



DARIUSZ BAZALIŃSKI<sup>1,2</sup>, MATEUSZ SKÓRKA<sup>3</sup>, PAULINA SZYMAŃSKA<sup>4</sup>, ANNA WÓJCIK<sup>1,2</sup>, PRZEMYSŁAW LIPIŃSKI<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Szpital Specjalistyczny, Podkarpacki Ośrodek Onkologii im. B. Markiewicza w Brzozowie

<sup>2</sup>Instytut Nauk o Zdrowiu, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

<sup>3</sup>Kliniczny Szpital nr 2 im. św. Jadwigi Królowej w Rzeszowie

<sup>4</sup>Oddział Chirurgii Naczyniowej, Radomski Szpital Specjalistyczny, Radom

<sup>5</sup>Pracownia Leczenia Ran, Centrum Medyczne ARGO, Łódź

PRACA POGLĄDOWA

## DEFENSYNY LARW *LUCILIA SERICATA* I ICH WPŁYW NA PROCESY NAPRAWCZE W RANIE. PRZEGLĄD LITERATURY I OBSERWACJE WŁASNE

*Lucilia sericata* defensins and their capacity to stimulate wound regenerative processes. A review of the literature and our own observations

### STRESZCZENIE

W ostatniej dekadzie medyczne larwy *Lucilia sericata* zostały okrzyknięte „cudownym czerwiem leczniczym” ze względu na różnorodne właściwości biochemiczne stymulujące procesy naprawcze w ranie. Izolowanie z wydaliny i wydzieliny substancji chemicznych daje coraz większe możliwości rozwoju badań nad wykorzystaniem defensyn białkowych w leczeniu ran o różnej etiologii. Obecnie badania koncentrują się na izolacji, identyfikacji, rekombinacji, transgenezie i produkcji wyselekcjonowanych substancji.

Przeprowadzono przegląd i krytyczną analizę piśmiennictwa z lat 2000–2022 dotyczącego działania defensyn białkowych larw *Lucilia sericata* stosowanych w celu oczyszczenia i stymulacji procesów naprawczych w ranach trudno gojących się i przewlekłych. Korzystano z baz PubMed i Termedia.

Wydzieliny i wydaliny larw *Lucilia sericata* mają udowodnione działanie antybakteryjne, antybiofilmowe, przeciwzapalne, synergistyczne z wybranymi antybiotykami. Należy dołożyć wszelkich starań, aby zwiększać wiedzę klinicystów w tym zakresie i ich zaangażowanie we wdrażanie oraz rekomendowanie tej metody nie tylko do oczyszczania (*biodebridement*), lecz także do stymulowania procesów regeneracyjnych w ranie.

### SŁOWA KLUCZOWE

biofilm, defensyny, *Lucilia sericata*, rana przewlekła

### ABSTRACT

Over the last decade the medical larvae of *Lucilia sericata* have been claimed to be “miracle therapeutic maggots” due to their manifold biochemical properties that stimulate healing processes in a wound. Isolating chemical substances from maggot excretions and secretions gives greater possibilities to develop research into the use of defensins to stimulate healing processes in wounds of different aetiologies. Current studies focus on isolation, identification, recombination, and production of selected substances.

A critical analysis of literature was done, based on studies published in the years 2000–2022. The authors conducted a review of scientific papers using the PubMed and Termedia databases using the following keywords: defensins, *Lucilia sericata*, maggot debridement therapy.

*Lucilia sericata* excretions/secretions have proven antibacterial, antibiofilm, anti-inflammatory, and synergistic properties with specific antibiotics effectiveness. Efforts should be made to increase the level of knowledge and engagement among clinicians to implement and recommend MDT not only for biodebridement, but also to stimulate regenerative processes in a wound.

### KEY WORDS

biofilm, defensins, *Lucilia sericata*, chronic wound

### ADRES DO KORESPONDENCJI

dr hab. Dariusz Bazaliński, prof. UR, Instytut Nauk o Zdrowiu, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski, al. mjr. W. Kopisto 2, 35-310 Rzeszów, tel. +48 608 782 645, e-mail: [darek.bazalinski@wp.pl](mailto:darek.bazalinski@wp.pl)

## WSTĘP

Rany trudno gojące się, przewlekłe i będące konsekwencją wielu przewlekłych schorzeń dotyczą blisko 2% populacji i stają się coraz większym problemem medycznym, społecznym i ekonomicznym [1]. Wydłużająca się średnia długość życia społeczeństw krajów rozwiniętych, niska aktywność fizyczna i epidemia otyłości to główne czynniki predysponujące do rozwoju cukrzycy i miażdżycy. Zaburzenia ukrwienia i utlenowania tkanek prowadzą do powstawania ran przewlekłych i destrukcji tkanek, powodując ograniczenia w samoopiece, częste hospitalizacje, ryzyko amputacji i wyższą śmiertelność [2, 3]. Dynamiczny rozwój nauk medycznych i biotechnologii przyniósł pozytywne zmiany w postrzeganiu i rozwiązywaniu problemów związanych z procesem miejscowego leczenia ran, profesjonalną opieką i szeroko rozumianą rehabilitacją. Szacuje się, że ten długofalowy proces pochłania do 2–4% całkowitych wydatków na opiekę zdrowotną w Europie [4]. Rozpoznanie etiologii schorzenia powodującego destrukcję skóry daje podstawy do zaprojektowania procesu leczenia i profesjonalnej opieki nad chorym.

Przygotowanie łożyska rany jest pierwszym etapem miejscowych działań terapeutycznych. Obejmuje ono oczyszczenie tkanek, minimalizację stanu zapalnego i infekcji, zapewnienia balans wilgoci w ranie. Wdrażanie terapii wspomagających w zależności od etiologii schorzenia, takich jak prehabilitacja żywieniowa, kompresjoterapia, hiperbaria tlenowa (*hyperbaric oxygenation* – HBO), elektrostymulacja (*transcutaneous electrical nerve stimulation* – TEENS), poprawia wyniki leczenia i zwiększa aktywność chorych [5–7]. Chirurgiczne opracowanie tkanek (usunięcie tkanki martwiczej) jest obecnie uznawane za złoty standard eliminacji tkanki zdewitalizowanej i martwiczej z rany. Metoda ta ma swoje zalety, ale jej wadą jest możliwość dodatkowego uszkodzenia i wtórnej infekcji uszkodzonych mechanicznie tkanek. Dodatkowo wymaga ona udziału specjalistycznego personelu medycznego i znieczulenia [8]. *Bio-debridement*, czyli oczyszczanie z wykorzystaniem larw (*maggot debridement therapy* – MDT), jest praktyczniejszą, prostą i wysoce selektywną metodą oczyszczania i rewitalizacji (stymulacji procesów naprawczych) tkanek w ranie, która może być wykonywana bezpiecznie w warunkach domowych, ambulatoryjnych lub szpitalnych przez przeszkolony personel medyczny [9].

Wykorzystanie czerwi w medycynie nie jest zjawiskiem nowym. Opisy działania z wykorzystaniem larw pochodzą już ze starożytności, a pierwsze publikacje

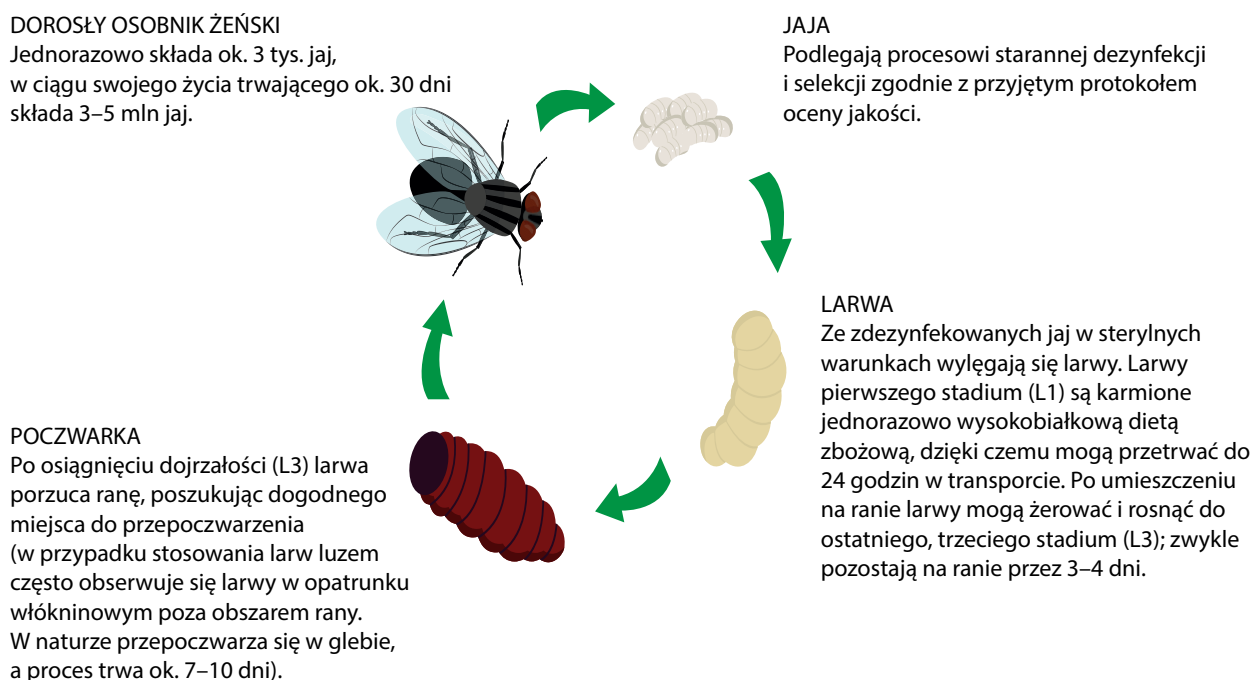
o charakterze naukowym datuje się na XVI wiek, kiedy to francuski chirurg A. Paré opisał etapy gojenia się rozległej rany czaszki z obecnością „robactwa” [10]. Kolejne szersze analizy przedstawili głównie lekarze wojskowi (D.J. Larrey, J.F. Zacharias, W. Baer), którzy opisywali szybsze i obciążone mniejszym ryzykiem powikłań gojenie się ran po zastosowaniu larw much u żołnierzy, u których doszło do kolonizacji urazów z przerwaniem ciągłości tkanek [11]. Za pioniera nowoczesnego wykorzystania larw w medycynie uważa się R.A. Shermana, który w 1990 r. otworzył sterylne laboratorium przy Veterans Administration Hospital Medical Centre na Long Beach w Kalifornii. W badaniu prospektywnym, w którym uczestniczyły osoby z odleżynami po urazie rdzenia kręgowego, udowodnił skuteczność i krótszy czas oczyszczania rany w porównaniu z metodami zachowawczymi, przy zachowaniu wszystkich zasad bezpieczeństwa i sterylności hodowli larw [12]. W 2004 r. Agencja ds. Żywności i Leków (*Food and Drug Administration* – FDA) uwzględniła larwy gatunku *Lucilia sericata* jako dostępne i rekomendowane środki w leczeniu ran przewlekłych, które muszą spełniać ściśle wymagania nadzoru farmaceutycznego i posiadać certyfikaty jakości [13]. Obecnie traktuje się terapię larwami jako efektywną i sprawdzoną metodę oczyszczania ran. W Polsce od kilku lat funkcjonują dwa laboratoria przygotowujące larwy luzem i w formie torebki (Biollab, Kędzierzyn-Koźle, Biomantis, Kraków) [6, 14]. Celem pracy jest przegląd piśmiennictwa dotyczącego działania defensyn białkowych larw *Lucilia sericata* stosowanych do oczyszczania i stymulacji procesów naprawczych w ranach trudno gojących się i przewlekłych.

## MATERIAŁ I METODY

Przeprowadzono krytyczną analizę piśmiennictwa z lat 2000–2022, korzystając z baz PubMed i Termedia, opierając się na słowach kluczach: defensyny, *Lucilia sericata*, *maggot debridement therapy*. W wyniku preselekcji wytypowano 442 prace, spośród których wybrano do opracowania koncepcji 56 publikacji. Uzyskane dane usystematyzowano i zaprezentowano w podrozdziałach dotyczących możliwości zastosowania MDT w ranach przewlekłych, bioaktywności wydzielin i wydaliny larw *Lucilia sericata* oraz potencjalnych problemów w trakcie bioterapii.

## MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA MDT W RANACH PRZEWLEKŁYCH

Miejscowa terapia z wykorzystaniem larw medycznych bazuje na trzech mechanizmach wynikających



**RYC. 1.** Cykl życia muchy zielonej *Lucilia sericata* w warunkach laboratoryjnych [56]

z bytowania czerwi w ranie: mechanicznego i enzymatycznego oczyszczenia z tkanki nekrotycznej, działania bakteriobójczego i bakteriostatycznego, a także wspomagania procesu gojenia między innymi przez kontakt fizyczny z obszarem rany [6, 15]. Tylko wybrane gatunki muchówek mogą być zastosowane w leczeniu. W przyjętych obecnie standardach terapii wykorzystywane są nekrofagi z rodziny plujkowatych, z gatunku *Lucilia sericata* (*Phaenicia sericata*), którego czerwie są wysoce selektywne, żywią się martwą tkanką i nie uszkodzają ziarniny w ranie (ryc. 1) [16].

Niedojrzałe i niezdolne do rozmnażania czerwie przez okres bytowania w ranie (3–5 dni) przechodzą trzy fazy rozwoju, żywią się bardzo aktywnie i agresywnie, przyswajając w ciągu 24 godzin ok. 25 mg martwiczego materiału z rany [17]. Czerw nie pożera tkanki w sensie dosłownym, ale wydziela i wydala enzymy trawienne (wydaliny i wydzieliny pokarmowe, arginazę). Trawienie zaczyna się bezpośrednio w łożysku rany, na zewnątrz ciała czerwia. Tkanka martwica ulega upłynnieniu i zewnątrzustrojowemu wchłonięciu [18]. Zjawisko to można łatwo zaobserwować w trakcie terapii, gdyż znacząco zwiększa się ilość brunatnego wysięku w ranie o specyficznym zapachu [19]. Przez lata uważano, że najbezpieczniejsze jest MDT w dystalnych okolicach ciała, zwłaszcza w obrębie kończyn. Obecnie pod nadzorem specjalistycznym oczyszczanie i rewitalizację można prowadzić prak-

tycznie w każdym obszarze, uwzględniając percepcję chorego i zasady bezpieczeństwa, zwłaszcza w okolicach bogato unaczynionych z penetrującą tkanką martwiczą (ryc. 2) [18]. Ogólne zalecenia do zastosowania MDT obejmują rany zakażone i martwicze o różnej etiologii u chorych, u których typowe oczyszczanie rany z wykorzystaniem chirurgicznej nekroktomii nie jest możliwe lub wskazane bądź u których przewiduje się mierne korzyści z takiego postępowania. Zmiany te obejmują głównie odleżyny z penetrującą martwicą, owrzodzenia w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej, owrzodzenia żyłne i niedokrwienne. Z każdym rokiem rozszerzają się wskazania do wykorzystania MDT i lokalizacja. Doniesienia kazuistyczne prezentują coraz powszechniejsze stosowanie czerwi w oczyszczaniu i stymulacji gojenia ran związanych z procesem nowotworowym, wynaczynieniem, oparzeniem prądem elektrycznym, powikłaniami po operacjach, np. kardiochirurgicznych [20–24].

#### **BIOAKTYWNOŚĆ WYDZIELIN I WYDALIN LARW *LUCILIA SERICATA***

Główną przyczyną opóźnionego procesu gojenia są drobnoustroje tworzące trójwymiarową kolonię zwaną biofilmem [25, 26]. Metaanaliza przeprowadzona przez Malone i wsp. potwierdza obecność biofilmu w 78,2% ran przewlekłych [27]. Biofilm określany jest jako wysoce ustrukturyzowane, trójwymiarowe skupisko drob-

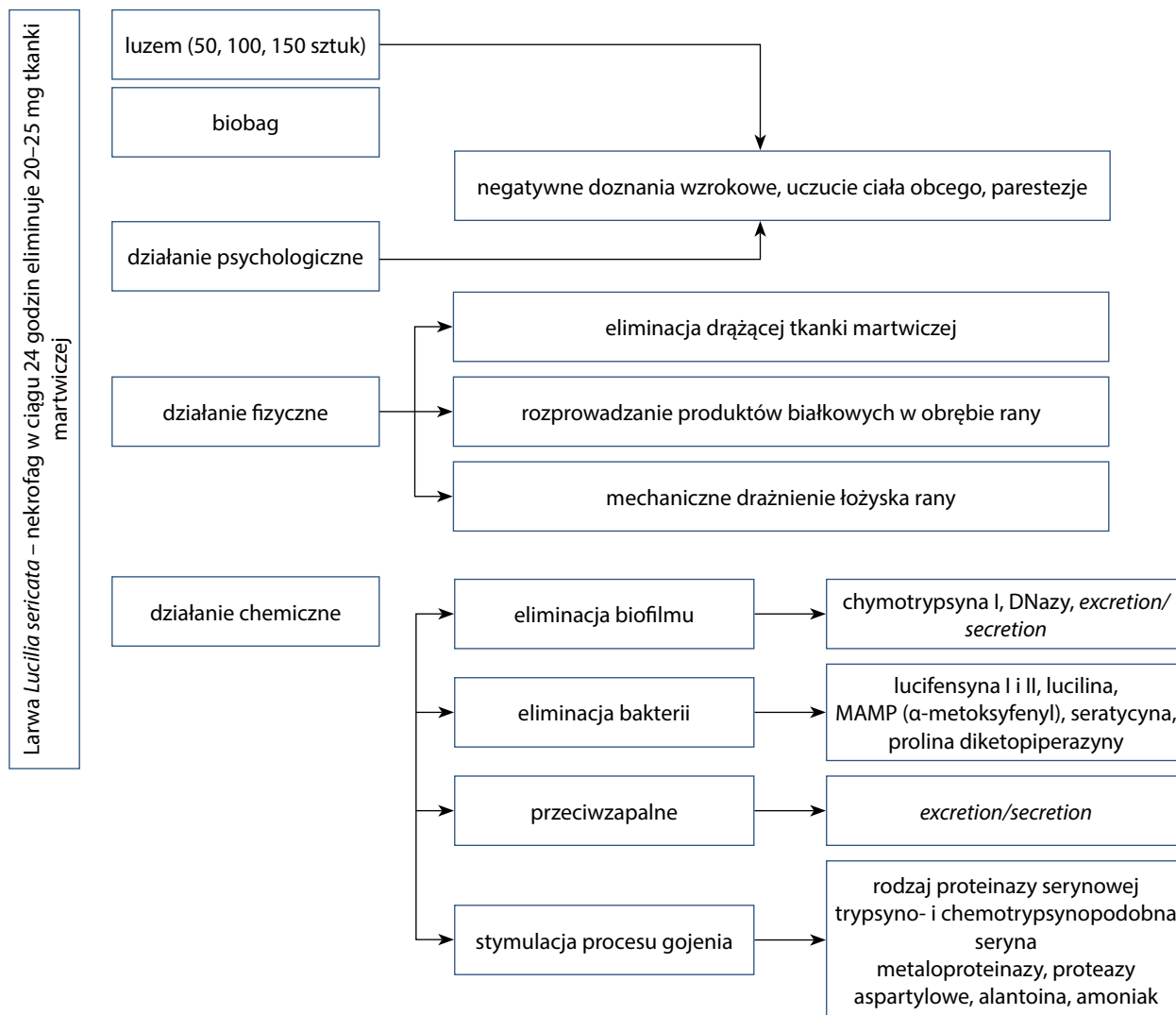


**RYC. 2.** Zastosowanie MDT w obrębie twarzy i powłok brzucha (materiał własny). **A** – Mężczyzna, 69 lat, stan po resekcji raka podstawonokomórkowego (*basal cell carcinoma* – BCC) z jednoczesnym pokryciem przeszczepem niepełnej grubości skóry, zakażenie *Proteus mirabilis*, brak cech gojenia, martwica przeszczepionej tkanki. Oczyszczenie z wykorzystaniem Biofenicia (Biomantis, Polska), a następnie preparatu na bazie świerku norweskiego (Sutriheal 5%). **B** – Kobieta, 36 lat, otyłość, stan po abdominoplastyce z martwicą pełnej grubości skóry w linii szwu i zakażeniem *Staphylococcus aureus*. Oczyszczone dwuetapowo z zastosowaniem MDT. **C** – Mężczyzna, 43 lata, stan po resekcji włókniakomięsa guzowatego skóry okolicy grzbietu z następczą radioterapią, rana zakażona *Staphylococcus aureus*, leczona 4 miesiące bez cech gojenia, hiperalgecja. Oczyszczenie w ciągu 48 godzin. Rezygnacja z terapii ze względu na objawy skórne i ból

noustrójów (bakterie lub grzyby) osadzone w samodzielnie wytworzonej, zewnątrzkomórkowej matrycy polimerowej (*extracellular polymeric substance* – EPS) [28, 29]. Powstawanie systemu biofilmu jest procesem wieloetapowym, uzależnionym od budowy i właściwości fizykochemicznych kolonizowanej powierzchni [30]. Dostępne antybiotyki mogą być nieskuteczne w leczeniu tego typu zakażeń ze względu na ich wyższe wartości minimalnego stężenia hamującego (*minimum*

*inhibitory concentration* – MIC) i minimalnego stężenia bakteriobójczego (*minimum bactericidal concentration* – MBC), które mogą indukować toksyczność *in vivo* [1]. Podstawowe miejscowe działania wynikające z koncepcji higieny rany to systematyczne oczyszczanie (*scraping*) oraz stosowanie miejscowo substancji antyseptycznych z dodatkiem surfaktantu rekomendowanych przez towarzystwa naukowe [31, 32]. Jednym z głównych problemów związanych z eliminacją biofilmu jest





**RYC. 3.** Właściwości działania MDT, model wskazujący działanie oczyszczające, antyseptyczne i stymulujące procesy naprawcze w ranie [18, 41]

rosnąca oporność na antybiotyki. Wielolekooporność bakterii (*multi-drug resistant organisms* – MDRO) stała się poważnym zagrożeniem i skłania do poszukiwania kolejnych skutecznych metod niszczenia mikroorganizmów. Wnikliwe obserwacje oraz badania Shermana i Pechtera dotyczące eliminacji flory bakteryjnej, w tym MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*), przez larwy medyczne umieszczone w ranie otworzyły nowe możliwości przed badaczami i klinicystami na całym świecie [33].

Sekrecja amoniaku (wyczuwalny specyficzny zapach wydzieliny) sprzyja miejscowemu podwyższeniu pH, powodując zmianę środowiska rany na zasadowe. Wytworzenie środowiska alkalicznego zmniejsza tempo rozwoju bakterii. Oksydaza mocznikowa występuje wyłącznie w narządzie wydalania larw – rurkach Malpighiego odpowiadających za syntezę alantoiny, której zadaniem jest usunięcie kwasu moczowego z hemo-

limfy i wydalanie go przez tylną część jelita czerwia. Alantoina sprzyja miejscowej i czasowej proliferacji leukocytów. Uważa się, że obecność jej i innych substancji, takich jak wodorowęglan amonu i mocznik, utrzymuje pH rany w zakresie alkalicznym, co jest konieczne do aktywności proteaz *Lucilia sericata* podczas oczyszczania [34]. Działanie przeciwdrobnoustrojowe czerwi zaobserwowano również w przypadku bakterii charakteryzujących się dużą opornością na antybiotyki, mających zdolność wytwarzania biofilmu [35–37]. Eliminacja tej formy jest istotna ze względu na wysoką odporność na penetrację i działanie systemu odpornościowego człowieka oraz na antybiotyki. Najbardziej skuteczną metodą eliminacji kolonii bakterii jest jej fizyczne niszczenie. Wielu ekspertów zaleca „szczotkowanie” w celu pozbycia się biofilmu z rany. Podobne działanie wykazują larwy pełzające po ranie [38–40]. Wydaliny i wydzieliny (*excretion/secretion* – ES) wytwa-

rzane i wydzielane przez larwy przyczyniają się do eliminacji bakterii i stymulują procesy naprawcze (ryc. 3) [18, 41–43]. W swoim badaniu van der Plas i wsp. potwierdzili, że aktywne składniki ES czerwi w niskim stężeniu (0,2 µg) mogą skutecznie zakłócać tworzenie się biofilmu *Staphylococcus aureus*, a w stężeniu wzrastającym do 2 µg powodować jego degradację. Rozpad struktury biofilmu obserwowano przy stężeniu 20 µg. Główny wniosek z badania jest taki, że ES czerwia i antybiotyki mogą rozkładać biofilm *Staphylococcus aureus*, a następnie eliminować bakterie [43]. Działanie antybiofilmowe i antibakteryjne jest widoczne w trakcie terapii miejscowej – odnowę i przebudowę tkanek można obserwować gołym okiem. Autorzy wskazują, że ES silnie inaktywują *Pseudomonas aeruginosa*, a nawet MRSA oraz *Streptococcus A i B* [18, 41–45].

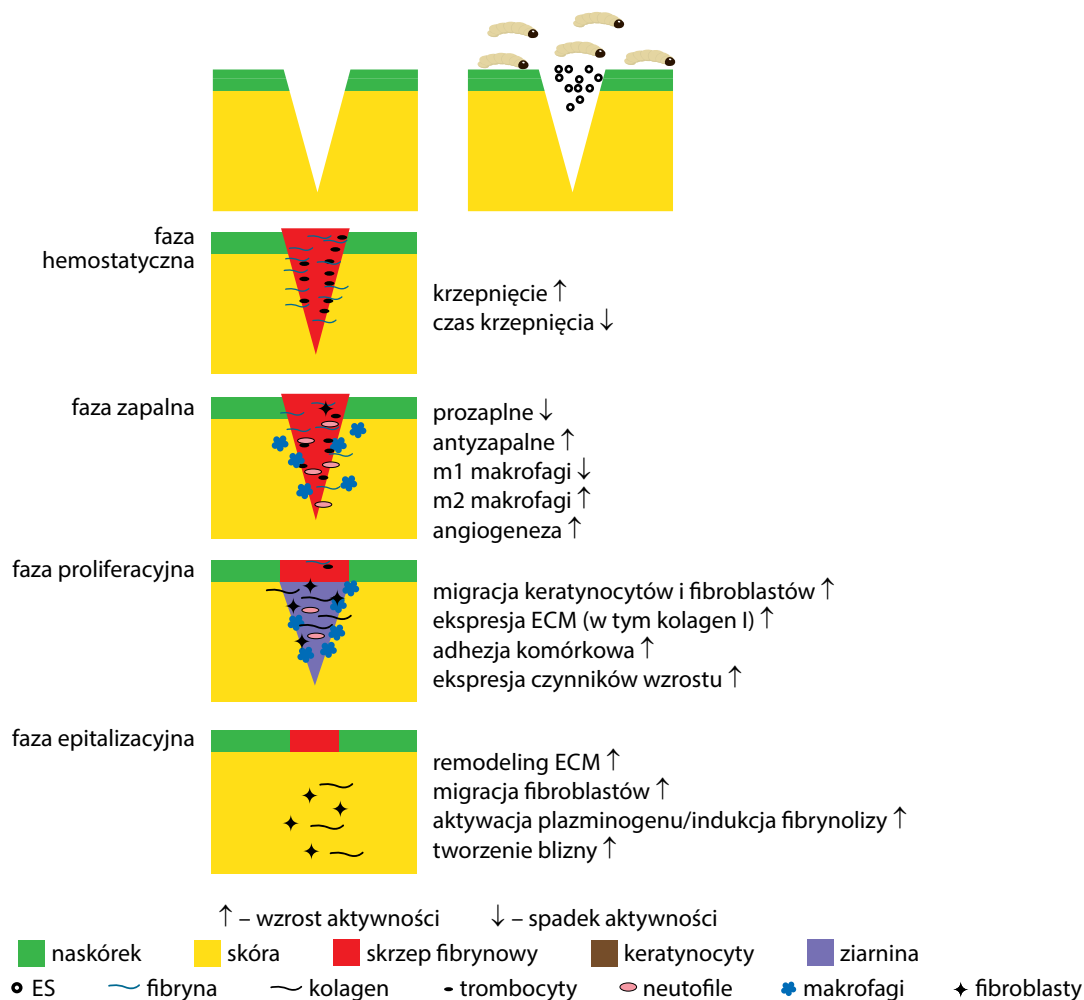
Takie czynniki, jak liczba larw w określonym obszarze, gatunek bakterii i rodzaj testu, mogą mieć wpływ na ocenę działania przeciwbakteryjnego. Aby wyniki były spójne, a siła działania porównywalna, należy wdrożyć jednolite metody oceny ilościowo-jakościowej [8]. Szczepanowski i wsp. oceniali zmiany w mikroflorze chorych leczonych z powodu owrzodzeń naczyniowych i stopy cukrzycowej. Badając różnorodność flory bakteryjnej w tych grupach chorych, zauważyli, że zagęszczanie larw na jednostkę obszaru rany zmniejszyło prawdopodobieństwo obecności gatunków *Corynebacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* wrażliwych na penicylinę i *Streptococcus coagulase-negative*, jednak zwiększyło prawdopodobieństwo wystąpienia *Proteus mirabilis* [46]. Klinicznie połączenie ES larw z dostępnym działaniem medycznym może mieć większy potencjał terapeutyczny. Van der Plas i wsp. przeprowadzili badanie oceniające efekt kombinacji ES i antybiotyków (wankomycyna, daptomycyna i klindamycyna) zastosowanych na biofilmach *Staphylococcus aureus*, sugerując, że ich połączenie może rozkładać te biofilmy, umożliwiając w ten sposób ekspozycję komórek bakteryjnych na antybiotyki. Wskazywali, że substancje białkowe zawarte w ES czerwi należały do proteaz z grupy proteaz serynowych [43]. Cazander i wsp. dokonali oceny, czy ES może wpływać na aktywność przeciwbakteryjną różnych środków przeciwdrobnoustrojowych. Wykazali zwiększenie działania antibakteryjnego gentamycyny, flukloksacyliny i ciprofloksacyliny w obecności ES wobec *Staphylococcus aureus* [45].

W ostatniej dekadzie MDT zostało okrzyknięte „cudownym czerwiem leczniczym” ze względu na

różnorodne właściwości biochemiczne stymulujące procesy naprawcze w ranie. Izolowanie z ES substancji chemicznych daje coraz szersze możliwości rozwoju badań w kierunku wykorzystania defensyn białkowych w procesie leczenia ran o różnej etiologii. Obecnie badania koncentrują się na izolacji, identyfikacji, rekombinacji, transgenezie i produkcji wyselekcjonowanych substancji.

Istotnym zdarzeniem było odkrycie lucifensyny w 2010 r. przez Cerovsky'ego i wsp. [47]. Lucifensyna to substancja o właściwościach antibakteryjnych, która nie znajduje się w przewodzie pokarmowym *Lucilia sericata*, ale w gruczołach ślinowych i ciele tłuszczowym. Udowodniono również, że larwy generują odpowiedź immunologiczną w kontakcie z zakaźnym środowiskiem, w którym przebywają. Dzieje się tak poprzez zwiększenie ekspresji lucifensyny w ciele tłuszczowym, skąd wydzielana jest do hemolimfy. Podniesiona antibakteryjna aktywność hemolimfy jest spowodowana zwiększoną ekspresją peptydu. To jeden z kluczowych czynników, który chroni larwy przed środowiskiem zakaźnym i tym samym przyczynia się do gojenia rany poprzez eliminację bakterii Gram-dodatnich. Valachova i wsp. wykazali, że ekspresja lucifensyny była zwiększona w odpowiedzi na spożycie drobnoustrojów tylko w ciele tłuszczowym. Lucifensyna była wydzielana w gruczołach ślinowych przez cały okres larwalny (trzy fazy wzrostu), w największych ilościach między 5. a 24. godziną po wykluciu i nieznacznie mniejszych w trzeciej fazie. Zwrócono uwagę na sekrecję lucifensyny w ciele tłuszczowym stymulowaną obecnością *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* [48]. Wydzieliny larw zawierają również deoksyrybonukleazę (DNaza), zdolną do degradacji zarówno DNA drobnoustrojów, jak i ludzkiego w martwiczych szczątkach. DNaza może odgrywać ważną rolę nie tylko w oczyszczaniu, lecz także w hamowaniu wzrostu drobnoustrojów i biofilmu [49]. Wydzieliny czerwi zawierają również chymotrypsynę, która wykazuje działanie antibakteryjne, rozkłada szereg składników macierzy zewnątrzkomórkowej, takich jak fibronektyna, laminina i kolagen [50].

Zhang i wsp. wyizolowali i oczyścili białko antibakteryjne (< 10 kDa) czerwi, zwane białkiem przeciwbakteryjnym (MAMP), które wykazuje działanie hamujące aktywność zarówno szczepów standardowych, jak i izolowanych klinicznie MRSA. Na podstawie skanowania mikroskopią elektronową i transmisyjną autorzy wysunęli przypuszczenie, że możliwym mechanizmem była interakcja z błoną komórkową bakterii i rozerwa-



**RYC. 4.** Model wpływu wydzielin i wydaliny larw *Lucilia sericata* na ranę w poszczególnych fazach gojenia [9]

nie powierzchni komórki, prowadzące do zwiększenia przepuszczalności membrany [51].

Badania przeprowadzone w ostatnich kilku latach wskazują szereg czynników neoangiogenicznych, w tym aktywizujących komórki śródbłonna (ryc. 4) [9, 43]. Analiza ran przed i po zastosowaniu MDT dowodzi stymulowania gojenia na wielu płaszczyznach. Interesującym elementem MDT jest szerokie działanie proteolityczne, opierające się na wydzielaniu i wydalaniu określonych enzymów, a także ich korelacja z aktywnością antybakteryjną, antybiofilmową, przeciwzapalną, synergizm z wybranymi antybiotykami, funkcjami immunomodulacyjnymi, a nawet hamującymi wzrost wybranych nowotworów [43, 52–55]. Zestawienie badań dotyczących ES larw przedstawiono w tabeli 1.

#### POTENCJALNE PROBLEMY W TRAKCIE MDT

W ciągu ostatnich kilku lat wzrosło zainteresowanie badaczy ES larw z uwagi na liczne korzyści wynikające z prostej i potencjalnie taniej terapii, jaką jest MDT.

Szacuje się, że w Europie ok. 15 tys. chorych rocznie jest kwalifikowanych do procedur miejscowego leczenia rany z wykorzystaniem MDT [56, 57]. Niestety wśród personelu medycznego nadal obserwuje się przekonanie o niskiej efektywności, eksperymentalności tej metody czy negatywnych doznaniach wzrokowych i bólowych, które powodują, że część chorych jej nie akceptuje. Larwy much stereotypowo kojarzą się współczesnemu człowiekowi z brzydotą, białym robactwem rozkładającym padlinę, cyrulikiem czy medykamentem stosującym niekonwencjonalne metody leczenia [40]. Przeszkodą w stosowaniu MDT jest powszechne uczucie obrzydzenia wobec larw. Courtenay opisał zjawisko niechęci do ich stosowania wśród pielęgniarek w Wielkiej Brytanii, związane między innymi z obawą, że larwy mogłyby wydostać się poza opatrunek [58]. Podobne przeszkody ze strony personelu pielęgniarskiego zgłaszała Sherman [59].

Czynniki osobiste po stronie pacjenta lub personelu medycznego oraz bariery systemowe mogą w pewnym

TABELA 1. Przegląd wybranych bioaktywności larw medycznych (*Lucilia sericata*)

| Bioaktywność                             | Substancja/komponent/cząsteczka  | Objekt   | Mechanizm  | Piśmiennictwo  |
|--|--|--|--|--|
| antybakteryjna                           | węgiel amonu<br>alantoina<br>lucifensyna<br>lucifensyna II<br>lucilina<br>MAMP ( $\alpha$ -metoksyfenyl)<br>seratycyna<br>kwas p-hydroksyfenylooctowy<br>kwas p-hydroksybenzoesowy<br>prolina diketopiperazyny | -<br>gatunki <i>Staphylococcus</i> ,<br><i>Streptococcus</i><br><i>Staphylococcus aureus</i><br><i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>wielolekooporność<br>bakterie Gram-ujemne<br>oporne na leczenie standardowe<br>i antybiotykami<br>szczepy <i>Staphylococcus aureus</i> ,<br><i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i><br><i>Micrococcus luteus</i> , <i>Pseudomonas</i><br><i>aeruginosa</i> | podniesienie wartości PH<br><br>tworzenie kanałów jonowych lub porów<br>przebłonowych<br><br>-<br><br>-<br><br>zwiększenie przepuszczalności błony<br><br>liza błony bakteryjnej | Cazander i wsp. (2010) [45]<br>Beasley i wsp. (2004) [34]<br>Cerovsky i wsp. (2010) [47]<br>Valachova i wsp. (2013) [48]<br>Malekian i wsp. (2019) [64]<br>Shezely i wsp. (2013) [65]<br>Tellez i wsp. (2014) [66]<br>Zhang i wsp. (2013) [51]<br>Nigam i wsp. (2010) [67]<br>Huberman i wsp. (2007) [68]<br>Harris i wsp. (2009) [69]<br>Szczepanowski i wsp.<br>(2022) [46]  |
| antibiofilmowa                           | chymotrypsyna I<br>DNazy<br><br>ES   | <i>Staphylococcus aureus</i><br><i>Staphylococcus epidermidis</i><br><i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | hamowanie formowania biofilmu za pośrednictwem<br>białek adhezyjnych<br>trawienie DNA w biofilmach   | Telford i wsp. (2010) [50]<br>Pritchard i wsp. (2015) [70]<br>Van der Plas i wsp. (2010) [43]<br>Brown i wsp. (2012) [49]<br>Van der Plas i wsp. (2008) [35]<br>Margolin i wsp. (2010) [36]<br>Baxfield i wsp. (2008) [37]<br>Sherman (2014) [18]<br>Yan i wsp. (2018) [41]<br>Sun i wsp. (2016) [42]<br>Cazander i wsp. (2009) [44]<br>Cazander i wsp. (2010) [45]<br>Gazi i wsp. (2021) [9]<br>Bazaliński i wsp. (2019) [40]<br>Jiang i wsp. (2012) [71] |
| działanie synergistyczne z antybiotykami | proteazy seryny  | gentamycyna, flukloksacylina,<br>cyprofloksacylina, wankomycyna,<br>daptomycyna, klindamycyna  | redukcja minimalnego stężenia hamującego (MIC)<br>przetłamanie biofilmu i narażenie komórek<br>bakteryjnych na działanie antybiotyku   | Van der Plas i wsp. (2010) [43]<br>Cazander i wsp. (2010) [45]<br>Cazander i wsp. (2010) [72]<br>Arora i wsp. (2011) [73]  |



TABELA 1. Cd.

| Bioaktywność  | Substancja/komponent/cząsteczka   | Obiekt   | Mechanizm   | Piśmiennictwo   |
|---|---|--|---|---|
| przeciwzapalne  | ES<br>ES<br>ES<br><br>ES  | neutrofile<br><br>monocyty<br><br>makrofagi  | redukcja produkcji ponadtlenku, mieloperoksydazy oraz CD 11b/CD18<br><br>blokowanie chemotaksji neutrofilów<br>mechanizm zależny od cyklicznego AMP (adenozynomonofosforanu)<br>hamowanie chemotaksji monocytów<br>zmniejszenie IL-12p40, TNF- $\alpha$ , MIF<br>zwiększenie IL-10<br>rozróżnienie typu prozapalnego od pronacyniowego<br>zmniejszenie MIP-1 $\beta$ , RANTES i PDGF-BB<br>zwiększenie MCP-1 i IL-8<br>przełamanie składników dopełniacza C3 i C4 | Van der Plas i wsp. (2007) [74]<br>Van der Plas i wsp. (2009) [75]<br>Van der Plas i wsp. (2009) [76]<br>Cazander i wsp. (2012) [77]<br>Tamura T i wsp. (2017) [78] |
| migracja fibroblastów/proliferaacja i przemodelowanie ECM | rodzaj termostabilnego białka<br><br>rodzaj proteiny serynowej<br><br>trypsyno- i chymotrypsynopodobna seryna metaloproteinazy proteazy aspartylowe<br><br>ES | układ dopełniacza<br><br>fibroblasty, keratynocyty<br><br>komponenty EMC                         | zwiększenie metabolizmu komórek i produkcji białek (wtórne lizosomy, organy resztkowe)<br>rozkładanie fibronektyny<br>rozpuszczanie punktów fibryny<br>trawienie komponentów ECM  | Horobin i wsp. (2005) [17]<br>Horobin i wsp. (2006) [79]<br>Gazi i wsp. (2021) [9]<br>Chambers i wsp. (2003) [80]<br>Baxfield i wsp. (2010) [81]                    |
| przeciwnowotworowe  | ω-6 PUFA<br><br>ES  | ludzkie komórki białaczkowe<br>komórki raka płuc A-549<br>wątrobiak H22                          | aktywowanie szlaku sygnału p38MAPK  | Hua i wsp. (2008) [82]<br>Zhang i wsp. (2017) [83]  |
| przeciwgrzybicze  | Lucimycyna  | <i>Ascomycota</i> , <i>Basidiomycota</i> ,<br><i>Zygomycota</i> , <i>Phytophthora parasitica</i> |   | Cetin i wsp. (2020) [84]<br>Pöppel i wsp. (2014) [85]   |

stopniu hamować wdrażanie i upowszechnianie MDT. W badaniach własnych podjęto próbę analizy gotowości do podjęcia terapii biologicznej przez pielęgniarki i pielęgniarzy uprawnionych do wykonywania procedur leczniczych u chorych z ranami. Gotowość badanych ( $N = 290$ ) ustalono na podstawie własnych narzędzi oceny postrzegania stosowania MDT: MDT 15 i jego skróconej wersji – MDT 10. Uzyskane wyniki wskazują na przeciętny poziom postrzegania metody MDT w badanej próbie. Analizowano gotowość do stosowania tej metody na podstawie takich zmiennych, jak: staż pracy, płeć, doświadczenie zawodowe, postrzeganie MDT, samoocena wiedzy, wykształcenie i doskonalenie zawodowe. Zaobserwowano pewne zależności związane z wyższą akceptacją i większą gotowością do stosowania MDT przez męski personel (35 mężczyzn), jednak nie potwierdzono istotności różnic statystycznych przy przyjętym poziomie  $p < 0,05$  [60].

Najczęściej obserwowanym niepożądanym efektem terapii z wykorzystaniem larw są nieprzyjemne doznania, takie jak świąd, parestezje i ból o różnym nasileniu. Większość chorych nie odczuwa w żaden sposób obecności larw (zazwyczaj w neuropatii cukrzycowej), niektórzy relacjonują subiektywne uczucie poruszania się w ranie, które nie wywołuje dyskomfortu, natomiast część chorych zgłasza ból o różnym nasileniu (np. chorzy z niedokrwieniem kończyn). Mumcuoglu i wsp., badając retrospektywnie grupę 435 pacjentów leczonych z powodu łącznie 723 ran, zaobserwowali, że 38% chorych zgłosiło wystąpienie albo nasilenie bólu rany w trakcie aplikacji opatrunku biochirurgicznego. U większości chorych ból został opanowany za pomocą różnych leków przeciwbólowych i jedynie w 5 przypadkach konieczne było przerwanie terapii i usunięcie opatrunku [61].

Ból podczas MDT najczęściej ma niewielkie nasilenie i zwykle występuje u pacjentów, którzy już wcześniej zgłaszali bóle związane z raną. U chorych, których dolegliwości wynikały głównie z obecności zakażenia, terapia larwalna, działając antybakteryjnie, może spowodować zmniejszenie natężenia bólu. W wyjątkowych przypadkach zastosowanie larw na ranę kikuta może wywołać bóle fantomowe amputowanej kończyny [62].

W przypadku chorych, u których należy się spodziewać wystąpienia reakcji bólowej, zalecane jest stosowanie mniejszej niż typowa liczby larw, preferowanie opatrunków w formie torebki zamiast aplikacji luźnej oraz dokładne zabezpieczenie skóry otaczającej ranę

przed podrażnieniem. Można też zastosować kilka kolejnych aplikacji trwających krócej, np. tylko jedną dobę, ponieważ większe larwy wywołują silniejszy ból. Bóle związane z zastosowaniem MDT ustępują najczęściej po zażyciu doustnych środków przeciwbólowych z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych lub słabych opioidów. W razie bezwzględnej konieczności usunięcie opatrunku biochirurgicznego skutkuje zwykle szybkim ustąpieniem bólu i poprawą stanu psychosomatycznego chorego.

Ewentualna niechęć do larw ze strony chorego jest zwykle łatwiejsza do przezwyciężenia niż sceptyczne nastawienie klinicysty. Wynika to głównie z zaufania pacjenta do lekarza lub pielęgniarki rekomendujących tę formę terapii oraz z jego determinacji do zastosowania najbardziej skutecznej metody leczenia. Podstawowe znaczenie w usunięciu obaw i oddaleniu uczucia obrzydzenia ma odpowiednio przeprowadzona rozmowa terapeutyczna z pacjentem, objaśnienie spodziewanych korzyści oraz dokładne opisanie przebiegu terapii z zaznaczeniem, że chory nie wykonuje żadnych czynności bezpośrednio przy larwach i nie musi zobaczyć nieprzyjemnego widoku. Wykorzystanie metod kwestionariuszowych związanych z akceptacją pozwala zaprojektować działania edukacyjne i przygotowanie chorego do tej formy terapii, co podnosi jej skuteczność, zmniejszając jednocześnie potencjalne obawy pacjenta.

## WNIOSKI

Wydzieliny i wydaliny larw *Lucilia sericata* mają udowodnione działanie antybakteryjne, antybiofilmowe, przeciwzapalne, synergistyczne z wybranymi antybiotykami. Należy dołożyć wszelkich starań, aby zwiększać wiedzę klinicystów w tym zakresie i ich zaangażowanie we wdrażanie oraz rekomendowanie tej metody nie tylko do oczyszczania (*biodebridement*), lecz także do stymulowania procesów regeneracyjnych w ranie.

## OŚWIADCZENIE

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

## PIŚMIENNICTWO

1. Le Goff-Pronost M, Bénédicte, M, Jean-Pierre B i wsp. Real-world clinical evaluation and costs of telemedicine for chronic wound management. *Int J Technol Assess Health Care* 2018; 34: 567-575.
2. Gieroń M, Słowik-Rylska M, Kręcisz B. Effectiveness of maggot debridement therapy in treating chronic wounds – review of current literature. *Medical Studies/Studia Medyczne* 2018; 34: 325-331.

3. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA i wsp. Wound healing: a cellular perspective. *Physiol Rev* 2019; 99: 665-706.
4. Probst S, Seppänen S, Gerber V i wsp. EWMA document: home care – wound care. *J Wound Care* 2014; 23 (Suppl. 5a): S1-S44.
5. Atkin L, Bučko Z, Conde Montero E i wsp. Implementing TIMERS: the race against hard-to-heal wounds. *J Wound Care* 2019; 28 (3 Suppl. 3): S1-S49.
6. Szewczyk M, Cwajda-Białasik J, Mościcka P i wsp. Leczenie odleżyn – zalecenia Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran. Część II. *Leczenie Ran* 2020; 17: 151-184.
7. Sibbald RG, Elliott JA, Persaud-Jaimangal R i wsp. Wound bed preparation 2021. *Ad Skin Wound Care* 2021; 34: 183-195.
8. Mudge E, Price P, Neal W i wsp. A randomized controlled trial of larval therapy for the debridement of leg ulcers: results of a multicenter, randomized, controlled, open, observer blind, parallel group study. *Wound Repair Regen* 2014; 22: 43-51.
9. Gazi U, Taylan-Ozkan A, Mumcuoglu KY. The effect of *Lucilia sericata* larval excretion/secretion (ES) products on cellular responses in wound healing. *Med Vet Entomol* 2021; 35: 257-266.
10. Raposio E, Bortolini S, Maistrello L i wsp. Larval therapy for chronic cutaneous ulcers: historical review and future perspectives. *Wounds* 2017; 29: 367-373.
11. Pechter EA, Sherman RA. Maggot therapy: the surgical metamorphosis. *Plast Reconstr Surg* 1983; 72: 567-570.
12. Sherman RA, Wyle F, Vulpe M. Maggot therapy for treating pressure ulcers in spinal cord injury patients. *J Spinal Cord Med* 1995; 18: 71-74.
13. Food and Drug Administration, 510(k) Premarket Notification, Medical Maggots, K033391. [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf7/K072438.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf7/K072438.pdf). Dostęp: 5.07.2022 r.
14. Mrozikiewicz-Rakowska B, Jawień A, Szewczyk M i wsp. Postępowanie z chorym z zespołem stopy cukrzycowej – wytyczne Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran 2021: część 2. *Leczenie Ran* 2021; 18: 131-161.
15. Nigam Y, Bexfield A, Thomas S i wsp. Maggot therapy: the science and implication for CAM part I – history and bacterial resistance. *Evid Based Complement Alternat Med* 2006; 3: 223-227.
16. Moya-López J, Costela-Ruiz V, García-Recio E i wsp. Advantages of maggot debridement therapy for chronic wounds: a bibliographic review. *Adv Skin Wound Care* 2020; 33: 515-525.
17. Horobin AJ, Shakesheff KM, Pritchard DI. Maggots and wound healing: an investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon the migration of human dermal fibroblast over a fibronectin-coated surface. *Wound Repair Regen* 2005; 13: 422-433.
18. Sherman RA. Mechanisms of maggot-induced wound healing: what do we know, and where do we go from here? *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 2014: 592419.
19. Bazaliński D, Karnas M, Wołkiewicz M i wsp. Zastosowanie larw *Lucilia sericata* w oczyszczaniu ran przewlekłych – studium trzech przypadków. *Leczenie Ran* 2018; 15: 105-111.
20. Nasoori A, Hoomand R. Maggot debridement therapy for an electrical burn injury with instructions for the use of *Lucilia sericata* larvae. *J Wound Care* 2017; 26: 734-741.
21. Lin Y, Amin M, Donnelly A i wsp. Maggot debridement therapy of a leg wound from Kaposi's sarcoma: a case report. *J Glob Oncol* 2015; 1: 92-98.
22. Bugaj M, Struzyna J, Mądry R i wsp. Zastosowanie larw *Lucilia sericata* w leczeniu oparzeń. *Chir Plast i Oparz* 2014; 2: 91-96.
23. Bazaliński D, Przybek-Mita J, Kucharzewski M i wsp. Using maggot debridement therapy in treatment of necrosis in the forearm caused by docetaxel extravasation: a case report. *Iran J Parasitol* 2021; 16: 703-710.
24. Din RS, Tsiaras WG, Mostaghimi A. Two cases of maggot debridement therapy in pyoderma gangrenosum. *JAAD Case Rep* 2018; 4: 1027-1029.
25. Maciejewska M, Bauer M, Dawgul M. Nowoczesne metody zwalczania biofilmu bakteryjnego. *Post Mikrobiol* 2016; 55: 3-11.
26. Mendoza RA, Hsieh J, Galiano RD. The impact of biofilm formation on wound healing. *Wound Healing – Current Perspect* 2019; 13: 235-250.
27. Malone M, Bjarnsholt T, McBain AJ i wsp. The prevalence of biofilms in chronic wounds: A systematic review and meta-analysis of published data. *J Wound Care* 2017; 26: 20-25.
28. Kadam S, Shai S, Shahane A i wsp. Recent advances in non-conventional antimicrobial approaches for chronic wound biofilms: have we found the 'chink in the armor'? *Biomedicines* 2019; 7: 35.
29. Bartoszewicz M, Banasiewicz T, Bielecki K i wsp. Zasady postępowania miejscowego i ogólnego w ranach/owrzodzeniach objętych procesem infekcji. *Forum Zakazań* 2019; 10: 1-30.
30. Wu H, Moser C, Wang HZ i wsp. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int J Oral Sci* 2015; 7: 1-7.
31. Mrozikiewicz-Rakowska B, Mieczkowski M, Głazewski T i wsp. Antyseptyki w leczeniu ran przewlekłych – aktualne pytania. *Leczenie Ran* 2020; 17: 29-36.
32. Kramer A, Dissemond J, Kim S i wsp. Consensus on wound antiseptics: update 2018. *Skin Pharmacol Physiol* 2018; 31: 28-58.
33. Sherman RA, Pechter EA. Maggot therapy: a review of the therapeutic applications of fly larvae in human medicine, especially for treating osteomyelitis. *Med Vet Entomol* 1988; 2: 225-230.
34. Beasley WD, Hirst G. Making a meal of MRSA – the role of biosurgery in hospital-acquired infection. *J Hosp Infect* 2004; 56: 6-9.
35. Van der Plas MJ, Jukema GN, Wai SW i wsp. Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 117-122.
36. Margolin L, Gialanella P. Assessment of the antimicrobial properties of maggots. *Int Wound J* 2010; 7: 202-204.
37. Bexfield A, Bond AE, Roberts EC i wsp. The antibacterial activity against MRSA strains and other bacteria of a < 500 Da fraction from maggot excretions/secretions of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Microbes Infect* 2008; 10: 325-333.
38. Smith F, Dryburgh N, Donaldson J i wsp. Debridement for surgical wounds. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 11: CD006214.
39. Wolcott R. Disrupting the biofilm matrix improves wound healing outcomes. *J Wound Care* 2015; 24: 366-371.
40. Bazaliński D, Kózka M, Karnas M i wsp. Effectiveness of chronic wound debridement with the use of larvae of *Lucilia sericata*. *J Clin Med* 2019; 8: 1845.
41. Yan L, Chu J, Li M i wsp. Pharmacological properties of the medical maggot: a novel therapy overview. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018; 2018: 4934890.
42. Sun X, Chen J, Zhan J i wsp. Maggot debridement therapy promotes diabetic foot wound healing by up-regulating endothelial cell activity. *J Diabetes Complications* 2016; 30: 318-322.
43. Van der Plas MJ, Dambrot C, Dogterom-Ballering CM i wsp. Combinations of maggot excretions/secretions and antibiotics are effective against *Staphylococcus aureus* biofilms and the bacteria derived therefrom. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 917-923.
44. Cazander G, Van Veen KEB, Bouwman LH i wsp. The influence of maggot excretions on pao1 biofilm formation on different biomaterials. *Clin Orthop Relat Res* 2009; 467: 536-545.
45. Cazander G, van de Veerdonk MC, Vandembroucke-Grauls CMJE i wsp. Maggot excretions inhibit biofilm formation on biomaterials. *Clin Orthop Relat Res* 2010; 468: 2789-2796.
46. Szczepanowski Z, Grabarek BO, Boroń D i wsp. Microbiological effects in patients with leg ulcers and diabetic foot treated with *Lucilia sericata* larvae. *Int Wound J* 2022; 19: 135-143.
47. Cerovsky V, Zdarek J, Fucik V i wsp. Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 455-466.
48. Valachova I, Bohova J, Palosova Z i wsp. Expression of lucifensin in *Lucilia sericata* medicinal maggots in infected environments. *Cell Tissue Res* 2013; 353: 165-171.

49. Brown A, Horobin A, Blount DG i wsp. Blow fly *Lucilia sericata* nuclease digests DNA associated with wound slough/eschar and with *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Med Vet Entomol* 2012; 26: 432-439.
50. Telford G, Brown AP, Seabra RA i wsp. Degradation of eschar from venous leg ulcers using a recombinant chymotrypsin from *Lucilia sericata*. *Br J Dermatol* 2010; 163: 523-531.
51. Zhang Z, Wang J, Zhang B i wsp. Activity of antibacterial protein from maggots against staphylococcus aureus in vitro and in vivo. *Int J Mol Med* 2013; 31: 1159-1165.
52. Nigam Y, Morgan C. Does maggot therapy promote wound healing? The clinical and cellular evidence. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; 30: 776-782.
53. Karamzadeh T, Alipour H, Shahriari-Namadi M i wsp. Molecular characterization of the netrin-1 UNC-5 receptor in *Lucilia sericata* larvae. *AIMS Genet* 2019; 6: 46-54.
54. Mediero A, Wilder T, Ramkhelawon B i wsp. Netrin-1 and its receptor *Unc5b* are novel targets for the treatment of inflammatory arthritis. *FASEB J* 2016; 30: 3835-3844.
55. Maruyama K, Takemura N, Martino MM i wsp. Netrins as prophylactic targets in skeletal diseases: a double-edged sword? *Pharmacol Res* 2017; 122: 46-52.
56. Nigam Y. The principles of maggot therapy and its role in contemporary wound care. *Nursing Times* 2021; 117: 39-44.
57. Cazander G, Pritchard DI, Nigam Y i wsp. Multiple actions of *Lucilia sericata* larvae in hard-to-heal wounds: larval secretions contain molecules that accelerate wound healing, reduce chronic inflammation and inhibit bacterial infection. *Bioessays* 2013; 35: 1083-1092.
58. Courtenay M. The use of larval therapy in wound management in the UK. *J Wound Care* 1999; 8: 177-179.
59. Sherman RA. Maggot versus conservative debridement therapy for the treatment of pressure ulcers. *Wound Repair Regen* 2002; 10: 208-214.
60. Bazaliński D, Przybek Mita J, Ścisło L i wsp. Perception and readiness to undertake maggot debridement therapy with the use of *Lucilia sericata* larvae in the group of nurses. *Int J Environ Res Public Health* 2022; 19: 2895.
61. Mumcuoglu KY, Davidson E, Avidan A i wsp. Pain related to maggot debridement therapy. *J Wound Care* 2012; 21: 400-405.
62. Lipiński P, Trzciniński R, Dzikowski Ł i wsp. Phantom pain as an adverse effect after maggot (*Lucilia sericata*) debridement therapy: a case study. *J Wound Care* 2020; 29: 303-305.
63. Bazaliński D. Skuteczność terapii biologicznej z wykorzystaniem larw *Lucilia sericata* w leczeniu ran przewlekłych u chorych w opiece długoterminowej i paliatywnej. Wyd. Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów 2019.
64. Malekian A, Esmaeeli D, Javid G, Akbarzadeh K i wsp. Efficacy of maggot therapy on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in diabetic foot ulcers: a randomized controlled trial. *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2019; 46: 25-29.
65. Shazely BE, Veverka V, Fuck V i wsp. Lucifensin, a defensin of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). *J Med Entomol* 2013; 50: 571-578.
66. Tellez GA, Castano-Osorio JC. Expression and purification of an active cecropin-like recombinant protein against multidrug resistance *Escherichia coli*. *Protein Expr Purif* 2014; 100: 48-53.
67. Nigam Y, Dudley E, Bexfield A i wsp. The physiology of wound healing by the medicinal maggot, *Lucilia sericata*. *Adv Insect Phys* 2010; 39: 37-81.
68. Huberman L, Gollop N, Mumcuoglu Y i wsp. Antibacterial substances of low molecular weight isolated from the blowfly, *Lucilia sericata*. *Med Vet Entomol* 2007; 21: 127-131.
69. Harris LG, Bexfield A, Nigam Y i wsp. Disruption of *Staphylococcus epidermidis* biofilms by medicinal maggot *Lucilia sericata* excretions/secretions. *Int J Artif Organs* 2009; 32: 555-564.
70. Pritchard DI, Brown AP. Degradation of MSCRAMM target macromolecules in VLU slough by *Lucilia sericata* chymotrypsin 1 (ISP) persists in the presence of tissue gelatinase activity. *Int Wound J* 2015; 12: 414-421.
71. Jiang KC, Sun XJ, Wang W i wsp. Excretions/secretions from bacteria-pretreated maggot are more effective against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *PLoS One* 2012; 7: e49815.
72. Cazander G, Pawiroredjo JS, Vandenbroucke-Grauls CM i wsp. Synergism between maggot excretions and antibiotics. *Wound Repair Regen* 2010; 18: 637-642.
73. Arora S, Baptista C, Lim CS. Maggot metabolites and their combinatory effects with antibiotic on *Staphylococcus aureus*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2011; 10: 6.
74. Van der Plas MJ, Van der Does AM, Baldry M i wsp. Maggot excretions/secretions inhibit multiple neutrophil proinflammatory responses. *Microbes Infect* 2007; 9: 507-514.
75. Van der Plas MJ, Baldry M, Van Dissel JT i wsp. Maggot secretions suppress pro-inflammatory responses of human monocytes through elevation of cyclic AMP. *Diabetologia* 2009; 52: 1962-1970.
76. Van der Plas MJ, Van Dissel JT, Nibbering PH. Maggot secretions skew monocyte-macrophage differentiation away from a pro-inflammatory to a pro-angiogenic type. *PLoS One* 2009; 4: e8071.
77. Cazander G, Schreurs MWJ, Renwarin L i wsp. Maggot excretions affect the human complement system. *Wound Repair Regen* 2012; 20: 879-886.
78. Tamura T, Cazander G, Rooijackers SH i wsp. Excretions/secretions from medicinal larvae (*Lucilia sericata*) inhibit complement activation by two mechanisms. *Wound Repair Regen* 2017; 25: 41-50.
79. Horobin AJ, Shakesheff KM, Pritchard DI. Promotion of human dermal fibroblast migration, matrix remodelling and modification of fibroblast morphology within a novel 3D model by *Lucilia sericata* larval secretions. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1410-1418.
80. Chambers L, Woodrow S, Brown AP i wsp. Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds. *Br J Dermatol* 2003; 148: 14-23.
81. Bexfield A, Bond AE, Morgan C i wsp. Amino acid derivatives from *Lucilia sericata* excretions/secretions may contribute to the beneficial effects of maggot therapy via increased angiogenesis. *Br J Dermatol* 2010; 162: 554-562.
82. Hua YF, Wu JL, Qian JQ. Inhibitory effect of fatty acids from specifically-cultivated *Chrysomya megacephala* larvae on tumor cells and HIV-1 integrase in vitro and their ingredient analysis. *Acta Entomologica Sinica* 2008; 51: 137-142.
83. Zhang WJ, Jiang WZ, Lan XL i wsp. Exploration of the anti-tumor effects and mechanisms of *Chrysomya megacephala* extracts in H22 hepatoma-bearing mice. *Guangxi Medical Journal* 2017; 39: 215-219.
84. Çetin S, Aksoy T. Molecular characterization of lucimycin gene of *Lucilia sericata*. *Mikrobiyol Bul* 2020; 54: 392-403.
85. Pöppel AK, Koch A, Kogel KH i wsp. A Lucimycin, an antifungal peptide from the therapeutic maggot of the common green bottle fly *Lucilia sericata*. *Biol Chem* 2014; 395: 649-656.