

# Nowe możliwości i perspektywy wykorzystania larw muchówek (Insecta: Diptera) w praktyce klinicznej

## STRESZCZENIE

Larwoterapia to metoda leczenia trudno gojących się ran, polegająca na zastosowaniu żywych larw muchówek, które poprzez zżadanie tkanki nekrotycznej prowadzą do oczyszczenia rany. Najczęściej wykorzystuje się gatunek *Lucilia sericata* (Meigen, 1826). Choć metoda jest stosowana klinicznie, budzi pewne wątpliwości wśród pacjentów i personelu medycznego. Warto je konfrontować z aktualnym stanem wiedzy na temat larwoterapii, ze szczególnym uwzględnieniem skuteczności związków chemicznych w wydzielinach i wydalinach (ang. *excretion/secretion*; ES) larw. Wobec narastania problemu antybiotykooporności, poszukuje się metod, które mogłyby wesprzeć standardową antybiotykoterapię. Dotychczas zasadnicza uwaga skupiała się na badaniu właściwości ES larw *L. sericata*, w mniejszym stopniu natomiast analizowane były wydzieliny i wydaliny innych gatunków muchówek. Pod kątem potencjalnego wykorzystania przebadano przedstawicieli rodzin plujkowatych (Calliphoridae), muchowatych (Muscidae) oraz ścierwicowatych (Sarcophagidae). Badania wskazują na potencjał ES jako środków terapeutycznych o działaniu nie tylko antybakteryjnym, ale także przeciwgrzybiczym, przeciwnowotworowym oraz przeciwwirusowym. Niższa praca skupia się na rzadziej opisywanych gatunkach i właściwościach ich ES.

## WPROWADZENIE

Korzyści płynące z obecności żywych larw muchówek, nazywanych również czerwiemi, w łóżyskach trudno gojących się ran, dostrzeżono już w starożytności [1, 2]. Wzmianki o wykorzystaniu metody, która we współczesnej terminologii określana jest jako larwoterapia, można odnaleźć w opracowaniach dotyczących Aborygenów i Majów [1, 2]. Wraz ze wzrostem świadomości na temat korzyści płynących z larwoterapii w leczeniu trudno gojących się ran, zaczęły pojawiać się liczne opracowania podsumowujące wiedzę gromadzoną przez lekarzy w tym zakresie [1, 2]. Wobec rozwoju konkurencyjnych metod medycznych, wśród których najważniejszą w kontekście leczenia ran przewlekłych od lat 40. XX wieku jest antybiotykoterapia, praktycznie zrezygnowano z wykorzystywania larwoterapii w warunkach szpitalnych. Stopniowe nasilenie się problemu antybiotykooporności od lat 80. XX wieku doprowadziło do poszukiwania alternatywnych metod terapii, w tym do ponownego wzrostu zainteresowania larwoterapią. Warto podkreślić, że efektywność larwoterapii (ang. *maggot debridement therapy*; MDT) udowodniono za pomocą licznych testów klinicznych. Jej skuteczność wynika ze współdziałania dwóch mechanizmów: chemicznego oraz fizycznego [3]. Działanie chemiczne polega na uwalnianiu do środowiska zewnętrznego enzymów wzbogaconych o związki chemiczne, odpowiednio zmieniających środowisko rany dla dalszego rozwoju larw. Działanie fizyczne polega natomiast na poruszaniu się larw w obrębie rany, co stymuluje proliferację zdrowych komórek. Efektywność tego procesu zwiększa pokrycie ich ciała niewielkimi kolcami, które delikatnie pocierają łożysko rany podczas ruchu, dzięki czemu następuje rozluźnienie struktury tkanki nekrotycznej (tkanki martwiczej). Dodatkowo, w wyniku ruchu larw dochodzi do rozprzodzenia enzymów oraz związków chemicznych po całym łożysku rany [4]. Dzięki temu stosowanie MDT nie tylko pozwala na dokładne usunięcie tkanki nekrotycznej, ale także wpływa na zmniejszenie liczby bakterii w łożysku rany, co przyczynia się do usprawnienia procesu gojenia. Dzięki tym właściwościom larwoterapia może stanowić alternatywę wobec standardowo używanych metod oczyszczania ran z tkanki martwiczej [3]. Najczęściej stosowanym w MDT gatunkiem jest muchówka z rodziny plujkowatych (Calliphoridae) *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) [4], jednak w praktyce - chociaż rzadziej - wykorzystywane są także larwy gatunków innych niż plujkowate, np. muchowatych (Muscidae) czy ścierwicowatych (Sarcophagidae).

Cechą wspólną larw wykorzystywanych w MDT jest nekrofagia, a więc żerowanie na tkance nekrotycznej. Wszystkie plujki odżywiają się poprzez trawienie zewnętrzne, tj. wydzielanie do środowiska rany mieszanki enzymów oraz do-

## lic. Aleksandra Wyszyńska

Zakład Taksonomii i Ekologii Zwierząt, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

<https://doi.org/10.18388/k2p7j927>

✉ Autor korespondencyjny:  
alewys6@st.amu.edu.pl

**Słowa kluczowe:** *Lucilia sericata*, Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae, MDT, rany przewlekłe

**Wykaz skrótów:** AMP - peptydy przeciwdrobnoustrojowe (ang. *Antimicrobial Peptides*); ES - wydzieliny i wydaliny (ang. *excretion/secretion*); FLIP7 - peptydy odpornościowe larw much (ang. *Fly Larvae Immune Peptides*); HSP90AB1 - białko szoku cieplnego 90 alfa, klasa B, członek 1 (ang. *heat shock protein 90 alpha family class B member 1*); MAF-1 - peptyd przeciwgrzybiczy muchy domowej (ang. *Musca domestica antifungal peptide*); MDT - terapia larwalna oczyszczania ran (ang. *Maggot debridement therapy*); WHO - Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*).

### Artykuł opublikowany w ramach

Nagrody ufundowanej przez Postępy Biochemii za najlepszą prezentację ustną podczas VII Ogólnopolskiej Konferencji „Biotechnologia niejedno ma imię”

Laureat: lic. Aleksandra Wyszyńska

Tytuł prezentacji: Lekarstwo na cukrzycę i dowód w sprawie - czyli zastosowanie Muchówki *Lucilia sericata* w medycynie i praktyce sądowej.

datkowych związków chemicznych, które przyczyniają się do modyfikowania środowiska rany w taki sposób, aby stało się odpowiednie dla larw, a następnie pobierają pokarm w postaci półpłynnej [5]. W podobny sposób odżywiają się muchówki z rodzin Sarcophagidae oraz Muscidae [6]. Te enzymy i inne wydzielane do środowiska zewnętrznego przez larwy substancje stały się przedmiotem badań, których celem było zbadanie ich właściwości. Rozwój technik laboratoryjnych oraz obecne zainteresowanie potencjałem MDT umożliwiły identyfikację i poznanie związków chemicznych znajdujących się w wydzielinach i wydalinach (ES, ang. *excretion/secretion*) larw *L. sericata* oraz szerokiego spektrum ich działania [3]. W ostatnich latach do opisanych wcześniej właściwości antybakteryjnych, rozbijających strukturę biofilmu, zmniejszających stan zapalny oraz stymulujących procesy gojenia rany [3], dołączono również działania przeciwgrzybicze, a nawet przeciwnowotworowe [7-10]. Podobne badania nad ES wykonywane są dla kolejnych gatunków muchówek.

Wykonano przegląd literatury dotyczącej gatunków potencjalnie nadających się do wykorzystania w larwoterapii, a także właściwości leczniczych związków chemicznych w ES muchówek. Szczegółowa analiza danych literaturowych stanowiła podstawę oceny faktycznej przydatności gatunków innych niż *L. sericata* w MDT lub izolowanych z nich związków chemicznych w warunkach klinicznych.

## METODOLOGIA PRZEGLĄDU LITERATURY

Do przygotowania niniejszego przeglądu literatury wykorzystano bazę Scopus oraz Web of Science. Zarówno w przypadku analizowania związków chemicznych w ES muchówek, jak i w przypadku podejmowania oceny przydatności poszczególnych gatunków muchówek w kontekście larwoterapii wybrano zakres czasowy od 1980 do 2026 roku. Przyjęcie tak szerokiego zakresu było konieczne do stworzenia syntetycznego opisu stanu wiedzy – dla niektórych gatunków muchówek, jeśli okazywały się nieskuteczne w oczyszczaniu ran, dostępne są jedynie pojedyncze opisy niepowtarzanych później prób klinicznych. Podobnie wyglądała kwestia dostępności literatury dla niektórych izolowanych z wydzielin i wydaliny związków chemicznych – opisy niektórych z nich wykonano już w latach 80. XX wieku. Na potrzeby stworzenia opisu związków chemicznych w ES, wykorzystywano wyszukiwanie, zawierające dwa słowa kluczowe – pierwsze stanowiło nazwę jednej z rodzin (np. „Calliphoridae”), a drugie wybrany aspekt działania związków chemicznych (np. „antifungal”). Celem wyszukania literatury dotyczącej gatunków potencjalnie użytecznych w larwoterapii, innych niż *L. sericata*, stosowano podobne kryteria wyszukiwania, przy jako drugie słowo kluczowe wybrano „therapy”. Dokonano również przeglądu list referencyjnych wyselekcjonowanych w ten sposób artykułów dla dodatkowego poszerzenia zakresu literaturowego. Analizowano zarówno artykuły przeglądowe, jak i badawcze, przede wszystkim w języku angielskim, ale pojawiły się również prace w języku polskim oraz hiszpańskim.

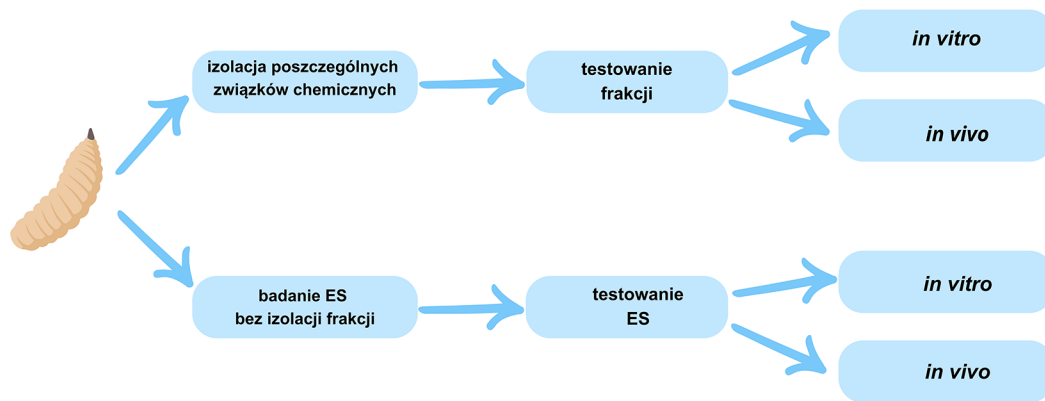
## ZWIĄZKI CHEMICZNE W WYDZIELINACH I WYDALINACH LARW

### STAN WIEDZY NA TEMAT WYDZIELIN I WYDALIN *Lucilia sericata*

Typową cechą ran przewlekłych jest obecność w ich łożyskach tkanki nekrotycznej, która może stanowić pokarm dla larw *L. sericata*. W efekcie tkanka nekrotyczna zostaje usunięta z łożyska rany, a sam proces określa się z języka angielskiego mianem *debridement* [3, 11]. W pewnych warunkach *L. sericata* może wywoływać schorzenie określane muszycą, w przebiegu której larwy odżywiają się zdrową tkanką wywołując szereg niepożądanych objawów [2]. Zaobserwowano jednak, że podczas aplikacji czerwi na już istniejącą trudno gojącą się ranę takie zjawisko nie występuje, a larwy odżywiają się wyłącznie tkanką nekrotyczną. Dokładny mechanizm takiego zjawiska nie został jak do tej pory opisany [2]. Źródła podają, że w przeciągu 24 godzin, jedna larwa jest w stanie usunąć aż 25 mg tkanki nekrotycznej [4]. Klasyfikacji dotychczas zidentyfikowanych w ES larw *L. sericata* związków chemicznych dokonał Bazaliński i in. (2022) [3].

### DZIAŁANIE PRZECIWGRZYBICZE

W środowisku naturalnym larwy *L. sericata* biorą udział w procesie dekompozycji zwłok zwierząt. Konkurują one o pokarm z innymi organizmami rozkładającymi materię organiczną takimi jak grzyby. Celem uzyskania przewagi, larwy wydzielają do środowiska zewnętrznego nie tylko substancje o charakterze przeciwbakteryjnym, ale także przeciwgrzybiczym. Ta właściwość może okazać się użyteczna w warunkach klinicznych do leczenia wywołanych przez *Candida albicans* inwazyjnych kandydoz lub kandydoz uogólnionych, na które rocznie zapada około 1,5 mln osób [12]. Odsetek śmiertelności pierwszego z wymienionych schorzeń WHO (ang. *World Health Organisation*) szacuje na poziomie 20-50%. Obydwa są natomiast szczególnie niebezpieczne w warunkach szpitalnych dla pacjentów przewlekłe chorych lub z osłabioną odpornością [13]. Ponadto, *C. albicans* stanowi aż 50% zidentyfikowanych gatunków obecnych w ranach przewlekłych [14], dlatego działanie przeciwgrzybicze wielu izolowanych z muchówek substancji testowano między innymi na tym gatunku. Do grupy grzybów krytycznie niebezpiecznych WHO zalicza również gatunek grzyba pleśniowego *Aspergillus fumigatus*, wobec szczepów którego również testowano skuteczność wielu izolowanych z larw muchówek związków chemicznych. W trakcie badań nad aktywnością przeciwgrzybiczą wydzielin larw *L. sericata* w gruczołach ślinowych zidentyfikowano peptyd, który nazwano lucimycyną. Jej aktywność przeciwgrzybiczą sprawdzono zarówno w odniesieniu do typowych grzybiczych pasożytów roślin uprawnych, jak i tych wywołujących schorzenia u ludzi. Testowane białko, wbrew przypuszczeniom autorów, okazało się nieskuteczne wobec większości patogenów roślinnych, potwierdzono jednak jego przeciwgrzybiczą skuteczność wobec *C. albicans*, co może mieć szczególne znaczenie dla wykorzystania lucimycyny w warunkach klinicznych [7].



**Rycina 1.** Możliwe sposoby postępowania w przypadku badań skuteczności poszczególnych związków chemicznych wydzielanych przez larwy muchówek w kontekście potencjalnego wykorzystania w procesie leczenia ran.

Badania nad ES *L. sericata* z podziałem na frakcje wagowe wskazały na największą aktywność przeciwgrzybiczą (ponownie między innymi wobec *C. albicans*) w najniższej frakcji wagowej, poniżej 0,5 kDa. Chociaż nie zidentyfikowano w tym wypadku konkretnych peptydów, odkrycie to wyznacza ciekawy obszar badawczy ze względu na fakt, że opisana wcześniej lucimycyna z masą 8,8 kDa plasuje się w innej kategorii wagowej. W ES muszą zatem istnieć pewne peptydy o jeszcze wyższej skuteczności przeciwgrzybiczej niż lucimycyna [8].

Przeciwgrzybiczą aktywność stwierdzono również u larw pospolitego gatunku - muchy domowej (*Musca domestica* (Linnaeus, 1758)), z hemolimfy których wyizolowano peptyd MAF-1 (ang. *Musca domestica* antifungal peptide). W prowadzonych hodowlach peptyd MAF-1 wpływał wyraźnie negatywnie na wzrost *C. albicans* [15]. Larwy *M. domestica* bywają aplikowane w larwoterapii [16], więc tego typu właściwości larw mogłyby okazać się przydatne. Jednak należy pamiętać, że dotychczas ten peptyd zidentyfikowano jedynie w hemolimfie, nie można mieć zatem całkowitej pewności, że zostaną zidentyfikowane także w ES. Być może jednak peptyd MAF-1 oraz pozostałe peptydy mogłyby okazać się użyteczne w formie leku.

Możliwe sposoby postępowania w przypadku badań skuteczności poszczególnych związków chemicznych wydzielanych przez larwy muchówek w kontekście potencjalnego wykorzystania w procesie leczenia ran przedstawia Rycina 1.

## DZIAŁANIE ANTYNOWOTWOROWE

Najbardziej zaskakujące wydaje się odkrycie pewnych właściwości antynowotworowych wydzielin i wydaliny *L. sericata*. Jeden z zespołów badawczych dowiódł, że specjalnie przygotowany proszek z larw był w stanie skutecznie powstrzymać migrację komórek nowotworowych oraz wzrost guza poprzez hamowanie nadekspresji czynnika nowotworowego HSP90AB1 (ang. *heat shock protein 90 alpha family class B member 1*) w przebiegu raka jajnika. Nadmierna ekspresja HSP90AB1 promuje angiogenezę, dzięki czemu guz może być stale zaopatrywany w tlen i substancje odżywcze,

przez co bardziej prawdopodobne stają się przerzuty i różnicowanie komórek nowotworowych. Targetowanie HSP90AB1 uważa się za potencjalny kierunek rozwoju terapii przeciwnowotworowych [9]. Odkrycia dokonano na ten moment jedynie w hodowlach komórkowych, ale kierunek badań wydaje się obiecujący. Szczególnie istotna może okazać się perspektywa znacznego obniżenia kosztów leczenia poprzez wykorzystanie larw, co w przypadku pacjentów

onkologicznych ma wyjątkowo duże znaczenie. Za jedną z głównych zalet stosowania muchówek w praktyce klinicznej, uważa się niski koszt warunkowany między innymi niskimi wymaganiami hodowlanymi *L. sericata*. Charakter schorzeń onkologicznych zazwyczaj nie pozwala na bezpośrednią aplikację larw *L. sericata* jednak wiedzę na temat sposobów prowadzenia hodowli można z powodzeniem wykorzystać na potrzeby pozyskiwania substancji czynnych o działaniu przeciwnowotworowym.

W najnowszych badaniach z ekstraktu z larw wyizolowano tylko polisacharydy o działaniu przeciwnowotworowym w formie proszku, a skuteczność ich działania przetestowano w modelu mysim oraz komórkowym [10]. Skuteczność działania tego rodzaju terapii oparta była przede wszystkim na hamowaniu ekspresji GPX4 i jednoczesnym promowaniu ekspresji HMOX1. Ścieżka HMOX1/GPX4 reguluje równowagę oksydacyjną komórek. Poprzez indukowanie bezpośrednich zmian na poziomie równowagi ekspresji obydwóch genów, polisacharydy mogą zmieniać wrażliwość komórek na stres oksydacyjny. Gen *HMOX1* koduje oksygenazę-1, która katalizuje reakcję rozpadu hemu do biliwerdyny, tlenku węgla i żelaza, co może indukować ferroptozę, czyli jednego z rodzajów indukowanej śmierci komórkowej [10].

W obydwu przypadkach stwierdzono ich skuteczność w spowolnieniu rozwoju nowotworu. W hodowlach linii komórkowych raka jelita grubego dochodziło do znacznego spowolnienia tempa proliferacji, a w modelach mysich, do których wprowadzono komórki tych samych linii, po zastosowaniu polisacharydów, dochodziło do spadku tempa rozwoju guza [10].

Rzadziej opisywane właściwości ES larw muchówek zebrano w Tabeli 1.

## POZOSTAŁE GATUNKI UŻYTECZNE W LARWOTERAPII

### CALLIPHORIDAE (PLUJKI)

Znacznie rzadziej opisywana jest w literaturze możliwość zastosowania w larwoterapii innych gatunków plujek niż *L. sericata*, nie oznacza to jednak, że wykonane do tej

Tabela 1. Rzadziej opisywane właściwości ES larw muchówek.

Charakter działania	Badany związek	Gatunek izolacji	Stwierdzona aktywność	Ref.
Działanie przeciwgrzybicze	Lucimycyna	<i>Lucilia sericata</i>	Skuteczna przeciwko <i>Candida albicans</i>	7
	Frakcja wagowa ES poniżej 0,5 kDa	<i>Lucilia sericata</i>	Skuteczne przeciwko <i>Candida albicans</i>	8
	MAF-1 (ang. <i>Musca domestica</i> antifungal peptide)	<i>Musca domestica</i>	Skuteczny przeciwko <i>Candida albicans</i>	15
Działanie antynowotworowe	Ekstrakt z całych larw bez identyfikacji frakcji	<i>Lucilia sericata</i>	Hamowanie nadekspresji czynnika nowotworowego HSP90AB1	9
	Polisacharydy izolowane z ekstraktu z całych larw	<i>Lucilia sericata</i>	Spowolnienie tempa proliferacji w hodowli komórek raka jelita grubego	10
Działanie przeciwwirusowe	Alloferyny	<i>Calliphora vicina</i>	Stymulowanie układu odpornościowego gospodarza	18
	ES bez identyfikacji frakcji	<i>Lucilia cuprina</i>	Skuteczność przeciwko wirusowi gorączki Doliny Rift (RFT) oraz Coxsackie B	24

pory badania nad możliwością wykorzystania innych gatunków muchówek nie przyniosły obiecujących efektów.

W warunkach laboratoryjnych przeprowadzono próby izolacji ES z licznych gatunków zaliczanych do rodziny Calliphoridae, takich jak: *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), *Chrysomya rufifacies* (Macquart, 1844), *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830), czy *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) [17-25]. W przypadku *Phormia regina* (Meigen, 1826) oraz *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830) zdecydowano się na bezpośrednie testowanie aplikacyjne [26, 27].

W warunkach *in vitro* przetestowano zarówno antybakteryjną (z wykorzystaniem szczepów *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* oraz *Klebsiella pneumoniae*), jak i przeciwgrzybiczą aktywność ES *Calliphora vicina* przeciwko szczepom *C. albicans* bez izolacji poszczególnych frakcji. Badanie nie potwierdziło skuteczności jedynie dla szczepów *S. aureus* [17]. Można uznać to za dość poważny problem w kontekście leczenia ran, mając na uwadze fakt, że są to bakterie najczęściej odpowiedzialne za tworzenie biofilmu (czyli struktury utworzonej przez mikroorganizmy obecne w środowisku rany, otoczone macierzą zewnątrzkomórkową składającą się z substancji polimerowych). Stanowi on barierę utrudniającą bezpośrednie działanie substancji antybiotykowych w środowisku rany [28]. Autorzy artykułu podkreślają znaczenie wykonanych badań w kontekście możliwości izolacji substancji i ich późniejszego stosowania w formie leku, nie wspominają natomiast o możliwości wykorzystania larw *C. vicina* w standardowej larwoterapii [17]. W hemolimfie larw *C. vicina* odkryto także alloferyny o znanym działaniu przeciwwirusowym oraz przeciwnowotworowym, jak również białka o aktywności antybakteryjnej (ang. *Antimicrobial Peptides*; AMP), które nazwano FLIP7 (ang. *Fly Larvae Immune Peptides*). Co szczególnie istotne, FLIP7 okazują się nie tylko konkurencyjne w porównaniu do antybiotyków pod względem skuteczności wobec szczepów *K. pneumoniae*, ale – w przeciwieństwie do nich – ich działanie nie słabnie wraz z wydłużeniem czasu stosowania, tj. u badanych mikroor-

ganizmów nie dochodzi do wykształcenia mechanizmów oporności [18]. Mniej obiecująco przedstawiają się natomiast próby kliniczne związane z aplikacją żywych larw. Jedyne próby zostały przeprowadzone w latach osiemdziesiątych XX wieku, przynosząc niejednoznaczne wyniki [29].

Wydzieliny i wydaliny *Ch. albiceps* testowano pod kątem właściwości antybakteryjnych, przeciwutleniających, przyspieszających gojenie oraz cytotoksycznych. Z wydzielin i wydaliny wyizolowano 17 związków bioaktywnych (Tabela 2) o szerokim spektrum działania. Oprócz identyfikacji frakcji, ES przetestowano pod kątem aktywności antybakteryjnej, antyoksydacyjnej, cytotoksyczności, a także sprawdzono wpływ wydzielin i wydaliny na proces gojenia ran w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich komórek skóry. Uzyskano wynik pozytywny dla wszystkich badanych cech, z wyjątkiem cytotoksyczności, co pozwala wnioskować, że ekstrakt jest bezpieczny do użytku [19]. Nie istnieją dane literaturowe na temat możliwości wykorzystania larw *Ch. albiceps* do bezpośredniej aplikacji do łożyska rany podczas przebiegu larwoterapii.

W przypadku gatunku *Ch. megacephala* już jedna z pierwszych prób aplikacji żywych larw przyniosła obiecujące efekty [20]. Pinheiro i in. (2015) opisali przypadek pacjenta, u którego aplikacja larw w leczeniu stopy cukrzycowej doprowadziła do znacznego zmniejszenia rozległości rany. W przeprowadzonych później eksperymentach w warunkach *in vitro* udało się w sposób jednoznaczny potwierdzić skuteczność ES larw *Ch. megacephala* wobec szczepów *S. aureus*, *E. coli* i zdecydowanie mniejszą skuteczność wobec *Serratia marcescens*. Dodatkowo zaobserwowano wyjątkową stabilność i zachowanie aktywności badanego ekstraktu wobec czynników takich jak podgrzewanie, zamrażanie, czy trawienie za pomocą trypsyny [21]. Przeprowadzona na modelu mysim analiza porównawcza efektywności MDT wobec tradycyjnej antybiotykoterapii w leczeniu ran zakażonych szczepem *S. aureus* dodatkowo potwierdziła skuteczność terapii z wykorzystaniem *Ch. megacephala* [22]. Aktywność antybakteryjną ES przeciwko szczepom *S. aureus* potwier-

dono także u gatunku *Ch. rufifacies* w warunkach laboratoryjnych [23].

*Lucilia cuprina* jest, obok *L. sericata*, gatunkiem najczęściej wymienianym w kontekście larwoterapii, co wynika z ich bliskiego ewolucyjnego pokrewieństwa, a tym samym podobieństwa właściwości ES [30]. Istnieją liczne badania dotyczące właściwości ES, a także przykłady efektywnej aplikacji żywych larw *L. cuprina* jednak warto podkreślić, że w wielu przypadkach powielają one wyniki uzyskiwane już wcześniej u *L. sericata*. Przykładowo, wyizolowana z *L. cuprina* lucifensyna o znanych właściwościach antybakteryjnych (określona mianem lucifensyny II) różni się od lucifensyny wyizolowanej z larw *L. sericata* tylko jednym aminokwasem na pozycji 11 w łańcuchu - zamiast izoleucyny występuje walina [31]. Dokonano również szczegółowej ewaluacji i analizy porównawczej efektywności żywych larw *L. cuprina* względem tradycyjnych chirurgicznych form oczyszczania ran aplikacji w leczeniu stopy cukrzycowej i stwierdzono porównywalną efektywność względem

tej drugiej [32]. Nową perspektywę zapewniają badania mające na celu kwantyfikację aktywności ES, zazwyczaj nieopisywanej, czyli przeciwwirusowej. W warunkach *in vitro* wykazano znaczną skuteczność ES przeciwko wirusowi gorączki Doliny Rift (RFT) oraz Coxsackie B [24]. Wyrażna dominacja bakterii i ich bakteriofagów, a więc liczebna przewaga względem wirusów ludzkich w łóżyskach ran przewlekłych [33], nie wyklucza możliwości terapeutycznego wykorzystania larw *L. cuprina* w leczeniu schorzeń o podłożu wirusowym.

Testy w warunkach *in vitro*, jak i próby aplikacji żywych larw przeprowadzono także dla gatunku *L. eximia*, czyli plujki typowej dla rejonów Ameryki Środkowej i Centralnej. Potwierdzono skuteczność jej ES oraz hemolimfy wobec szczepów *E. coli*, *Bacillus subtilis* oraz *S. aureus* [34], co wiąże się z obecnością w jej organizmie luciliny. Dodatkowo, przetestowano aktywność cytotoksyczną oraz hemolityczną wobec komórek ludzkich syntetycznego białka będącego analogiem tego obecnego w ES larw *L. eximia*, uzyskując

**Tabela 2.** Związki chemiczne, wraz ze sposobem działania, izolowane z gatunków zaliczanych do rodziny plujkowatych (Calliphoridae).

Gatunek	Opisane związki chemiczne	Sposób działania związków chemicznych	Aplikacja	Ref.
<i>Calliphora vicina</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alloferony</li> <li>• FLIP7</li> </ul>	przeciwwirusowe, antynowotworowe, antybakteryjne	wykonano próby z dwoma pacjentami, w 1986 roku z czego jedna tylko jeden przypadek zakończył się sukcesem	17, 18, 19
<i>Chrysomya albiceps</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-Piperydon</li> <li>• Kwas benzenopropanowy</li> <li>• Kwas palmitooleinowy</li> <li>• Kwas heksadekanowy</li> <li>• Kwas linolowy</li> <li>• Oleinian etylu</li> <li>• Kwas cis-wakcenyowy</li> <li>• 1,25-Dihydroksywitamina D3, pochodna TMS</li> <li>• Cholesterol (3'α OH)</li> <li>• Kwas 5, 8, 11, 14-eikozatetranowy, ester metylowy</li> <li>• Kwas heksadienowy, ester metylowy</li> <li>• 9-Oktadecenamid</li> <li>• Kwas oleinowy</li> <li>• 1-Heptatrikontanol</li> <li>• Ester etylowy kwasu linolowego</li> <li>• Izo-allocholan etylu</li> <li>• Trimetylosililowa pochodna kwasu palmitynowego</li> </ul>	antybakteryjne, przeciwutleniające, przeciwmalaryczne, przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe, cytotoksyczne, wspomagające proces gojenia	brak danych	19
<i>Chrysomya megacephala</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ES bez identyfikacji frakcji</li> </ul>	antybakteryjne	wykonano efektywnie u pacjentki ze stopą cukrzycową	20, 21, 22
<i>Chrysomya rufifacies</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ES bez identyfikacji frakcji</li> </ul>	antybakteryjne	brak danych	23
<i>Lucilia cuprina</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• większość zidentyfikowanych u <i>L. sericata</i></li> </ul>	podobne do <i>L. sericata</i> oraz przeciwwirusowe	brak danych	24, 30, 31, 32, 33
<i>Lucilia eximia</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lucilina</li> </ul>	antybakteryjne, przeciwgrzybicze	wykonano nieudaną aplikację u myszy	24, 34, 35
<i>Phormia regina</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• brak danych</li> </ul>	brak danych	wykonano udaną aplikację u królika	26
<i>Protophormia terranova</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• brak danych</li> </ul>	brak danych	brak danych: błędy metodologiczne	27

wynik negatywny, co dodatkowo potwierdza bezpieczeństwo tego typu substancji w praktyce klinicznej [35]. Jednak wyniki uzyskane podczas prób aplikacji larw w szczerzym modelu zwierzęcym z ranami wywołanymi jadem węża *Bothrops asper* (Garman, 1883) wskazują na konieczność zachowania ostrożności wobec zastosowania tego gatunku w larwoterapii. U badanych zwierząt nie tylko nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu na tempo gojenia ran po aplikacji larw, ale także zaobserwowano powstawanie ropni myzajycznych [25].

Efektywność larw gatunków *Phormia regina* oraz *Protophormia terraenovae* w przebiegu larwoterapii oceniano na podstawie bezpośredniej aplikacji [26, 27]. Nie przeprowadzono badań identyfikujących konkretne związki chemiczne w ich wydzielinach i wydalinach, a wnioski na temat skuteczności ich działania można wyciągać jedynie na podstawie przeprowadzonych już prób klinicznych. Umieszczenie larw *P. regina* w łożysku rany tylnej łapy królika, doprowadziło do sprawnego usunięcia tkanki nekrotycznej,

zmniejszenia stanu zapalnego i całkowitego zagojenia [26]. Testy przeprowadzone z wykorzystaniem larw *P. terraenovae* wykazały ich nieprzydatność w larwoterapii. Uzyskane w tym aspekcie wyniki należy jednak traktować z pewnym dystansem, a badanie należałoby powtórzyć ze względu na opisane przez badaczy błędy w zakresie metodologii. W hodowli wykorzystano niedokładnie wysterylizowane jaja, co doprowadziło do rozwoju chorób bakteryjnych oraz grzybiczych u wszystkich pacjentów [27]. Nie istnieją żadne późniejsze dane na temat prób aplikacji lub izolacji frakcji ES larw tego gatunku.

#### MUSCIDAE (MUCHOWATE)

Na szczególną uwagę zasługują przede wszystkim te badania, które dotyczyły muchówek spoza rodziny Calliphoridae (Tabela 4). Jednym z ciekawszych w tej kategorii przypadków jest larwoterapia przeprowadzona z wykorzystaniem gatunku *Musca domestica* (Linnaeus, 1758), jednego z najbardziej kosmopolitycznych gatunków muchówek na

**Tabela 3.** Ocena ryzyka rozwoju muszycy podczas wykorzystywania poszczególnych gatunków w larwoterapii. Do selekcji przypadków klinicznych muszycy w bazie PubMed stosowano następujący schemat wyszukiwania: (Myiasis) AND (nazwa gatunkowa po łacinie). Wyniki poddawano filtrowaniu do przypadków klinicznych. Ogólnej oceny ryzyka dokonywano na podstawie literatury [27, 52-54].

Badany gatunek	Liczba opisanych przypadków	Ogólna ocena ryzyka rozwoju muszycy w przebiegu larwoterapii
<i>Lucilia sericata</i>	67	Gatunek najczęściej opisywany w kontekście muszycy jednak podczas przeprowadzania larwoterapii, larwy nie wykazują tendencji do spożywania tkanki zdrowej. Niewielkie ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Calliphora vicina</i>	5	Próby kliniczne przyniosły niejednoznaczne wyniki - Larwy tego gatunku mogą mieć tendencję do spożywania tkanki zdrowej i wywoływania muszycy.
<i>Chrysomya albiceps</i>	1	Wszystkie gatunki zaliczane do rodziny Calliphoridae mają tendencję do wywoływania muszyc, dlatego, gdyby w przyszłości podjęto próbę aplikacji larw, należy zachować ostrożność. Istnieje ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Chrysomya megacephala</i>	6	Wszystkie gatunki zaliczane do rodziny Calliphoridae mają tendencję do wywoływania muszyc, dlatego, gdyby w przyszłości podjęto próbę aplikacji larw, należy zachować ostrożność. Istnieje ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Chrysomya rufifacies</i>	2	Wszystkie gatunki zaliczane do rodziny Calliphoridae mają tendencję do wywoływania muszyc, dlatego, gdyby w przyszłości podjęto próbę aplikacji larw, należy zachować ostrożność. Istnieje ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Lucilia cuprina</i>	7	Gatunek często wykorzystywany w przebiegu larwoterapii. Niewielkie ryzyko spożywania przez larwy tkanki zdrowej i rozwoju muszycy.
<i>Lucilia eximia</i>	1	Larwy tego gatunku miały tendencję do spożywania tkanki zdrowej podczas larwoterapii. Istnieje ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Phormia regina</i>	8	Aplikacja larw doprowadziła do sprawnego usunięcia tkanki nekrotycznej z rany. Istnieje niewielkie ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Protophormia terraenovae</i>	0	Aplikacja larw zakończyła się niepowodzeniem wynikających z niedokładnej sterylizacji larw. Trudno jednoznacznie ocenić ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Musca domestica</i>	43	Pomimo relatywnie wielu opisanych przypadków klinicznych muszycy, autorzy artykułów przeglądowych dotyczących muszycy oceniają ryzyko wywołania muszycy przez larwy tego gatunku jako niewielkie. Podczas larwoterapii larwy nie wykazywały tendencji do spożywania tkanki zdrowej.
<i>Wolffhartia nuba</i>	0	Pomimo braku opisanych przypadków klinicznych w bazie PubMed, można uznać, że ten gatunek nie nadaje się do przeprowadzania larwoterapii ze względu na przeprowadzone w 1933 roku próby kliniczne, podczas których larwy wykazywały tendencję do spożywania tkanki zdrowej. Duże ryzyko rozwoju muszycy.
<i>Sarcophaga peregrina</i>	3	Brak informacji na temat aplikacji larw w połączeniu z opisanymi przypadkami muszyc i danymi na temat gatunku <i>Wolffhartia nuba</i> , należącego do tej samej rodziny, pozwala ocenić ryzyko rozwoju muszycy jako duże.
<i>Sarcophaga carnaria</i>	2	Brak informacji na temat aplikacji larw w połączeniu z opisanymi przypadkami muszyc i danymi na temat gatunku <i>Wolffhartia nuba</i> , należącego do tej samej rodziny, pozwala ocenić ryzyko rozwoju muszycy jako duże.

**Tabela 4.** Związki chemiczne, wraz ze sposobem działania, izolowane z gatunków zaliczanych do rodziny muchowatych (Muscidae) oraz ścierwicowatych (Sarcophagidae).

Gatunek	Opisane związki chemiczne	Sposób działania związków chemicznych	Aplikacja	Ref.
<i>Musca domestica</i>	• MAF-1	przeciwgrzybicze	wykonano efektywnie w modelu zwierzęcym	14, 16, 36
<i>Sarcophaga peregrina</i>	• sarkotoksyna I • sarkotoksyna II • sarkotoksyna III • sapecyna	antybakteryjne	brak danych	40, 41, 42, 43, 44, 45
<i>Sarcophaga carnaria</i>	• brak danych	antybakteryjne	brak danych	46
<i>Wohlfahrtia nuba</i>	• ES bez identyfikacji frakcji	antybakteryjne	wykonano próby z pacjentami w 1933 roku, w czasie których zaobserwowano skłonność larw do zjedania tkanki zdrowej	50, 51

świecie. W 2009 roku w hemolimfie larw *M. domestica* zidentyfikowano nieopisywane wcześniej białko o działaniu przeciwgrzybiczym, które nazwano MAF-1 (ang. *Musca domestica antifungal peptide-1*) [14]. Przeprowadzono również próby na zwierzęcym modelu – chomiku [36]. Warto podkreślić, że oprócz kosmopolityczności, *M. domestica* wykazuje także wiele innych zalet w porównaniu z plujką *L. sericata*. Oprócz jeszcze niższych kosztów produkcji, krótszego cyklu życiowego, *M. domestica* pozwala się również hodować na pożywkach całkowicie syntetycznych, w przeciwieństwie do wielu obligatoryjnie nekrofagicznych gatunków z rodziny Calliphoridae, które wymagają mięsa do złożenia jaj. Może to mieć szczególne znaczenie w warunkach szpitalnych dla zachowania sterylności i komfortu pacjentów, ze względu na fakt, że pożywka z dodatkiem mięsa jest źródłem nieprzyjemnego zapachu [36]. Te odkrycia pozwoliły na przetestowanie larw *M. domestica* na chemicznym modelu zwierzęcym (*Mesocricetus auratus* (Waterhouse, 1839)) zarażonego leiszmaniozą, u którego występowały typowe dla tego schorzenia owrzodzenia skóry. Stwierdzono skuteczność terapii, szczególnie, gdy stosowano larwoterapię w połączeniu z Ułaminą, czyli lekiem eksperymentalnym w leczeniu leiszmaniozy [36]. Istnieją również doniesienia na temat zakończonego sukcesem leczenia u pacjenta z ciężkimi ranami pooparzeniowymi poprzez aplikację żywych larw *M. domestica* [16].

#### SARCOPHAGIDAE (ŚCIERWICOWATE)

W badaniach nad możliwością wykorzystania muchówek nekrofagicznych w larwoterapii należy pamiętać, że wiele gatunków może wywoływać muszycę (Tabela 3). Muszycza to stan patologiczny, w którym muchówka składa jaja w obrębie żywych tkanek, a larwy odżywiają się zdrową tkanką, doprowadzając do rozległego stanu zapalnego [37]. Schorzenie może rozwinąć się zarówno u zwierząt hodowlanych, przynosząc ogromne straty ekonomiczne, jak i u ludzi. Niektórzy badacze uznają MDT za kontrolowaną formę muszycy [38]. Ze względu na ten fakt, w literaturze podkreśla się, że wprowadzanie nowych gatunków jako potencjalnie leczniczych powinno być poprzedzone szczegółowymi badaniami oraz prowadzone pod ścisłą kontrolą, aby zminimalizować ryzyko osiągnięcia efektu odwrotnego do zamierzonego.

W tym kontekście warto przywołać przykład muchówek z rodziny ścierwicowatych (Sarcophagidae), które znane są jako muchówki kolonizujące zwłoki (Tabela 4) [39]. Od lat osiemdziesiątych XX wieku przeprowadzono badania *in vitro*, mające na celu izolację substancji o charakterze antybakteryjnym z larw *Sarcophaga peregrina* (Robineau-Desvoidy, 1830) - jednego z najważniejszych przedstawicieli rodziny Sarcophagidae na obszarze Chin i Malezji. Z sukcesem udało się uzyskać oraz oczyścić sarkotoksynę I, sarkotoksynę IIa oraz sarkotoksynę III, a także sapecynę, wszystkie o potwierdzonym działaniu antybakteryjnym [40, 41, 42, 43]. W późniejszych latach podkreślano między innymi ich znaczenie w procesie metamorfozy tych owadów [44]. Użytkano również rekombinowaną sarkotoksynę w bakteriiach *E. coli* [45].

Skuteczność antybakteryjną oraz przeciwgrzybiczą testowano także z wykorzystaniem ekstraktu uzyskanego z muchówki *Sarcophaga carnaria*, bez oczyszczenia i identyfikacji poszczególnych komponent chemicznych [46], jednak pomimo skuteczności zarówno wobec szczepów bakteryjnych Gram dodatnich oraz Gram ujemnych, jak i wobec licznych gatunków grzybów (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* i *Geotricum candidum*), nie kontynuowano badań ani nie zidentyfikowano żadnych komponentów wpływających na uzyskanie wyników pozytywnych u tego gatunku. Opisano natomiast przypadki muszyc, których przyczyną były zarówno *S. peregrina*, jak i *S. carnaria* (Linnaeus, 1758), a także inni przedstawiciele rodziny Sarcophagidae [47, 48, 49]. Te odkrycia w połączeniu z brakiem danych aplikacyjnych pozwalają sądzić, że ścierwicowate są zbyt ekspansywne i nie nadają się do wykorzystania w MDT. Niniejszy wniosek ponownie potwierdziły również obserwacje wykonane podczas larwoterapii z wykorzystaniem gatunku *Wohlfahrtia nuba* (Wiedemann, 1830) już w 1933 roku [50]. Zauważono, że po skutecznym usunięciu tkanki nekrotycznej z rany, larwy *W. nuba* zaczynały odżywiać się tkanką zdrową zlokalizowaną w otoczeniu rany [50]. W ostatnim czasie potwierdzono natomiast skuteczność antybakteryjną ES *W. nuba* w warunkach *in vitro* zarówno wobec szczepów bakteryjnych Gram+ jak i Gram-. Przetestowano metycylinowrażliwy szczep *Staphylococcus aureus* (MSSA), metycylinooporny *Staphylococcus aureus*

(MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* [51].

Należy zatem uznać, że to praktyka kliniczna oraz bardzo dobra znajomość biologii potencjalnie użytecznych w larwoterapii gatunków jest kluczowa przy określaniu ich użyteczności w kontekście larwoterapii. Identyfikacja i poznanie związków chemicznych w ES larw potencjalnie pozytywnie wpływających na proces gojenia ran jest oczywiście istotny, ale obiecujące wyniki uzyskane w warunkach laboratoryjnych, nie gwarantują powodzenia w przebiegu MDT. Liczne doniesienia na temat muszyc powodowanych przez Sarcophagidae wskazują na konieczność dużej ostrożności wobec możliwości faktycznego zastosowania Sarcophagidae w MDT. Alternatywnym rozwiązaniem mogłoby być stosowanie larw *M. domestica*, które niezwykle rzadko wywołują muszycę. Ciekawą perspektywę w światowym rozwoju larwoterapii może stanowić stosowanie białek rekombinowanych, choć wiąże się to z eliminacją zalet płynących z obecności żywych larw w łożysku rany, takich jak usuwanie tkanki nekrotycznej oraz masaż żywych komórek pod wpływem ruchu larw.

#### **METODY HODOWLI, REGULACJE PRAWNE I WĄTPLIWOŚCI ETYCZNE**

W przypadku larwoterapii, niezależnie od stosowanego gatunku, kluczowe jest zachowanie sterylności aplikowanych larw. Odpowiednie warunki muszą być zachowane już od etapu hodowli aż do momentu ich umieszczenia w łożysku rany. Aplikowanie larw niesterylnych może nie tylko nie przynieść poprawy stanu zdrowia pacjenta, ale nawet przyczynić się do jego pogorszenia [27]. Ponadto ze względu na specyfikę środowiska trudno gojących się ran, w którym znajdują się liczne gatunki bakterii chorobotwórczych, ważne jest niedostarczanie źródeł kolejnych zakażeń do łożyska rany [55, 56]. Celem uniknięcia nieprawidłowości wynikających ze zbyt niskiej jakości czerwi, stworzono szereg procedur hodowlanych, pozwalających na uzyskanie wysokiej jakości materiału biologicznego.

Kluczowym elementem utrzymania pełnej sterylności hodowli aż do momentu aplikacji larw, jest dezynfekcja jaj. Ważny jest wybór środka dezynfekującego o potwierdzonej skuteczności antybakteryjnej [56, 57]. Warunki sterylne hodowli utrzymywane są zazwyczaj do osiągnięcia drugiego stadium larwalnego – wtedy larwy są albo umieszczane w łożysku rany albo kończą cykl rozwojowy w warunkach niesterylnych, aby później mogły posłużyć do rozpoczęcia nowej linii hodowlanej sterylnych larw [55]. Klasyczna pożywka hodowlana składa się przede wszystkim z agaru i rozdrobionej wątroby wołowej [58]. W ostatnich latach udało się również opracować medium, którego główny składnik stanowią tkanki ludzkie pozyskane z odpadów medycznych, a także opisać nowe linie *L. sericata* pobrane bezpośrednio z rozkładających się szczątków ludzkich, zdolne do wydajniejszego spożywania tkanki nekrotycznej [59].

W Polsce legalne użycie larwoterapii jest regulowane prawnie. Ustawa z 7 kwietnia 2022 r. o wyrobach medycznych uznaje sterylne hodowane larwy za wyrób medyczny. Sama larwoterapia uznawana jest za procedurę medyczną

według międzynarodowych standardów (Międzynarodowa Klasyfikacja Procedur Medycznych ICD – 9 CM wersja 5.19 objęta procedurą nr 86.289), co umożliwia jej finansowanie przez Narodowy Fundusz Zdrowia. Ze względu na taki status prawny, nie jest wymagana każdorazowa zgoda Komisji Bioetycznej, o ile nie jest planowana publikacja wyników. Polskie Towarzystwo Leczenia Ran wydało oficjalne oświadczenie dotyczące larwoterapii. Dokument nie tylko wyraża wsparcie dla stosowania tego rodzaju terapii w warunkach szpitalnych, ale także w sposób szczegółowy opisuje wszystkie procedury oraz zasady jej stosowania celem osiągnięcia jak najlepszych efektów [60].

Pomimo ustanowienia metodyki w sposób znaczny obniżającej ryzyko nieumyślnego zakażenia rany w trakcie larwoterapii i pogorszenia stanu zdrowia pacjenta, a także wyraźnego poparcia tego typu terapii w literaturze medycznej, badania wskazują na negatywne nastawienie pacjentów z ranami przewlekłymi do larwoterapii, co można tłumaczyć obawą przed nieprzyjemnym widokiem i doznaniem psychicznymi [61, 62]. Rozwiązaniem tego problemu są opracowane po raz pierwszy w 2000 roku opatrunki typu biobag (biotorb) mające postać torebek z gazy, w których zamknięte są larwy. Wewnątrz torebki znajduje się dodatkowo specjalna warstwa wspierająca wykonana z alkoholu poliwinylowego [37, 63].

#### **ZAKOŃCZENIE**

Na dużą skalę larwy *L. sericata* wykorzystuje się w leczeniu przewlekłych ran od XX wieku, a w większości przypadków tego rodzaju terapia kończy się sukcesem. Warto byłoby rozważyć perspektywę poszerzenia technik MDT o nowe gatunki, przede wszystkim ze względu na możliwość zwiększenia dostępności oraz podniesienia potencjału terapeutycznego larwoterapii.

Pomimo tego, że literatura dotycząca wykorzystania innych gatunków muchówek w MDT jest stosunkowo łatwo dostępna, a eksperymenty dostarczają często obiecujących wyników, ich wykorzystanie w praktyce klinicznej pozostaje rzadkością. Wynika to prawdopodobnie z dobrej znajomości metod hodowli oraz sterylizacji *L. sericata* oraz wielu zakończonych sukcesem terapii. Wybór *L. sericata* w warunkach klinicznych oznacza również możliwość zakupu gotowego bioopatrunku lub sterylnych larw od przedsiębiorstw zajmujących się ich produkcją na masową skalę (w Polsce produkcją zajmuje się firma Biollab sp. z o. o.) i brak konieczności prowadzenia hodowli w warunkach szpitalnych lub przez podmiot zewnętrzny. Perspektywa wykorzystania nowych gatunków w krajach, w których dostępne są gotowe bioopatrunki, pozostaje oczywiście interesująca, jednak w praktyce klinicznej nie wydaje się kluczowa ani konkurencyjna. Na korzyść stosowania larw *L. sericata* w tym kontekście przemawia także relatywnie niska cena produktu [64].

Inny punkt widzenia należy przyjąć w przypadku krajów, w których nie istnieją tego typu firmy, a jedynym sposobem uzyskania sterylnych larw pozostaje hodowla. Mając na uwadze fakt, że taka sytuacja jest typowa przede wszystkim dla krajów tzw. Trzeciego Świata, w których obniżanie

**Tabela 5.** Związki bioaktywne z ES różnych gatunków muchówek wraz z ich masami cząsteczkowymi. Informacje na temat mas cząsteczkowych pochodzą z baz Pubchem oraz UniProt.

nazwa związku	klasa związku	model badawczy	masa cząsteczkowa [Da]
alloferony	oligopeptyd	<i>Calliphora vicina</i>	1265
kompleks peptydów FLIP7	zawiera defensyny, cekropiny, dipterycyny, peptydy bogate w prolinę i inne biologicznie aktywne komponenty	<i>Calliphora vicina</i>	-
2-piperydon	laktam	<i>Chrysomya albiceps</i>	168,28
kwask benzenopropanowy	kwask karboksylowy	<i>Chrysomya albiceps</i>	150,17
kwask palmitooleinowy	kwask tłuszczowy	<i>Chrysomya albiceps</i>	254,41
kwask heksadekanowy	kwask tłuszczowy	<i>Chrysomya albiceps</i>	256,42
trimetylosililowa pochodna kwasu palmitynowego	pochodna kwasu palmitynowego	<i>Chrysomya albiceps</i>	328,61
kwask linolowy	kwask tłuszczowy	<i>Chrysomya albiceps</i>	280,4
oleinian etylu	ester	<i>Chrysomya albiceps</i>	310,5
kwask cis-wakcenyowy	kwask tłuszczowy	<i>Chrysomya albiceps</i>	282,5
1,25-Dihydroksywitamina D3, pochodna TMS	biologicznie aktywna forma witaminy D3	<i>Chrysomya albiceps</i>	488,8
kwask 5, 8, 11, 14-eikozatetranowy, ester metylowy	ester	<i>Chrysomya albiceps</i>	318,5
kwask heksadienowy, ester metylowy	ester	<i>Chrysomya albiceps</i>	266,4
9-oktadecenamid	amid kwasu oleinowego	<i>Chrysomya albiceps</i>	281,5
kwask oleinowy	kwask tłuszczowy	<i>Chrysomya albiceps</i>	282,5
1-heptatriakantanol	alkohol	<i>Chrysomya albiceps</i>	537
ester etylowy kwasu linolowego	ester	<i>Chrysomya albiceps</i>	617
izo-allocholan etylu	steroid	<i>Chrysomya albiceps</i>	436,6
cholesterol (3'α OH)	stereoizomer cholesterolu	<i>Chrysomya albiceps</i>	442,7
lucilina	peptyd	<i>Lucilia eximia</i>	4285
lucimycyna	peptyd	<i>Lucilia eximia</i>	707,8
sarkotoksyna I	peptyd	<i>Sarcophaga peregrina</i>	~4000
sarkotoksyna II	peptyd	<i>Sarcophaga peregrina</i>	~24000
sarkotoksyna III	peptyd	<i>Sarcophaga peregrina</i>	~7000
sapecyna	peptyd	<i>Sarcophaga peregrina</i>	9915
MAF-1	peptyd	<i>Musca domestica</i>	3249

kosztów leczenia niejednokrotnie stanowi aspekt kluczowy, łatwo jest zrozumieć, dlaczego badanie nowych gatunków pod kątem możliwości ich wykorzystania stanowi tak obiecującą perspektywę. Stworzenie możliwości użycia gatunków typowych dla danego regionu, umożliwi obniżenie kosztów, a także uniezależnienie od zewnętrznych dostawców.

Jednocześnie należy pamiętać o tym, że nie każdy gatunek muchówki przyniesie podczas aplikacji efekt terapeutyczny, na co wskazuje opisany powyżej przykład *Wohlfahrtia nuba* czy *Lucilia eximia*. Każdy gatunek potencjalnie terapeutyczny należy przed aplikacją poddać dokładnym testom, nie tylko w warunkach laboratoryjnych pod ką-

tem substancji chemicznych zawartych w ES (Tabela 5), ale także w modelu zwierzęcym, ponieważ mogą okazać się nieskuteczne lub nawet ekspansywne, doprowadzając do pogorszenia pierwotnego stanu rany. Być może należałoby rozważyć jednoczesne stosowanie opatrunków zawierających kilka różnych gatunków muchówek dla zmaksymalizowania korzyści płynących z zawartości związków chemicznych o zróżnicowanym działaniu. Warto jednak ponownie podkreślić, że pomimo obiecujących wyników dla nowych gatunków, a także ciekawych perspektyw ich wykorzystania w praktyce klinicznej, *L. sericata* niezmiennie pozostaje najczęściej wykorzystywanym w trakcie larwoterapii gatunkiem również ze względu na najdokładniejsze poznanie biologii tego gatunku.

Inną perspektywą wykorzystania muchówek w praktyce klinicznej jest izolacja substancji leczniczych z ES lub hemolimfy i ich stosowanie w formie leku. Oznacza to rezygnację z korzyści płynących z obecności larw w łożysku rany, takich jak mikromasaż czy usuwanie tkanki nekrotycznej, ale z drugiej strony eliminuje negatywne odczucia związane z obecnością żywych larw w łożysku rany zarówno ze strony pacjentów, jak i personelu medycznego bezpośrednio zaangażowanego w zmianę opatrunku. Leki tego typu mogłyby być stosowane w leczeniu ran przewlekłych w połączeniu z innymi metodami usuwania tkanki nekrotycznej, ale także w leczeniu innych schorzeń np. o podłożu bakteryjnym, co może być szczególnie obiecującą perspektywą w kontekście narastającego problemu antybiotykooporności. Wykorzystanie samych związków chemicznych pozyskiwanych od larw dobrze wpisuje się również w założenia, stosowanej przede wszystkim w kontekście badań laboratoryjnych z wykorzystaniem zwierząt, zasady 3R (ang. *replacement, reduction, refinement*). Zakładana ona stopniowe zastępowanie organizmów żywych, innego rodzaju modelami w praktyce laboratoryjnej i klinicznej, wykorzystywanie jak najmniejszej liczby osobników podczas wykonywanych procedur oraz ograniczanie cierpienia zwierząt. Należy jednak pamiętać, że taka forma wykorzystania larw, znacząco podnosi koszt produkcji [65].

## PIŚMIENNICTWO

- Whitaker IS, Twine C, Whitaker MJ, Welck M, Brown CS, Shandall A (2007) Larval therapy from antiquity to the present day: mechanisms of action, clinical applications and future potential. *Postgrad Med J* 83: 409-413
- Nigam Y, Dudley E, Bexfield A, Bond AE, Evans J, James J (2010) The physiology of wound healing by the medicinal maggot, *Lucilia sericata*. *Adv Insect Physiol* 39: 39-81
- Bazaliński D, Skórka M, Szymańska P, Wójcik A, Lipiński P (2022) *Lucilia sericata* defensins and their capacity to stimulate wound regenerative processes. A review of the literature and our own observations. *Leczenie Ran* 19: 94-105
- Sherman RA (2014) Mechanisms of maggot-induced wound healing: what do we know, and where do we go from here? *Evid Based Complement Alternat Med* 2014: 592419
- Draber-Mońko A, (2004) *Calliphoridae: Plujki (Insecta: Diptera)*, Fauna Polski = Fauna Poloniae. Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa
- Byrd JH, Tomberlin JK (2019). *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. CRC press
- Pöppel AK, Koch A, Kogel KH, Vogel H, Kollwe C, Wiesner J, Vilcinskas A (2014) Lucimycin, an antifungal peptide from the therapeutic maggot of the common green bottle fly *Lucilia sericata*. *Biol Chem* 395: 649-656
- Evans R, Dudley E, Nigam Y (2015) Detection and partial characterization of antifungal bioactivity from the secretions of the medicinal maggot, *Lucilia sericata*. *Wound Repair Regen* 23: 361-368
- Wang D, Wang R, Ca M, Zhang Y, Zhu Z, Weng Y, Wang L, Huang Y, Du R, Wu X, Tao G, Wang Y (2022) Maggot extract inhibits cell migration and tumor growth by targeting HSP90AB1 in ovarian cancer. *J Clin Med* 11: 6271
- Tang X, Mo D, Jiang N, Kou Y, Zhang Z, Peng R, Mao X, Wang R, Wang Y, Yan F (2025) Polysaccharides from maggot extracts suppressed colorectal cancer progression by inducing ferroptosis via HMOX1/GPX4 signaling pathway. *Int J Biol Macromol* 296: 139734
- Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe NA (2006) Maggot therapy: the science and implication for CAM Part I - history and bacterial resistance. *Evid Based Complement Alternat Med* 3: 223-227
- Denning DW (2024) Global incidence and mortality of severe fungal disease. *Lancet Infect Dis* 24: e428-e438
- WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action Geneva: World Health Organization; 2022 [https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/69af4379-4f27-4ac4-8973-74d7b52af7bd/content, dostęp z dnia 02.07.2026]
- Beck-Sague C, Jarvis WR (1993) Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. *National Nosocomial Infections Surveillance System. Journal Infect Dis* 167: 1247-1251
- Fu P, Wu J, Guo G (2009) Purification and molecular identification of an antifungal peptide from the hemolymph of *Musca domestica* (housefly). *Cell Molecular Immunol* 6: 245-251
- Wu JC, Lu RR, Huo R, Fu HB (2012) Maggot therapy for repairing serious infective wound in a severely burned patient. *Chin J Traumatol* 15: 124-125
- Dallavecchia DL, Ricardo E, Da Silva AS, Rodrigues AG (2021) Antibacterial and antifungal activity of excretions and secretions of *Calliphora vicina*. *Med Vet Entomol* 35: 225-229
- Chernysh SI, Gordja NA (2011) The immune system of maggots of the blow fly (*Calliphora vicina*) as a source of medicinal drugs. *J Evol Biochem Physiol* 47: 524-533
- Dawwam GE, Ibrahim AA, El-Ansary RE, Abdelhafiz AH, Omara AS, Abdel-Meguid AD, Baz MM (2025) Antimicrobial, antioxidant, wound healing, and cytotoxic effects of maggot extract from molecularly identified *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *Microb Pathog* 209: 108056
- Pinheiro MARQ, Ferraz JB, Junior MAA, Moura AD, da Costa MESM, Costa FJMD, Valter VFA, Neto RM, Gama RA (2015) Use of maggot therapy for treating a diabetic foot ulcer colonized by multidrug resistant bacteria in Brazil. *Indian J Med Res* 141: 340-342
- Ratcliffe NA, Vieira CS, Mendonça PM, Caetano RL, de Carvalho Queiroz MM, Souza Garcia E, Brasileiro Mello, Azambuja P (2015) Detection and preliminary physico-chemical properties of antimicrobial components in the native excretions/secretions of three species of *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) in Brazil. *Acta Trop* 147: 6-11
- Barros LA, Sant'Anna LX, Lessa CS, Coelho VMA, Nunes MDP, de Souza CMV, Duarte MCKH, Fonseca ABM, Sakamoto CAM, Leite da Silva J (2021) Evaluation of larval therapy compared to antibiotic therapy in the treatment of skin wounds in rabbits. *J Med Entomol* 58: 900-905
- Fonseca-Muñoz A, Pérez-Pacheco R, Ortega-Morales BO, Reyes-Estebanez M, Vásquez-López A, Chan-Bacab M, Ruiz-Vega J, Granados-Echegoyen CA (2019) Bactericidal Activity of *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) larval excretions-secretions against *Staphylococcus aureus* (Bacillales: Staphylococcaceae). *J Med Entomol* 56: 1598-1604
- Abdel-Samad MR (2019) Antiviral and virucidal activities of *Lucilia cuprina* maggots' excretion/secretion (Diptera: Calliphoridae): first work. *Heliyon* 5: e02791
- Calderón-Arguedas Ó, Belfort K, Troyo A, del Mar Gamboa M (2014) Terapia larval con *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) de Costa Rica en un modelo experimental [Maggot therapy with *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) of Costa Rica in an experimental model. *Rev Chil Entomol* 39: 57-65
- Kocisova A, Conkova E, Pisl J, Toporcak J (2003) First non-conventional veterinary treatment of skin infections with blowfly larvae (Calliphoridae) in Slovakia. *Bull Vet Inst Pulawy* 47: 487-490
- Nuesch R, Rahm G, Rudin W, Steffen I, Frei R, Rufli T, Zimmerli W (2002) Clustering of bloodstream infections during maggot debridement therapy using contaminated larvae of *Protophormia terraenovae*. *Infection* 30: 306-309
- Chambers L, Woodrow S, Brown AP, Harris PD, Phillips D, Hall M, Church JCT, Pritchard DI (2003) 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* 148: 14-23

29. Teich S, Myers RA (1986) Maggot therapy for severe skin infections. *South Med J* 79: 1153-1155
30. Nasser MG, Hosni EM, Kenawy MA, Alharbi SA, Almoallim HS, Rady MH, Merdan BA, Pont AC, Al-Ashaal SA (2021) Evolutionary profile of the family Calliphoridae, with notes on the origin of myiasis. *Saudi J Biol Sci* 28: 2056-2066
31. El Shazely B, Veverka V, Fučík V, Voburka Z, Zdárek J, Čerovský V (2013) Lucifensin II, a defensin of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). *J Med Entomol* 50: 571-578
32. Paul AG, Ahmad NW, Lee HL, Ariff AM, Saranam M, Naicker AS, Osman Z (2009) Maggot debridement therapy with *Lucilia cuprina*: a comparison with conventional debridement in diabetic foot ulcers. *Int Wound J* 6: 39-46
33. Verbanic S, Deacon JM, Chen IA (2022) The chronic wound phageome: phage diversity and associations with wounds and healing outcomes. *Microbiol Spectr* 10: e02777-21
34. Giraldo Hincapié PA (2014) Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos y hemolinfa de larvas de *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae). Doctoral dissertation, Universidad de Antioquia, Medellín
35. Téllez GA, Zapata JA, Toro LJ, Henao DC, Bedoya JP, Rivera JD, Trujillo JV, Rivas-Santiago B, Hoyos RO, Castano JC (2018) Identification, characterization, immunolocalization, and biological activity of lucilin peptide. *Acta Trop* 185: 318-326
36. Reyes Parrado AE, Arrivillaga-Henríquez J, Oviedo Araújo MJ, Scorza Dagert JV, Ron Garrida L (2020) Terapia larval con musca domestica en el tratamiento de la úlcera leishmánica en un modelo murino. *Acta Biol Colomb* 25: 82-95
37. Nnachi IA, Okeanya BC, Chinwe EH (2022) Maggot debridement therapy and innovation from myiasis-A review. *Bio Res* 20: 1721-1729
38. Sherman RA, Nguyen A, Dastpak V, Fonseca-Muñoz A, Parizad N, Siavash M, Yusuf MA (2024) Not all maggots are created equal; not all maggots are therapeutic. *Clin Case Rep* 12: e9163
39. Ren L, Shang Y, Chen W, Meng F, Cai J, Zhu G, Chen L, Wang Y, Deng J, Guo Y (2018) A brief review of forensically important flesh flies (Diptera: Sarcophagidae). *Forensic Sci Res* 3: 16-26
40. Baba K, Okada M, Kawano T, Komano H, Natori S (1987) Purification of sarcotoxin III, a new antibacterial protein of *Sarcophaga peregrina*. *J Biochem* 102: 69-74
41. Ando K, Natori S (1988) Molecular cloning, sequencing, and characterization of cDNA for sarcotoxin IIA, an inducible antibacterial protein of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly). *Biochemistry* 27: 1715-1721
42. Ando K, Okada M, Natori S (1987) Purification of sarcotoxin II, antibacterial proteins of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) larvae. *Biochemistry* 26: 226-230
43. Matsuyama K, Natori S (1990) Mode of action of sapecin, a novel antibacterial protein of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly). *J Biochem* 108: 128-132
44. Natori S, Shiraishi H, Hori S, Kobayashi A (1999) The roles of *Sarcophaga* defense molecules in immunity and metamorphosis. *Dev Comp Immunol* 23: 317-328
45. Skosyrev VS, Kuleskiy EA, Yakhnin AV, Temirov YV, Vinokurov LM (2003) Expression of the recombinant antibacterial peptide sarcotoxin IA in *Escherichia coli* cells. *Protein Expression Purif* 28: 350-356
46. Amer MS, Shehata AZ, Hammad KM, Hasballah AI, Saed SM (2019) Antimicrobial Activity of *Sarcophaga carnaria* (Diptera: Sarcophagidae) Maggots' Body Extracts. *Egypt Acad J Biol Sci G Microbiol* 11: 23-33
47. Ergün S, Akıncı O, Sirekbasan S, Kocael A (2016) Postoperative wound myiasis caused by *Sarcophaga carnaria*. *Turkiye Parazitol Derg* 40: 172-175
48. Ly P, Aizenberg A, Martin T, Lopez M, Saldaña MA, Hughes GL, Cabada MM (2018) Intestinal myiasis caused by *Sarcophaga* spp. in Cusco, Peru: a case report and review of the literature. *Case Rep Infect Dis* 2018: 3685439
49. Jallow BJJ, Gassara G, Bajinka O, Luo Y, Liu M, Cai J, Huang J, Meng F (2024) Human myiasis in Sub-Saharan Africa: A systematic review. *PLoS Neglected Trop Dis* 18: e0012027
50. Sherman RA, Hall MJ, Thomas S (2000) Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions. *Annu Rev Entomol* 45: 55-81
51. Khedre AM, Ismail TG, Hashem GA, Zakaria IM (2023) In vitro antibacterial activity and synergetic effect of crude extract of the *Wohlfahrtia nuba* (Diptera: Sarcophagidae) flesh fly larvae. *Braz J Microbiol* 54: 1373-1385
52. Bugelli V, Tarozzi I, Galante N, Bortolini S, Franceschetti L (2023) Review on forensic importance of myiasis: Focus on medicolegal issues on post-mortem interval estimation and neglect evaluation. *Leg Med* 63: 102263
53. Jallow BJJ, Gassara G, Bajinka O, Luo Y, Liu M, Cai J, Huang J, Meng F (2024) Human myiasis in Sub-Saharan Africa: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 18: e0012027
54. Francesconi F, Lupi O (2012) Myiasis. *Clin Microbiol Rev* 25: 79-105
55. Gasz NE, Harvey ML (2017) A new method for the production of sterile colonies of *Lucilia sericata*. *Med Vet Entomol* 31: 299-305
56. Bavani MM, Seyyedzadeh SJ, Radi E, Malekian A, Hoseinpour M, Gholizadeh S (2022) Sterilization of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) Eggs for Maggot Debridement Therapy. *J Med Entomol* 59: 1076-1080
57. Limsopatham K, Khamnoi P, Sukontason KL, Boonyawan D, Chaiwong T, Sukontason K (2017) Sterilization of blow fly eggs, *Chrysomya megacephala* and *Lucilia cuprina*, (Diptera: Calliphoridae) for maggot debridement therapy application. *Parasitol Res* 116: 1581-1589
58. Sherman RA, Tran JM (1995) A simple, sterile food source for rearing the larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Med Vet Entomol* 9: 393-398
59. Yoshida T, Aonuma H, Otsuka S, Ichimura H, Saiki E, Hashimoto K, Ote M, Matsumoto S, Iwade K, Miyawaki T, Kanuka H (2022) A human tissue-based assay identifies a novel carrion blowfly strain for maggot debridement therapy. *Sci Rep* 12: 12191
60. Mrozikiewicz-Rakowska B, Tusiński M, Lipiński P, Bazaliński D, Dynarska J, Czwałkiel L, Zymon A, Mospan B, Malinowska K, Sopata M, Jawień A (2023) Stanowisko Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran na temat terapii larwalnej ran. *Leczenie Ran* 20: 89-95
61. Kitching M (2004) Patients' perceptions and experiences of larval therapy. *J Wound Care* 13: 25-29
62. Skórka M, Bazaliński D, Gajdek M, Szymańska P, Strzałko B (2022) Debridement of hard-to-heel wounds provided in the home-care setting. Practical and legal possibilities. *Leczenie Ran* 19: 84-93
63. Grassberger M, Fleischmann W (2002) The biobag - a new device for the application of medicinal maggots. *Dermatology*: 204 306-306
64. Wayman J, Nirojogi V, Walker A, Sowinski A, Walker MA (2000) The cost effectiveness of larval therapy in venous ulcers. *J Tissue Viability* 10: 91-94
65. Stadler F (2022) The ethics of maggot therapy, W: Stadler F (red) A Complete Guide to Maggot Therapy: Clinical Practice, Therapeutic Principles, Production, Distribution, and Ethics. Open Book Publishers, Cambridge, str. 405-430

# New possibilities and perspectives for the use of fly maggots in clinical practice

Aleksandra Wszyńska✉

Department of Animal Taxonomy and Ecology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University of Poznań

✉Corresponding author: Aleksandra Wszyńska, alewys6@st.amu.edu.pl

**Keywords:** *Lucilia sericata*, Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae, MDT, chronic wounds

Maggot therapy is a method for treating chronic, non-healing wounds using live fly larvae that consume necrotic tissue, thereby cleaning the wound. The species most commonly used is *Lucilia sericata* (Meigen, 1826). Although clinically applied, the method raises concerns among patients and medical staff. Current research highlights the therapeutic potential of chemical compounds in larval excretions/secretions (ES), particularly against the growing issue of antibiotic resistance, as a complement to standard antibiotic therapy. Most studies focus on ES from *L. sericata*, while other fly species have been less explored. Investigated groups include Calliphoridae, Muscidae, and Sarcophagidae. Studies suggest ES may have antibacterial, antifungal, antiviral, and anticancer properties. This work focuses on the less-studied species and the properties of their ES.

