта (Фиг. 3).

35 Пленку-заготовку прижимают к микрографтам используя другую пластиковую пластину - прижимную пластину, имеющую V-образные насечки на одной из сторон. При этом прижимную пластину ориентируют имеющимися на ней V-образными насечками к эпителиальной стороне микрографтов, покрытой пленкой-заготовкой (Фиг. 4).

Пленка-заготовка из поливинилового спирта впитывает в себя жидкость,  
40 содержащуюся в микрографтах, и через 3-4 минуты постепенно частично превращается в гель, который обволакивает микрографты и фиксирует их в себе (Фиг. 5,6). Когда сверху геля и микрографтов размещена прижимная пластина, то насечки, имеющиеся на прижимной пластине, заполняются гелем (Фиг. 7). При этом обеспечивается необходимая ориентация микрографтов: эпителиальной поверхностью они фиксированы  
45 в геле, дермальная остается свободной. Обе пластины с зажатыми между ними микрографтами и гелем переворачивают на 180°, прижимная пластина с насечками оказывается внизу, а пластина - подложка с гладкой поверхностью - вверх (Фиг. 8). Верхнюю пластину-подложку сдвигают вбок, при этом она скользит беспрепятственно,

а нижняя прижимная пластина своими насечками фиксирует гель с интегрированными в него микрографтами. После удаления пластины-подложки микрографты оказываются размещенными на прижимной пластине, при этом микрографты интегрированы в гель эпителиальной поверхностью, а дермальная поверхность остается свободной (Фиг. 9).

Прижимную пластину с микрографтами вновь переворачивают на 180° (Фиг. 10) и переносят на реципиентную рану, при этом ориентация всех микрографтов сохраняется эпителиальной поверхностью вверх. Прижимную пластину удаляют, а на пленке-заготовке остаются микрографты, ориентированные дермальной стороной вниз, эпителиальная поверхность микрографтов закрыта пленкой-заготовкой, частично превратившейся в гель (Фиг. 11, 12).

Пленка-заготовка с микрографтами размещена на ране (Фиг. 13). На пленку-заготовку добавляют 0,05-0,2 мл/см<sup>2</sup> раствора бактериофагов, к которым чувствительны выявленные госпитальные патогены, колонизирующие реципиентную рану. В результате чего пленка-заготовка полностью переходит в гелевую форму в виде пластины и содержит в себе депо бактериофагов (Фиг. 14), образуя гелевую повязку.

При меньшем чем 0,05 мл/см<sup>2</sup> количестве раствора бактериофагов, гель не образуется, количество большее чем 0,2 мл/см<sup>2</sup> ведет к нецелевому расходу раствора бактериофагов, поскольку степень набухания повязки от 500 до 1200%. Полученное раневое покрытие закрывают вторичной повязкой, следующую перевязку делают через 4-5 суток.

Применение микрографтов с размерами стороны эпителиальной поверхности 1÷3 мм обеспечивает достаточную стимуляцию раневого процесса биологически активными веществами, которые выделяются из микрографтов и получение регенерированной ткани высокого качества, с ровной поверхностью, без угрозы образования дермоидных кист и гипертрофированной рубцовой ткани. Предпочтительная толщина пленки-заготовки из поливинилового спирта составляет 30-75 мкм. При толщине пленки менее 30 мкм возможна ее фрагментация из-за снижения прочности во влажном состоянии, что может повлиять на удержание микрографтов в упорядоченном и ориентированном положении. При толщине более 75 мкм в результате набухания получается излишне толстая гелевая пластина, препятствующая адекватному воздухо- и влагообмену, что может негативно сказаться на качестве приживления микрографтов. Необходимый уровень степени набухания и прочности пленки достигается за счет использования поливинилового спирта со степенью гидролиза 99,4±0,4%. Пленка сохраняет уровень pH, оптимальный для бактериофагов, благодаря сорбции всех компонентов используемой лекарственной формы.

Для контроля эффективности бактериофагов, иммобилизованных в гелевой повязке, выполнили бактериологические исследования *in vivo*. Через 4 суток после формирования гелевой повязки с бактериофагами и наложения ее на рану, при нанесении материала из-под раневого покрытия на тест-культуру зафиксировано наличие зоны лизиса, что свидетельствует о жизнеспособности и сохраненной литической активности бактериофагов в составе гелевой повязки (Фиг. 15).

Приводим клинический пример использования предложенного способа.

Пациент М. 1954 г.р. (история болезни №:388279) 01.05.2021 поступил в Ожоговый центр Университетской клиники Приволжского исследовательского медицинского университета с диагнозом: «Ожог пламенем II-III степени лица, шеи, туловища, обеих верхних конечностей на площади 35% поверхности тела. Ожоговая болезнь». Сопутствующий диагноз: «ИБС: атеросклеротический кардиосклероз НК I ст.».

Status localis на момент поступления: ожоговые раны представлены гиперемией

кожного покрова, обрывками эпидермиса, отслоением эпидермиса с образованием тонкостенных пузырей со светло-соломенным содержимым, дезэпителизованными участками бордово-розового цвета. В отдельных участках формировался субдермальный коагуляционный некроз, представленный тканями серо-коричневого цвета. Болевая и тактильная чувствительности в области ожоговых ран снижены. Перифокальное воспаление не выражено. Больной получал комплексное лечение согласно национальным рекомендациям. 03.05.2021 выполнена некрофасциотомия. В период с 21.05.2021 по 24.06.2021 выполнялись этапные некрэктомии, этапная свободная кожная пластика расщепленным аутодермотрансплантатом. В процессе лечения по данным

10 микробиологического исследования раневого отделяемого выявлены следующие микроорганизмы, колонизирующие рану: *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Proteus mirabilis*; *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*. Все микроорганизмы обладали различной степенью антибиотикорезистентности, в связи с чем пациент получал антибиотики резерва (Ванкомицин, Сультасин, Меронем,

15 Амикацин, Сабвиксин, Линезолид, Бисептол). Несмотря на это, в области реципиентных ран после выполнения кожной пластики отмечались отдельные участки гнойного расплавления аутодермотрансплантата, в связи с чем у больного сформировались несколько длительно незаживающих остаточных ран. При микробиологическом исследовании из раны выделен штамм *Pseudomonas aeruginosa*, устойчивый к

20 антибиотикам резерва, чувствительный к бактериофагу. Принято решение выполнить микрографтинг в комбинации с местной фаготерапией по разработанной методике, на что получено добровольное информированное согласие пациента. Был подготовлен набор бактериофагов, к которым чувствительны выявленные патогены, затем 08.07.2021 выполнена свободная кожная пластика остаточной длительно незаживающей раны,

25 при этом рану разделили на две части, одна из которых закрыта традиционным сетчатым трансплантатом, а вторая - микрографтами. Микрографты перенесли на рану при помощи пленки-заготовки для гидрогелевой пластины, наложенной на эпидермальную поверхность микрографтов без изменения их ориентации, эпителием вверх. После размещения на ране пленки-заготовки, частично перешедшей в состояние геля, с

30 интегрированными в нее микрографтами, в пленку добавили 0,2 мл/см<sup>2</sup> раствора бактериофагов («Пиобактериофаг»), к которым чувствительны колонизирующие рану бактерии. Через 13 суток после операции при перевязке отмечено приживание как микрографтов, так и сетчатого трансплантата (Фиг. 16). В области применения микрографтов отмечалась мозаичность эпителизации, признаков гнойного воспаления

35 не было. Через 27 суток отмечено полное восстановление кожного покрова, поверхность эпителия в области раны, покрытой микрографтами, ровная, розового цвета. В области сетчатого трансплантата сформировался типичный для этого метода пластики «вафельный» рубец с неровной поверхностью (Фиг. 17). В результате применения микрографтинга удалось избежать местных инфекционных осложнений и получить

40 более качественную и с лучшими косметическими характеристиками ткань.

Таким образом, в результате применения способа микрографтинга согласно заявленному изобретению достигнуты следующие результаты:

Снижен риск местных инфекционных осложнений при выполнении микрографтинга,

45 Снижена трудоемкость и длительность процесса переноса микрографтов на реципиентную рану с сохранением их ориентации за счет применения гелевой пластины, в которую интегрируются микрографты. Способ занимает немного времени и не требует привлечения дополнительного персонала.

Дополнительно достигнуто снижение стоимости материалов, обеспечивающих

перенос микрографтов. Для выполнения способа не требуются дополнительные материальные ресурсы, кроме стандартно использующегося при выполнении кожной пластики расщепленным аутодермотрансплантатом инструмента - перфоратора и раневого гидрогелевого покрытия типа «Полипран».

Проведенный анализ патентной и научно-медицинской литературы показал, что предлагаемый способ содержит признаки, отличающие его не только от прототипа, но и от других способов выполнения микрографтинга при кожной пластике. Введение в гелевую повязку бактериофагов *ex tempore* обеспечивает защиту реципиентной области от актуальных госпитальных штаммов, колонизирующих рану. В разработанном способе активность бактериофагов в гелевой повязке сохраняется до 4-х суток, то есть на срок, достаточный для прорастания микрографтов собственными сосудами в результате процессов ангиогенеза, обеспечения питания и иммунной защиты. Эти отличия позволяют сделать вывод о соответствии заявляемого технического решения критерию изобретения "новизна" и «изобретательский уровень».

Список использованных источников и литературы

Buchanan PJ, Kung TA, Cederna PS. Evidence-based medicine: wound closure. *Plast Reconstr Surg* 2014; 134:1391-1404.

Meek CP. Successful microdermagrafting using the Meek-Wall microdermatome. *Am J Surg* 1958; 96: 557.

Tanner JC, Jr, Vandeput J, Olley JF. The mesh skin graft. *Plast Reconstr Surg* 1964; 34: 287-292.

Kamol LP, Schintler M, Parvizi D, Selig H, Lumenta DB. The real expansion rate of meshers and micrografts: things we should keep in mind. *Ann Burns Fire Disasters*. 2013 Mar 31;26(1): 26-9. PMID: 23966895; PMCID: PMC3741003.

Ottomann C, Hartmann B, Branski L, Krohn C. A tribute to Cicero Parker Meek. *Burns*. 2015; 41:1660-3.

Pertusi G, Tiberio R, Graziola F, Boggio P, Colombo E, Bozzo C. Selective release of cytokines, chemokines, and growth factors by minced skin in vitro supports the effectiveness of autologous minced micrografts technique for chronic ulcer repair. *Wound Repair Regen*. 2012 Mar-Apr; 20 (2):178-84. doi: 10.1111/j.1524-475X.2011.00762.x. Epub 2012 Feb 3. PMID: 22304391.

Purpura V, Bondioli E, Graziano A, et al. Tissue characterization after a new disaggregation method for skin micro-grafts generation. *J Vis Exp* 2016; 109: e53579. doi: 10.3791/53579.

Monti M, Graziano A, Rizzo S, et al. In vitro and in vivo differentiation of progenitor stem cells obtained after mechanical digestion of human dental pulp. *J Cell Physiol* 2017; 232: 548-555. doi: 10.1002/jcp.25452.

Hackl F, Bergmann J, Granter SR, Koyama T, Kiwanuka E, Zuhaili B, Pomahac B, Caterson EJ, Junker JP, Eriksson E. Epidermal regeneration by micrograft transplantation with immediate 100-fold expansion. *Plast Reconstr Surg*. 2012; 129:443e-452e.

Singh M, Nuutila K, Kruse C, Robson MC, Caterson E, Eriksson E. Challenging the conventional therapy: emerging skin graft techniques for wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2015; 136:524e-530e.

Hackl F, Kiwanuka E, Philip J, Gerner P, Aflaki P, Diaz-Siso JR, et al. Moist dressing coverage supports proliferation and migration of transplanted skin micrografts in full-thickness porcine wounds. *Burns*. 2014; 40:274-80.

Zheng X, Li X, Chen T, et al. Effect of the orientation of microskin on the survival rate of transplantation and improving the method. *Int J Clin Exp Pathol*. 2021; 14(2):186-195. Published 2021 Feb 1.

Zhang ML, Chang ZD, Han X, Zhu M. Microskin grafting. I. Animal experiments. *Burns Incl*

Therm Inj. 1986 Dec; 12(8):540-3. doi: 10.1016/0305-4179(86)90002-1. PMID: 3331553.

Alawi SA, Limbourg A, Strauss S, Vogt PM. Visualisierung von Bakterien auf Verbrennungswunden und Spalthauttransplantaten nach der MEEK/MESH-Technik - Eine Pilotstudie mit ersten Erfahrungen der klinischen Wundbeurteilung durch Autofluoreszenz [Imaging of bacteria in burn wounds treated with split-thicknessgrafts in MEEK/MESH technique: a pilot study with first experiences in clinical wound evaluation with autofluorescence] Handchir Mikrochir Plast Chir. 2019 Apr;51(2):130-138. German. doi: 10.1055/a-0584-7488.

Pereira SG, Moura J, Carvalho E, Empadinhas N. Microbiota of Chronic Diabetic Wounds: Ecology, Impact, and Potential for Innovative Treatment Strategies. Front Microbiol. 2017;8:1791. Published 2017 Sep 21. doi:10.3389/fmicb.2017.01791.

Ladhani HA, Yowler CJ, Claridge JA. Burn Wound Colonization, Infection, and Sepsis. Surg Infect (Larchmt). 2021 Feb; 22(1):44-48. doi: 10.1089/sur.2020.346. Epub 2020 Oct 20. PMID: 33085576.

Додова, Е.Г. Постантибиотиковая эра: бактериофаги как лечебная стратегия / Е.Г. Додова, Е.А. Горбунова, И.А. Аполихина // Медицинский вестник. - 2015. - №1. - С. 49-53.

Steele A, Stacey HJ, de Soir S, Jones JD. The Safety and Efficacy of Phage Therapy for Superficial Bacterial Infections: A Systematic Review. Antibiotics (Basel). 2020 Oct 29; 9(11): 754. doi: 10.3390/antibiotics9110754. PMID: 33138253; PMCID: PMC7692203.

Способ профилактики инфекционных процессов при свободной кожной пластике: пат. 2687108 Рос. Федерация: МПК А61L 15/36, А61К 35/76 / В.В. Бесчастнов, Т.Н. Юданова, М.Г. Рябков, А.Е. Леонтьев, И.В. Павленко, В.В. Кичин; - №2018139554; заявл. 09.11.18; опубл. 07.05.19.

Humeca. Skin transplantation technology [Электронный ресурс] URL: <http://www.eurosurgical.co.uk/wp-content/uploads/2012/01/Humeca-brochure-MEEK-18-02-2011-WEB.pdf>. (Дата обращения: 15.09.2021)

Кожный перфоратор. Описание. [Электронный ресурс] URL: <https://rusmedcompany.ru/catalog/khirurgiya/dermatoplastika/humeca-kozhnyu-perforator> (Дата обращения: 15.09.2021)

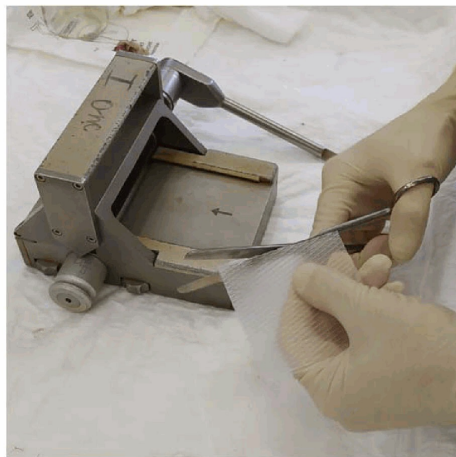
## (57) Формула изобретения

1. Способ микрографтинга при закрытии инфицированных ран мягких тканей, характеризующийся тем, что предварительно выявляют микрофлору, колонизирующую реципиентную рану, подготавливают набор бактериофагов, к которым чувствительны выявленные патогены, затем микрографты с размерами стороны эпителиальной поверхности  $1 \div 3$  мм, полученные с использованием пластины-подложки, переносят на рану, без изменения их ориентации эпителием вверх, при помощи пленки-заготовки для гидрогелевой пластины, наложенной на эпидермальную поверхность микрографтов, и прижимной пластины с насечками, размещенной сверху пленки-заготовки, после размещения на ране пленки-заготовки, с интегрированными в нее микрографтами, и удаления прижимной пластины, в пленку-заготовку добавляют  $0,05-0,2$  мл/см<sup>2</sup> раствора бактериофагов, к которым чувствительны колонизирующие рану бактерии, с полным переходом пленки-заготовки в гелевую форму.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве пленки-заготовки для гидрогелевой пластины использована пленка из поливинилового спирта со степенью гидролиза  $99,4 \pm 0,4\%$ .

3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что в качестве пленки-заготовки для гидрогелевой пластины использована пленка из поливинилового спирта толщиной 30-75 мм.

1



Фиг.1



Фиг.2

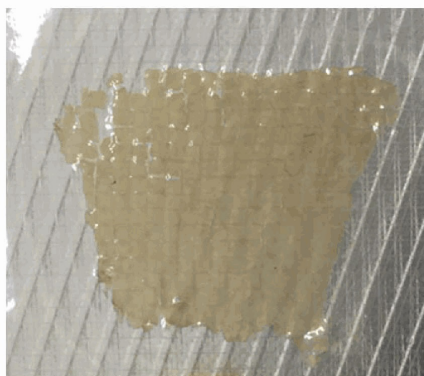
2



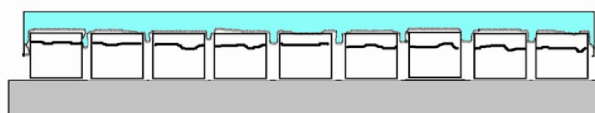
Фиг.3



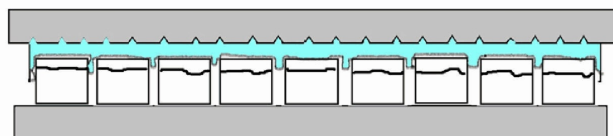
Фиг.4



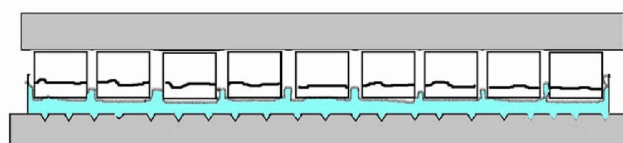
Фиг.5



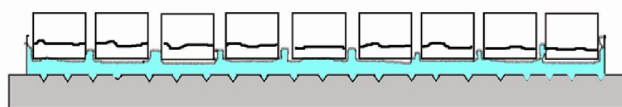
Фиг.6



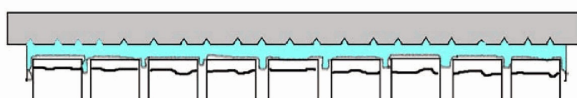
Фиг.7



Фиг.8



Фиг.9



Фиг.10



Фиг.11



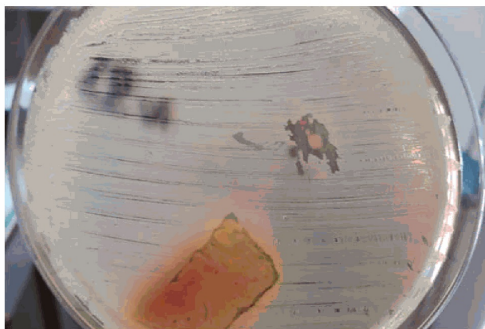
Фиг.12



Фиг.13



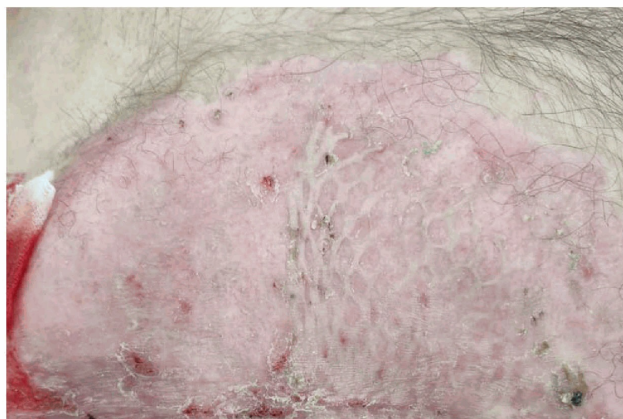
Фиг.14



Фиг.15



Фиг.16



**Фиг.17**