



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Larvterapi – Ett bättre alternativ än konventionella metoder?

Isak Svensson

*Uppsala
2018*

Larvterapi – Ett bättre alternativ än konventionella metoder?

Maggot debridement therapy – A better alternative to conventional methods?

Isak Svensson

Handledare: Karin Vargmar, SLU, Institutionen för biomedicin och folkhälsovetenskap

Examinator: Maria Löfgren, SLU, Institutionen för biomedicin och folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2018:77

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: sårläggning, ulkus, kroniska sår, *lucilia sericata*

Key words: wound treatment, ulcer, chronic wounds *lucilia sericata*

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	4
Sårläkningsprocessen	4
<i>Inflammationsfasen</i>	4
<i>Proliferationsfasen</i>	5
<i>Remoduleringsfasen</i>	6
Kroniska sår	6
Konventionell behandling för svårläkta sår	6
Larvterapi	7
<i>Larvterapins historia</i>	7
<i>Typ av larv</i>	8
<i>Egenskaper hos larven</i>	8
<i>Debridering</i>	8
<i>Desinficering</i>	9
<i>Stimulering av sårläkning</i>	9
<i>Framställning och applicering av sterila larver samt behandling</i>	10
<i>Larvterapi på djur</i>	11
Diskussion	12
Litteraturförteckning	15

SAMMANFATTNING

Sårhäkningsens grundprinciper finns dokumenterat sedan flera tusen år tillbaka. Många metoder som användes då är idag föråldrade men det finns substanser som moderniserats och förfinats, som t.ex. honung. Med introduktionen av antibiotika och massframställningen av penicillin på 1940-talet glömdes många gamla sårhäkningsmetoder bort. En av dessa metoder var larvterapi som finns beskrivet i detalj av en amerikansk läkare på 30-talet. Enligt läkaren verkade larverna lovande i behandlingen av nekrotiska sår men metoden hann inte få genomslag innan penicillinet stal rampljuset.

Nu på senare tid har antibiotikaresistens hos bakterier uppmärksammas och man fruktar dagen då antibiotika inte längre har någon avdödande effekt. Multiresistenta bakterier är inget skämt. Nya läkemedel är komplicerat att framställa vilket gör att man försöker minska användningen av dem och på så sätt minska resistensutveckling. Alternativa behandlingar är eftersökta och larvterapi har många förutsättningar att vara en av dem.

Med tanke på resistensläget och att sårhäkning med konventionella metoder inte alltid är optimal väcks frågan om det finns alternativ som är bättre, exempelvis larvterapi. Forskning om verkningsmekanismer, jämförande studier och rapporter om kliniska fall stödjer resonemanget om att hydrogel, en konventionell metod, i vissa aspekter är sämre än larvterapi. Hydrogelen hjälper endast till genom att luckra upp nekrotisk vävnad och stimulera bildandet av bindväv. Larvernas utformning och utsöndring påverkar många fler ingående komponenter i sårhäkningen. Debridering sker både mekaniskt med munkrokar och hårdheter längs kroppen och kemiskt med enzymer. Desinficering sker genom att larverna käkar upp patogener och avdödar de med antibakteriella substanser i magtarmkanalen. Sekretet som utsöndras minskar även inflammation och stimulerar sårhäkning, där vissa beståndsdelar påvisats vara allantoin och MAE-P6. En annan fördel som larverna har är den relativt låga kostnaden och enkla framställningen. Nackdelar är det korta bäst före-datumet och ovana hos utövarna som leder till felaktig applicering eller att djur lyckas få av förbanden.

Det lilla utbudet på noggranna och omfattande studier gör det svårt att med säkerhet bedöma larvernas användbarhet. Dock visar många av de studier som finns att larvterapi i mångt och mycket är bättre än konventionella metoder när det kommer till debridering och tid till såret börjar läka. Mer forskning behövs, i synnerhet på de antibakteriella och anti-inflammatoriska substanserna som är medverkande skäl till larvterapi framgång.

SUMMARY

The basic principles of wound healing can be found documented several thousand years ago. Many methods from that time are outdated today, but there are substances which have been modernized and refined, for example honey. With the introduction of antibiotics and the mass production of penicillin in the 1940's, many old methods of wound treatment were forgotten. One of these methods was larval therapy which is described in detail by an American doctor in the 1930's. According to the doctor, larval therapy seemed promising in the treatment of necrotic wounds, but the method didn't quite catch on before the limelight was stolen by penicillin.

In recent times, antibiotic resistance in bacteria is getting more and more attention and the fear of having no effective medication against these threats is real. Multi-resistant organisms are not to be trifled with. New drugs are hard to produce which makes reducing the usage of antibiotics and therefore the development of resistance even more important. Alternative treatments are sought after, and larval therapy might just fit the bill.

Considering the current state of antibiotic resistance and that wound treatment by conventional means might not be ideal, it begs the question if there exist better alternatives, for example larval therapy. Research on mechanisms of action, comparative studies, and reports from clinical cases supports the claim that hydrogel, a conventional method, in some respects is inferior to larval therapy. Hydrogel only softens and loosens necrotic tissue and help stimulate the formation of connective tissue. The shape and secretion of the larvae affects considerably more elements in wound healing. Debridement is both mechanical through specialized mouth hooks and minute spines on their bodies, and chemical through the release of enzymes. Disinfection is achieved when pathogens ingested by the larvae are destroyed by antibacterial substances present in the gut and intestines. The secrete also dampens inflammation and stimulates wound healing. Two important components of the secrete have been identified as allantoin and MAE-P6. Some other benefits of larval therapy are the relatively low cost and simple manufacturing process. Disadvantages are the short shelf life and practitioners' unfamiliarity with the medium, which leads to incorrect application or enabling the treated animals getting the bandages off.

The limited selection of thoroughly executed and extensive studies makes it difficult to evaluate the usefulness of larval therapy with certainty. However, many of the present studies show that larval therapy surpasses conventional means when it comes to debridement and the time it takes for the wound to start its healing process. More research is needed, especially on the antibacterial and anti-inflammatory substances which are heavy factors behind the success of larval therapy.

INLEDNING

Grundläggande sårläkning finns dokumenterat ända från 2200 f.v.t.. På en lertavla finns beskrivet hur man tvättade sår samt hur man producerade och applicerade tidiga sårförband. Sårförbanden bestod bl.a. av lera, växter och örter men även olja. Egyptierna var troligtvis de första som använde sig av vidhäftande förband och definitivt de första med att använda honung. Honung är vida erkänt som en effektiv antibakteriell substans med flera helande egenskaper. Den primära beståndsdel i många moderna och avancerade förband i dagens samhälle är just honung (Shah, 2011). På 1900-talet såg antibiotikan ljuset vilket förbättrade prognosen för infektioner avsevärt men det ställde även många av de äldre, mindre kända behandlingsmetoderna i skymundan (Chain, 1940). En av dessa behandlingar var larvterapi.

Jag kom först i kontakt med larvterapi när jag läste ett nummer av VeterinärMagazinet. Titeln på artikeln löd ”Fluglarverna – veterinärens bästa vänner?”, skriven av Ingrid Kindahl (2017). Titeln, i kombination med de otäckt intressanta bilderna på larver som krälade runt i ett infekterat sår, fängade min uppmärksamhet något oerhört. Kindahl intervjuade hästveterinären Dylan Gorvy, delägare i Mälaren Hästklinik om vad han tyckte om larverna. Gorvy sa att han gillade larverna med motivationen att de läker kroniska sår bra samt att de inte bidrar till resistensutveckling.

Multiresistenta bakterier är ett allt mer växande problem och man pratar om att vi är inne i en ”post-antibiotic era”. Detta är resultatet av år av överanvändning, felaktig preskribering och användning i tillväxtfrämjande syfte. Nya antibiotikum kommer knappast på fråga då den snabba resistensutvecklingen gör det oekonomiskt - ingen vill investera i forskning som kommer vara inaktuell inom tio år. Dessutom är nya läkemedel svåra att framställa (Ventola, 2015). En svensk studie undersökte bl.a. förekomsten av meticillinresistenta *Staphylococcus (S.) aureus* (MRSA) och *S. pseudointermedius* (MRSP) i djursjukhusmiljö. Av 56 prover så förekom *S. aureus* i 22, varav 3 klassades som MRSA. I 12 av de 56 proverna förekom *S. pseudointermedius*, varav 9 klassades som MRSP (Gustafsson, 2010).

Att döma av Kindahls artikel så har larvterapi goda chanser att bli nästa stora genombrott i läkningen av kroniskt infekterade sår, särskilt om man tänker på resistensaspekten. För att få en bra förståelse om hur larverna fungerar är det nödvändigt att veta hur naturlig sårläkning går till. En jämförelse mellan larvterapi och en vanlig typ av konventionell sårläkningsmetod kan dessutom ge en bra inblick hur larverna står sig gentemot dagens behandlingar. Detta arbete beskriver den naturliga sårläkningsprocessen och den konventionella sårläkningsmetoden med hydrogel översiktligt medan större fokus läggs på larvterapi. Därefter följer en jämförelse av de två behandlingarna.

MATERIAL OCH METODER

Majoriteten av referenserna i detta arbete hittades genom databaserna PubMed och Web of Science. Sökorden som användes för information om allmän sårläkning var: (”wound heal*” OR ”tissue repair*” OR ”wound repair”). Sökorden för information om larvterapi var ursprungligen: (”maggot debridement therapy” OR ”larv* therapy” OR biodebridement OR biosurgery) AND (horse OR equine OR pony OR man OR human OR ”homo sapiens”) men breddades sedan genom att inte rikta in sig på arter. Detta medförde att artiklarna om

sårläkningsprocessen i de flesta fall var beskrivna på människa medan artiklarna om larvterapi har allt från människa, hund, katt och hästdjur representerade. Det hade varit optimalt om de hämtade artiklarna endast grundat sig i den veterinärmedicinska världen men då betydligt mindre forskning är gjord på djursidan var det svårt att få tillräckligt med material.

Översiktsartiklar har använts som källor i de avseenden då primärkällorna eller studierna refererade i översiktsartiklarna inte varit fritt tillgängliga. De har då bedömts efter hur ingående och aktuella i tiden de är samt jämförts med andra artiklar som behandlar samma ämnen. Har informationen i artiklarna överensstämmt med varandra ansågs källan pålitlig. Dessutom nämns översiktsartiklar i texten som källor när de använts, för att påpeka att de inte är direkta studier eller primärartiklar.

LITTERATURÖVERSIKT

Sårläkningsprocessen

Huden är kroppens yttersta och därmed första försvar mot angrepp, vare sig det rör sig om traumatiska skador eller biologiska agens. En defekt i detta barriärsystem kan innebära en inkörsport för mikroorganismer som kan orsaka allvarliga infektioner och i värsta fall död. En skada på epidermis och dermis måste därför snabbt och effektivt repareras (Beldon, 2010). Djupa hudsår kan uppstå av en rad olika anledningar men läkningsprocessen är i princip densamma. Sårläkningsprocessen delas klassiskt in i tre eller fyra faser. Tre-fasssystemet innefattar inflammationsfasen, proliferationsfasen och remoduleringsfasen (Gilmore, 1991).

Inflammationsfasen

Den inflammatoriska fasen börjar så fort vävnad skadas och en blödning sker. När trombocyter, som flödar fritt i blodet, fastnar i blottat kollagen påbörjas en koagulationskaskad och en trombocyttaggregation. Dessa har till uppgift att stoppa blödningen men också att förhindra kontamination av bakterier samt förlust av vätska och elektrolyter. Uppgiften uppnås genom bildandet av ett koagel bestående av fibrin och trombocyter. Koaglet lägger sedan grunden för de nästkommande stegen i läkningsprocessen (Clark, 2001).

Trombocyterna frigör signalämnen. Bland dessa är *platelet-derived growth factor* (PDGF) och *transforming growth factor-beta* (TGF- β) av störst vikt. PDGF driver kemotaxis av neutrofiler, makrofager, fibroblaster och glatta muskelceller till såret. TGF- β lockar till sig samt signalerar makrofager att utsöndra ett flertal cytokiner såsom *fibroblast growth factor* (FGF), PDGF, *tumor necrosis alpha* (TNF- α) och *interleukin-1* (IL-1). Precis som PDGF så driver TGF- β kemotaxis av fibroblaster och glatta muskelceller, dock är TGF- β ensam om att modulera uttrycket av kollagen och kollagenas. Tillsammans bidrar allt detta till att stimulera de matrixproducerande cellerna när den efterföljande proliferativa fasen börjar och en deposition av bindväv kan således ske där skadan uppkommit (Kim, 1998).

Av de cirkulerande immuncellerna är neutrofiler de första som kommer till platsen för skadan. Deras primära uppgift är att bekämpa infektioner men de är också viktiga i regleringen av inflammationen. Detta gör de genom fagocytos av patogener samt utsöndring av proinflammatoriska mediatorer. (Wilgus et al., 2013). Neutrofilens bakteriebekämpande förmåga kommer av att de bär på vesiklar fyllda med antimikrobiella substanser, proteaser och reaktiva

syreradikaler (ROS). Skulle neutrofilen inte stöta på någon bakterie en kort tid efter ankomst skjuter den istället ut vesikelinnehållet i det extracellulära utrymmet. Ur sin cellkärna extruderar de DNA som binder patogener och underlättar avdödandet av dessa (NETs, *Neutrophil Extracellular Traps*) (Manfredi et al., 2018). Detta stoppar bakterierna och säkerställer att infektionen inte sprids till lymfan eller blodet men det orsakar även skada på kroppsegna celler och vävnader. Förstörelsen av vävnad, neutrofiler och kollagenfibrer resulterar i pus (var). I ett tidigt stadium är detta ofta av yttersta vikt då vävnadsnedbrytningen underlättar framkomligheten för fler neutrofiler samtidigt som varet trycker på närliggande kärl. Kärlflödet minskar alltså lokalt vilket förhindrar att infektionen sprids till andra delar av kroppen (Nathan, 2006).

Ungefär 48 timmar efter skadan inträffat aktiveras monocyter, enkärniga immunceller som sakta infiltrerat lesionen, till att bli makrofager (Diegelmann and Evans, 2004). Beroende på vilket stimuli de exponeras för blir makrofagens funktion antingen pro-inflammatorisk eller anti-inflammatorisk. Det finns många underklasser av de bägge typerna men grovt delas de in i M1- respektive M2-makrofager, vilket man kan dra paralleller till Th1 och Th2 svar. M1 är alltså pro-inflammatorisk medan M2 är antiinflammatorisk (Gordon and Martinez, 2010; Zhang and Mosser, 2008).

Makrofagstimulering med Th1 cytokinerna *interferon gamma* (IFN γ) och TNF- α samt av PAMPs (*Pathogen Associated Molecular Patterns*) ger en ”klassiskt aktiverad” M1-makrofag. Denna fenotyp producerar ROS och RNS (reaktiva kväveföreningar) och är således starkt cytotoxisk och anti-proliferativ. Den driver även Th1-svar genom utsöndring av IL-1, IL-6, IL-12, IL-23 och TNF- α (Zhang and Mosser, 2008).

En ”alternativt aktiverad” M2-makrofag har å andra sidan stimulerats av cytokinerna IL-4 och IL-13 (Gordon and Martinez, 2010). M2-makrofagers uppgift är att hämma inflammationen och påbörja sårhäkningsprocessen. Detta görs genom utsöndring av anti-inflammatoriska cytokiner såsom IL-4, IL-10 och IL-13, syntes av mediatorer som främjar angiogenes och vävnadsreparation såsom TGF- β , *vascular endothelial growth factor* (VEGF) och *epidermal growth factor* (EGF) samt fagocytos av apoptotiska neutrofiler (Laskin et al., 2011).

Neutrofiler undergår programmerad celledöd (apoptos) när de uppfyllt sin roll som infektionsbekämpare. Fagocytos av dessa indikerar att inflammationsfasen är på väg mot sitt slut (Serhan et al., 2008).

Proliferationsfasen

I proliferationsfasen är fibroblasterna den viktigaste celltypen. De börjar producera kollagenrikt extracellulärt matrix (ECM) i takt med att nybildningen av kärl (angiogenesen) pågår. Angiogenesen förser den energikrävande sårhäkningsprocessen med syre vilket möjliggör bildningen av en vaskulär bindväv kallad granulationsvävnad. Viktiga mediatorer i detta är VEGF, ”basic fibroblast factor” (bFF) och TGF- β . Till en början gör fibroblasterna kollagen typ III vilket sedan ersätts av det starkare kollagen typ I, som finns i dermis. Stora sår såsom allvarliga brännskador tar lång tid att läka då en stor mängd bindväv måste produceras för att fylla hålrummet. Epitelet återskapas genom att epitelceller från sårkanterna migrerar över den friska och fuktiga granulationsvävnaden. Det är först när epitelet täcker såret som celler börjar migrera uppåt i vävnaden och återställa epidermis tjocklek och stratifiering. Samtidigt sker en

sammandragning av såret vilket minskar omfattningen av den vävnadsersättning som måste ske. Detta kallas kontraktion (Beldon, 2010). Verkningsmekanismerna är inte helt kartlagda men en teori är att myofibroblaster (modulerade fibroblaster) uttrycker samma kontraktila proteiner som återfinns i glatta muskelceller, med vilka de drar sårkanterna mot varandra (Chaponnier et al., 2006).

Remoduleringsfasen

Remoduleringsfasen är en långsam process som ofta tar mer än ett år. Under denna period frigör fibroblasterna metalloproteiner (MMPs) som bryter ner kollagen III, samtidigt som fibroblasterna producerar kollagen typ I (Beldon, 2010). Detta förstärker den reparerade vävnaden, dock inte till samma grad som oskadad vävnad (Gurtner et al., 2008). Korslänknings av kollagenfibrerna är det som tar mest tid men också det som står för hållbarheten i vävnaden (Lovvorn III et al., 1999).

MMPs bryter inte bara ner kollagen utan de har många viktiga funktioner i samtliga faser av sårhelningen. Däggdjur producerar totalt 24 olika MMPs. Om någon av proteaserna inte fungerar eller finns i för stor eller liten mängd skulle sårhelningsprocessen störas (Gill and Parks, 2008).

Kroniska sår

Sår delas grovt in i akuta och kroniska, där kroniska sår klassas som svårhelade. Akuta sår har oftast grunden i en plötslig traumatisk skada. Så länge det inte blir svårt infekterat kan sårhelningsprocessen flyta på som vanligt. Ett kroniskt sår har å andra sidan oftast en grund i en långvarig patologisk process som orsakar upprepade skador på vävnad, t.ex. trycksår, diabetes eller venös insufficiens. Det kan även ha uppkommit genom en svår infektion som inte ger efter (Bell and Thomas, 2001).

Kroniska sår genomgår inte hela sårhelningsprocessen utan de fastnar i ett steg. I sådana sår är det vanligt att se förlängd inflammation, hämmad proliferationsfas, störd remoduleringsfas och utebliven epitelisering (Nigam et al., 2006a). Utan behandling eller ingrepp kan kroniska sår förbli i många år (Schultz et al., 2004). Ett kroniskt sår är ofta överrepresenterat av neutrofiler som utsöndrar enzymet elastas som bryter ner PDGF och TGF- β , vilket hämmar läkande egenskaper. De frigör även kollagenas, en MMP som bryter ner bindvävmatrixet. Vid allvarigare komplikationer kan skadan till och med öka i storlek på grund av detta. Dessa ulcerationer svarar ej på hudsubstitut eller topikal behandling med PDGF. Först måste såret noggrant rengöras (Diegelmann and Evans, 2004). Exempel på svårhelade sår är diabetiska fotsår, venösa bensår, trycksår och infektion i ben (osteomyelit). Utan korrekt behandling kan dessa sår persistera i flera år.

Konventionell behandling för svårhelade sår

Hydrogeler är en sorts membran-teknologi som kommer till användning i många olika områden. Enbart inom den medicinska världen så har man denna teknologi i artificiella organ, vävnadsregeneration, diagnostiska apparater och som beläggning på medicinska verktyg (Stamatialis et al., 2008). Hydrogeler består av superabsorberande polymerer och vätska. Den absorberande förmågan kommer från polymerens korslänkning. Dessa polymerer kan absorbera

upp till 1000 ggr sin egen massa i vatten och när de gjort det blir de hydrogel (Lee and Chen, 2005).

Medicinskt hydrogel kommer i många olika former och kan skräddarsys till att passa många olika typer av sår. Vanligast är dock till torra och nekrotiska sår men det finns varianter som är specialiserade på exsudativa sår. Gelen återfuktar torra sår vilket luckrar upp torr, död vävnad och förenklar borttagningen av denna (debridering). Genom att främja autolytisk debridering samt bistå med en fuktig miljö och stimulerad fibroblast-aktivitet så är hydrogelen användbar i både nekrotiska sår och i sår där frisk granulationsvävnad uppstått (Campbell, 2006).

Trots de många användningsområdena hydrogel har så menar Gregory S Schultz att de konventionella metoderna som används idag inte är optimala då de ger upphov till förlängda behandlingstider, smärta och skada på frisk vävnad (Schultz et al., 2004). Påståendena lanserade av Schultz har senare styrkts av resultat i en senare studie ledd av Elizabeth Mudge år 2014.

Studien ledd av Mudge ställde hydrogelen Purilon mot en annan behandling och rapporterade den kliniska effektiviteten i avseendet att debridera bensår – venösa och blandat venösa/arteriella. Totalt 64 personer deltog i studien där varje behandling fördelades jämt på antalet deltagare. Av de 32 som behandlades med hydrogel kunde man se fullständig debridering hos endast 11 av personerna. Av de 32 som fick den alternativa behandlingen, såg man fullständig debridering hos 31 personer. En statistisk signifikans ($p = 0,001$) kunde ses i favör för den alternativa behandlingen. Man var heller inte tvungen att byta bandage lika ofta för den andra metoden. Sårbedden och närliggande huds kliniska status var det ingen statistiskt säkerställd skillnad på mellan behandlingarna förutom att den alternativa behandlingen gav upphov till aningen mer smärta och obehag. Sammantaget hade hydrogelen i detta försök visats underlägsen en annan teknik i behandlingen av svårläkta sår. Förenligt med titeln i detta arbete var den andra behandlingsmetoden larvterapi (Mudge et al., 2014).

Larvterapi

Larvterapins historia

Under första världskriget upptäckte en läkare vid namn William S. Baer fluglarvernas debriderande och rengörande förmåga. Två soldater med benskador låg ute på ett fält, oförmögna att röra sig. Utan varken skydd mot vädret, mat och vatten så överlevde de sju dagar tills räddningen kom. Männens allmäntillstånd förbryllade Baer då de endast visade tecken på svält och törst. Förklaringen var hundratals fluglarver som kröp runt i köttsåren på männen. Efter snabb bortsköljning av larverna bemöttes Baer med en vacker, rosa granulationsvävnad – helt i motsats till den nekrotiska och varfyllda vävnad han hade förväntat sig. Bakteriekodlingar visade endast på ofarliga mängder av *Staphylococcus spp.* och *Streptococcus spp.* På 1930-talet började Baer därför att förfina fluglarvsbehandlingen av sår (Baer, 2011). Fluglarverna användes flitigt av många läkare i USA och Kanada under många år (Robinson, 1935) men med massframställningen av penicillin i början av 1940-talet (Chain, 1940) glömdes larverna bort. Det var inte förrän på 90-talet som fluglarven började användas igen, främst på grund av den allt mer uttalade antibiotikaresistensen (Nigam et al., 2006b).

Typ av larv

Fluglarven som används mest idag är av arten *Lucilia sericata*, den gröna spyflugan. Det är en vanligt förekommande spyfluga som trivs i varma och fuktiga klimat, Sverige inkluderat. I naturen lägger honan larverna i kött, fisk, infekterade sår och avföring. Larverna är fakultativa parasiter vilket betyder att de helst livnär sig på ruttnande vävnad. Just den egenskapen är essentiell när man vill använda larverna i terapeutiskt syfte, alltså för att bli kvitt den döda, nekrotiska vävnaden hos något levande samtidigt som man vill bevara det som är friskt (Valachova et al., 2014).

Larverna söker sig till mörker, vilket gör dem vida överlägsna i behandling av djupa, smala sår där en kirurgisk debridering med skalpell är svår eller rent av omöjlig att utföra utan att påverka frisk vävnad (Nigam et al., 2006a). Ytterligare en fördel är att larverna klarar av miljöer både med och utan mikrober (Wolff and Hansson, 2005).

Lucilia sericata används också för att spyflugan lägger ägg, som i sig själva är lättare att desinficera än larver (Wolff and Hansson, 2005).

Egenskaper hos larven

Larvterapi kan användas som behandling till alla purulenta och nekrotiska hudsår. Plats på kroppen eller etiologi spelar ingen större roll (Mumcuoglu, 2001). Metoden har använts för att behandla bl.a. pannikulit (inflammation i underhuds fett) på åsna (Bell and Thomas, 2001), osteomyelit, diabetiska fotsår, trycksår, venösa bensår och amputationssår på människa (Mumcuoglu, 2001; Schultz et al., 2003) samt diverse traumatiska, svårålkta sår på smådjur och häst (Sherman et al., 2007b, 2007a).

Larvterapi verkar genom tre olika funktioner: debridering, stimulering av läkning och desinficering. Av dessa tre är debridering mest studerad (Sherman, 2002).

Debridering

Debridering med larver sker både mekaniskt och kemiskt. Mekanisk borttagning av nekrotisk vävnad sker då larverna skrapar loss vävnad med hårda utväxter på deras kroppar medan de kryper runt i såret. I käften har de ”munkrokar” som de använder för att ta sig fram och undersöka alla små vinklar och vrån efter föda (Sherman, 2014).

Den kemiska debrideringen sker då larverna utsöndrar sina matsmältningsenzymer i sårbedden. Därför kan man säga att digestionen av vävnaden börjar redan innan larverna börjat äta av vävnaden. I en översiktsartikel av Ronald A. Sherman, 2014 är det beskrivet att de proteolytiska enzymerna som larverna utsöndrar till stor del består av ett flertal olika MMPs, men också DNAs som kan bryta ner både humant och mikrobiellt DNA. DNAs förhindrar mikrobiell tillväxt och bildandet av biofilm.

En av MMPs är ett kymotrypsin som sköter nedbrytandet av kollagen, laminin och fibronectin – viktiga komponenter i ECM. Kymotrypsinet från *Lucilia sericata* liknar de från människa och nötkreatur med det viktiga undantaget att larv-kymotrypsinet behåller den debriderande funktionen i sårskorpor. En studie proklamerar att detta enzym har potential att utvecklas till

ett fristående debrideringsmedel då framställning ur larvsekret varit framgångsrik (Telford et al., 2010).

Desinficering

För att få ett sår att läka måste man även få bukt med pågående infektioner i såret. Detta kan man ana att larverna är bra på då de normalt sett lever på ruttet kött. I en översiktsartikel av Vijayata Choudhary m. fl. står det att larverna gör detta genom att höja pH, äta upp död vävnad (substrat för bakterierna), utsöndra antimikrobiella substanser samt förtära själva bakterierna. Ett högt pH i såret blir det genom att larverna utsöndrar bikarbonat som hämmar bakterietillväxten (Choudhary et al., 2016).

Ibland bildas biofilmer på levande vävnad men även på andra ytor, t.ex. implantat eller spikar och plattor som stabiliserar frakturer. En biofilm består av många olika bakterier som lever trångt på liten yta. De signalerar varandra till att bilda en film av proteiner och polysackarider, ett extracellulärt matrix, som skyddar bakterierna från världens immunsystem och antibiotika. Detta är ett stort problem i kroniska sår. Turligt nog är larverna bra på att förstöra skyddande biofilmer. Det gör de mekaniskt genom att, igen, bara röra på sig i såret och ”skrubba” bort biofilmer. Det har även visats att det sker en utsöndring av biofilmshämmare mot *Staphylococcus aureus* och *Pseudomonas aeruginosa* (Sherman, 2014).

En stor del av den antimikrobiella aktiviteten sker utanför larverna men även inuti dem. Många typer av bakterier avdödas i magen på larverna, t.ex. *Escherichia coli* (Lerch et al., 2003). I magtarmsystemet på larverna finns höga halter av fenylättiksyra och fenylacetaldehyd, två antibakteriella substanser som produceras av den symbiotiska bakterien *Proteus mirabilis* (Erdmann, 1986). Larven utsöndrar ett flertal substanser som visats effektiva mot många antibiotikaresistenta bakterier, däribland MRSA (Sherman, 2014).

MRSA & Lucilia sericata

MRSA står för meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* och är ett välkänt problem världen över. *S. aureus* är en kommensal på huden hos 30% av befolkningen men blir patogen först då den kommer in i ett sår i huden. Utbudet på tillgängliga och effektiva antibiotikum är skralt och fortsätter minska (Nigam et al., 2006a). Av 56 miljöprover på en djurklinik i Sverige var 22 prover positiva för *S. aureus* medan tre av dessa odlingar bar på *mecA*-genen och klassades som MRSA (Gustafsson, 2010).

I en studie har två antibakteriella substanser bekräftats utsöndras från *Lucilia sericata* med potent effekt mot MRSA (Bexfield, 2004). Yamni Nigam m. fl. beskriver ett fall där ett sår infekterat med MRSA behandlats med konventionell terapi i över 18 månader utan framgång. Tre omgångar med larver under sex dagar hade frigjort såret från all död vävnad och bakterieprovtagning visade en MRSA-prevalens på noll. Såret läkte sedan ihop utan komplikationer (Nigam et al., 2006a).

Stimulering av sårhäkning

Inducering av sårhäkning sker både biokemiskt och mekaniskt. Mekanisk stimulering sker bara av att larverna rör sig i såret och på så sätt stimulerar cellerna att frigöra tillväxtfaktorer samt

att de höjer temperaturen något. Borttagningen av biofilm, mikrober och död vävnad främjar sårhäkning genom att förkorta inflammationsfasen (Sherman, 2014).

Kemisk stimulering kommer av larvens sekret och exkretion. Utsöndring av allantoin främjar sårhäkning genom att reglera det inflammatoriska svaret och stimulering av fibroblasternas proliferation och ECM produktion (Araújo et al., 2010). Sekretet från *Lucilia sericata* har visats sänka produktionen och utsöndring av pro-inflammatoriska faktorer från neutrofiler utan att påverka varken fagocytos eller apoptos (Pecivova, 2008). Vidare har sekretet även bevisats få neutrofiler och monocyter att gå från den pro-inflammatoriska fasen till den angiogeniska fasen (van der Plas et al., 2009). På humansidan har man upptäckt att larvens sekret hämmar komplementaktivering med 99,9% genom att bryta ner viktiga komplementproteiner. Opassande komplementaktivering kan leda till vävnadsskada då kedjereaktionen främjar den inflammatoriska responsen (Cazander et al., 2012).

I en experimentell studie där man orsakade andra gradens brännskador hos råttor för att sedan behandla de med larvsekret upptäckte man en kemisk förening kallad MAE-P6. MAE-P6 visade sig ha en antibakteriell, antioxidativ och anti-inflammatorisk effekt på råttornas brännskador. Föreningen sänkte halterna av TNF- α och IL-6 samtidigt som den höjde uttrycket av VEGF. Alltså hämmades inflammationen samtidigt som angiogenes och kärlpermeabilitet främjades (Bian et al., 2017).

Framställning och applicering av sterila larver samt behandling

I framställningen av sterila larver ingår borttagning av döda ägg och desinficering av friska ägg med 0.25% kloramin i totalt 1,5 timmar. Äggen lägger spyflugorna i speciella burar vid en till två veckors ålder. De desinficerade äggen placeras sedan i sterila flaskor preparerade med föda som ska efterlikna vävnad (nyttiga köttbuljonger och agar). Flaskorna hålls i rumstemperatur i ett dygn medan provsvar på lyckad desinficering inväntas. De sterilt framtagna larverna kan förvaras i 4°C i fem dagar i väntan på applicering (Wolff and Hansson, 2005).

I en översiktsartikel av James A. Orsini är det beskrivet hur man i flertalet behandlingar gått tillväga i appliceringen av larver i nekrotiska osteomyeliter på häst. Då har man börjat med en lätt kirurgisk debridering och sköljning av såret. I de fall där kirurgiska implantat misslyckats har man tagit ut dem först. Orsini nämner också att antibiotikakur före och under larvterapi ej rekommenderas men menar sedan att det är ett område man måste forska mer på. Han pekar på en studie från 1995 där man undersökt påverkan på larverna av sju olika antibiotikum (Sherman et al., 1995). Ampicillin, ceftizoxime, clindamycin, mezlocillin och vancomycin hade ingen märkbar effekt på larverna medan gentamicin (100 ggr terapeutisk dos) och cefazolin (100 ggr terapeutisk dos) hade ihjäl 10-20% respektive 30% av larverna (Orsini, 2017; Sherman et al., 1995).

Det finns två sätt att applicera larverna på. Antingen kommer de i påsar, s.k. "BioBag" som läggs direkt i såret. Detta underlättar hantering och gör det svårare för larverna att rymma men den mekaniska debrideringen uteblir. Fritt gående larver har alltså bättre sårhäkningseffekt men gör fler rymningsförsök när de ätit klart och vill hitta en torr plats att förpupas på (Orsini, 2017). Larver löst i såret hålls på plats med ett finmaskigt nät eller bandage. Sårkanterna skyddas ett hydrokolloidalt förband som även absorberar en del av exsudatet samtidigt som det

är poröst nog att släppa in syre. En cykel av larver tar två-tre dagar. Då har larverna ökat i storlek och bör tas bort. Om såret fortfarande innehåller död vävnad kan man använda sig av flera larvcykler. I de flesta fall behövs bara en eller två cykler men ett komplext sår kan behöva upp till tio cykler (Church, 1999; Sherman et al., 2007b).

Larvterapi på djur

I en sammanställning av enkätsvar från veterinärer i USA som använde sig av larvterapi på smådjur och hästar beskrev Sherman et al. (2007) användningsområde, anledning till användningen av larverna samt resultat av behandling. Sammanställningen visade att larvterapi oftast sattes in när konventionell behandling misslyckats. Det gjordes för att effektivisera debridering, hantera infektioner, behandla svårnådda infektioner som med kirurgiska ingrepp skulle riskera skada på vitala strukturer, debridera nekrotiska vävnader som var svåra att urskilja från frisk vävnad och som ett alternativ till amputation (Sherman et al., 2007a, 2007b).

I Shermans sammanställning beskrivs bl.a. två hundar på vilka man påbörjade larvterapi i ett sista försök att förhindra amputation då konventionell behandling misslyckats att få bukt med den fortgående nekrotiska infektionen. Enligt veterinärerna som fyllde i enkäten svarade bägge hundarna mycket bra på larvbehandlingen. En hund var dock tvungen att amputera ändå. Hunden som fick ha kvar sitt ben hade fått ett trycksår av ett gips på ett framben. Två omgångar larver räddade benet från vad som, med konventionell bandagering, bedömdes gå mot en oundviklig amputation (Sherman et al., 2007b).

Enligt Shermans enkät hade larvterapi räddat livet på tre av fyra katter också. Samtliga katter stod inför avlivning men larverna sattes in som en sista utväg. Katten som dog hade sepsis innan behandling men dog efter att behandlingen börjat. En 20-årig katt med cystiskt fibrosarkom mellan skulderbladen fick två omgångar med larver p.g.a. att tumören var mycket nekrotisk och illaluktande. Nekrosen och stanken blev hanterbar men en larvbehandling varannan månad var nödvändig för underhåll. Efter sex månader avlivades katten då den var funktions- och rörelsehindrad p.g.a. tumörens storlek. Den tredje och sista beskrivna katten hade blivit biten/riven nära anus och skadat rektalslemhinnan. Såret på 2x3 cm, som behandlades med kirurgisk debridering, bredspektrumantibiotika och dagliga bandagebyten, växte i proportioner till att innefatta innerlåren, perineum upp till urethra, svansroten, och rektum. Var rann genom samtliga traumatiska öppningar. Larvterapi sattes in då man riskerade att skada urethra och blodkärl med fortsatt debridering med skalpellen. Två dagars behandling med byten av nersölade bandage två gånger dagligen gav frisk, rosa granulationsvävnad som resultat. Antibiotikakuren fortsatte i fem veckor och svansen var tvungen att amputera men katten överlevde utan bestående men (Sherman et al., 2007b).

Vidare i enkäten stod det om en sex-årig häst som hade fått en laceration proximalt på vänster bakben på grund av taggtråd. Vid upptäckten var hästen hypovolemisk med exponerad femoralartär. Blödningen lyckades stoppas först efter tre-fyra dygn. Fram tills dess hade man kirurgiskt debriderat såret samt behandlat med anti-inflammatoriska, antibiotika, blodtransfusion och hemostatika. Daglig sköljning och debridering lyckades varken läka såret eller bli kvitt odören. En vecka efter skadan inträffat påbörjades larvterapi. Hästen försökte få bort förbandet så en ställning sattes på dess hals. Förbandet togs bort efter ytterligare en vecka

trots att larverna försvunnit spårlöst efter tre dagar, enligt enkäten. Såret var väl debriderat med mycket granulationsvävnad vilket gjorde att man avslutade pågående systemisk antibiotikakur. Resultatet blev en mycket god sårhäkning och endast en mindre kvarstående häla (Sherman et al., 2007a). I sammanställningen var det också beskrivet hur larvterapi räddat en hov från en nekrotisk infektion i den navikulära bursan. Anatomiskt var infektionen svår att debridera och dränera, och systemisk behandling med antibiotika var inte effektivt. Efter tre dagar applicerade man larver. Tre dagar efter det hade såret slutat exudera. Två veckors larvterapi senare resulterade i endast hovledsartrit och lätt haltande i trav.

I smådjursenkäten från Shermans studie noterades det även en del nackdelar med larvterapi. Många tyckte att det tog för lång tid att få larverna (en-två dygn) samt att det var problematiskt att få på förbanden så att djuren inte själva kunde få av sig dem. Det senare problemet blev bättre med mer erfarenhet men i vissa fall krävdes viss sedering för applicering (Sherman et al., 2007b).

Larvterapi ses generellt som en kostnadseffektiv sårhäkningsmetod. Sherman berättar om en studie som gjorts i Storbritannien på kostnad för larvterapi kontra hydrogel i diabetiska bensår hos människa. Samtliga sår som behandlades med larver hade debriderats och läkte ihop fint på tre dagar medan hydrogelen krävde fyra veckor för att 80% av såren skulle läka ihop. Man kom fram till att Storbritannien kunde spara upp till 50 miljoner pund årligen om man behandlade endast 30% av alla svårhelade diabetiska bensår med larver (Sherman, 2009).

DISKUSSION

En snabb överblick på denna litteraturstudie ger ett överväldigande positivt intryck på larvterapi. Många av de fall och studier som beskrivits har mirakulöst räddat både liv och lem på de kära husdjuren eller givit upphov till nya insikter i larvernas helande förmåga.

Till en början var det inte känt vilka mekanismer och cytokiner som var relevanta i sårhäkningsprocessen kontra larvterapi. Därför kan mycket av materialet i avsnittet om sårhäkningsprocessen nu i efterhand kännas överflödigt. Dock finns det en del saker av intresse.

MAE-P6 föreningen som upptäcktes så sent som förra året verkar vara en viktig komponent i larvernas sekret. Föreningen sänkte halterna av de pro-inflammatoriska mediatorerna TNF- α och IL-6 (Bian et al., 2017) vilka bl.a. ger upphov till cytotoxiska M1-makrofager respektive Th1-svar. Därmed fås en hämmad inflammation och mindre vävnadsskada (Zhang and Mosser, 2008). MAE-P6 höjde även halten VEGF vilket främjar nybildningen av kärl och ökad kärlpermabilitet så att fler makrofager, fibroblaster och glatta muskelceller kan migrera till såret (Bian et al., 2017). Om samma sak gäller för larv-kymotrypsinet som för MAE-P6 kanske det finns möjlighet att utvinna MAE-P6 ur larven och använda som enskild inflammationssänkare. Som Telford et al. (2010) menar finns det potential att utvinna effektiva behandlingsmedel ur larvernas sekret. Förutsatt att utvinningsmetoden går att automatisera och standardisera kan det vara ett billigt och bra sätt att framställa debriderings- och anti-inflammatoriska medel. Möjligtvis kan det öka larvens nytta ytterligare då de har ett kort bäst före datum på lagerhyllan och måste på något sätt användas innan de svälter ihjäl eller förpuppas (Wolff and Hansson, 2005).

Att larverna är billiga och lätta att framställa är en viktig förutsättning för utvecklingsländer som kanske har det svårt ekonomiskt eller utrustningsmässigt vad det gäller inköp eller produktion av hydrogel. Enligt den brittiska studien så kunde man spara stora summor pengar om man bytte ut larvterapi mot hydrogel i vissa behandlingar (Sherman, 2009). Kostnaden plus den relativt enkla utrustningen som krävs för att producera de sterila äggen kan ge varma, fuktiga, och fattiga länder en bättre välfärd, både på djur- och människosidan.

En utökad användning av larverna skulle även ha positiva effekter på resistensutvecklingen. Just i den aspekten håller konventionella metoder på att dö ut, eller kanske snarare alla människorna och djuren. MRSA är ett verkligt hot som ökar i utbredning och dödlighet. Inom några år kommer antibiotika inte bita alls längre (Ventola, 2015). Med larvterapi, i alla fall i kroniskt infekterade sår, skulle man kunna skära ner på mycket av den onödiga antibiotikaanvändningen och dessutom läka sår snabbare. Kanske skulle det även vara möjligt att utvinna de två antibakteriella substanserna som larven utsöndrar för användning mot MRSA istället för traditionella antibiotikapreparat (Bexfield, 2004).

Ett oroväckande faktum är den symbiotiska bakterien *Proteus mirabilis* som lever i tarmen på larven av *Lucilia sericata*. Den bakterien producerar två antibakteriella substanser som verkar på MRSA men man kan tänka sig att det finns en möjlighet att *P. mirabilis* resistens mot dess produkter fenylättiksyra och fenylacetaldehyd förs över till t.ex. *E. coli* eller MRSA. Då skulle man halka tillbaka till ruta ett gällande resistensutveckling. Om det här är en möjlighet bör man införa fasta riktlinjer om när det är försvarbart att använda sig av larver, liknande de som finns för antibiotika (Erdmann, 1986).

Studier om enskilda ingredienser i larvens sekret-cocktail är ett steg i rätt riktning men det finns många steg kvar att ta. Flera av författarna till artiklarna har nämnt att studier som handlar om själva larvterapin finns det lite av, och än mindre på djursidan. Studien Mudge ledde 2014 som direkt jämförde hydrogelet Purilon mot larver föregår med gott exempel. Själva behandlingen och resultatet av behandlingen visar att larvterapi slår en typ av konventionell behandling. Dock står det att patienterna hade mer ont när de fick larvterapi än när de behandlades med hydrogel (Mudge et al., 2014). Dessutom använde man bara en typ av hydrogel, och som sagt så finns det mängder av hydrogelpreparat redo att appliceras på ett ögonblick. Trots att det är en robust studie med tillförlitliga resultat då studien baseras på slumpade försök och kontrollgrupper (Campbell, 2006) är det fortfarande intressant vad resultatet hade blivit om de testat några olika hydrogeler.

Sådana kvantitativa studier var svåra att hitta, vilket förklarar mängden enskilda och anekdotiska fall i arbetet. De ger ingen som helst statistiskt signifikans för effektiv behandling var för sig men ihop kan man ana ett mönster. Larvterapi sätts in som en sista chans, efter konventionell behandling, för att behålla en lem eller t.o.m. för överlevnad. Det är sällan den primära behandlingen. I Shermans enkät syns detta tydligt. Hade veterinärerna haft mer information om larvterapi och påbörjat den behandlingen direkt kanske samtliga djur överlevt eller fått behålla sina ben eller helt enkelt sluppit onödigt lidande (Sherman et al., 2007b, 2007a).

En till sak värt att notera i enkäten var att veterinärerna upplevde svårigheter i att applicera larverna rätt och få dem att stanna där under durationen av behandlingen (Sherman et al., 2007b). Det problemet är inte lika stort för hydrogel då det är en metod som används ofta (Campbell, 2006). Man skulle även kunna tänka sig att djurägarna är skeptiska till att låta sitt djur undergå en till synes motbjudande behandling såvida det inte är sista utvägen. Dessa två teknikaliteter kan vara en bidragande faktor till att larvterapi används i den blyga utsträckning som den gör.

När det kommer till debrideringen av nekrotiska, purulenta sår är larvterapi den självutnämnda vinnaren (Mumcuoglu, 2001). Studien av Mudge bekräftar detta men bara genom att studera alla de verkningsmekanismer som larverna för med sig till bordet i jämförelse med hydrogel så kan man göra en kvalificerad gissning. Hydrogel debriderar nekrotisk vävnad genom att luckra upp den och göra den enkel att ta bort kirurgiskt (Campbell, 2006). Larverna fungerar som små kemiska torpeder som först löser upp vävnaden med enzymer för att sedan gnaga loss material med munkrokarna och hårdheterna på kroppen. Räckvidden i djupa smala sprickor och precisionen nära vitala strukturer är också betydligt bättre med larvterapi. Även biofilmer löses upp med larverna (Sherman, 2014; Telford et al., 2010). I detta avseendet är de oslagbara.

Genom sin fuktighet så stimulerar hydrogel till fibroblastaktivitet. (Campbell, 2006). Larver stimulerar direkt sårsläkning genom att röra sig i såret, höja temperaturen, utsöndra anti-inflammatoriskt sekret (Bian et al., 2017; Pecivova, 2008; Sherman, 2014). Även här skiner larverna med sin breda repertoar av verkningsmekanismer.

För att sammanfatta diskussionen så är larvterapi en kraft att räkna med och den är på uppgång, mest för att vi går in i en ”post-antibiotic era” (Ventola, 2015). Möjligheterna för denna ”gamla men nya” behandlingen är stora och det ska bli spännande att se vart det landar. Innan nåt händer alls krävs det dock fortsatta studier och rättvisa jämförelser med andra sårsläkningsmetoder innan det går att säga med 100% säkerhet att larvterapi är antibiotikans efterträdare gällande svårsläkta sår.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Araújo, L.U., Grabe-Guimarães, A., Mosqueira, V.C.F., Carneiro, C.M., Silva-Barcellos, N.M., 2010. Profile of wound healing process induced by allantoin. *Acta Cirurgica Brasileira* 25, 460–461. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502010000500014>
- Baer, W.S., 2011. The Classic: The Treatment of Chronic Osteomyelitis With the Maggot (Larva of the Blow Fly). *Clinical Orthopaedics and Related Research* 469, 920–944. <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1416-3>
- Beldon, P., 2010. Basic science of wound healing. *Surgery-Oxford International Edition* 28, 409–412.
- Bell, N.J., Thomas, S., 2001. Use of sterile maggots to treat panniculitis. *The Veterinary Record*.
- Bexfield A., Nigam Y., Thomas S., Ratcliffe N.A., 2004. Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbes Infect*; 6:1297–304
- Bian, H., Yang, Q., Ma, T., Li, W., Duan, J., Wei, G., Wu, X., Mu, F., Lin, R., Wen, A., Xi, M., 2017. Beneficial effects of extracts from *Lucilia sericata* maggots on burn wounds in rats. *Molecular Medicine Reports* 16, 7213–7220. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7566>
- Campbell, B.G., 2006. Dressings, Bandages, and Splints for Wound Management in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 36, 759–791. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2006.03.002>
- Cazander, G., Schreurs, M.W.J., Renwarin, L., Dorresteyn, C., Hamann, D., Jukema, G.N., 2012. Maggot excretions affect the human complement system: Maggot excretions affect complement activation. *Wound Repair and Regeneration* 20, 879–886. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2012.00850.x>
- Chain, E., Florey, H.W., Gardner, A.D., Heatley, H.G., Jennings, M.A., Orr-Ewing, J., et al. Penicillin as a chemotherapeutic agent. *Lancet* 1940; 2:226–8.
- Chaponnier, C., Desmoulière, A., Gabbiani, G., 2006. Tissue Repair, Contraction and the Myofibroblast. Springer US, Boston, MA. <https://doi.org/10.1007/0-387-33650-8>
- Choudhary, V., Choudhary, M., Pandey, S., Chauhan, V.D., Hasnani, J.J., 2016. Maggot debridement therapy as primary tool to treat chronic wound of animals. *Veterinary World* 9, 403–409. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.403-409>
- Church, J.C.T., 1999. Larva therapy in modern wound care: a review. *Primary Intention* 7, 63–68.
- Clark, R.A., 2001. Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences* 936, 355–367.
- Diegelmann, R.F., Evans, M.C., 2004. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 9, 283–289.
- Erdmann, G.R., Khalil, S.K.W., 1986. Isolation and identification of two antibacterial agents produced by a strain of *Proteus mirabilis* isolated from larvae of the screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) (Diptera: Calliphoridae), *Journal of Medical Entomology*, vol.23, no. 2, pp. 208–211.
- Erzinclioglu Z. The biology of blowflies. *Naturalist's Handbook 23: Blowflies Slough*. England: Richmond Publishing Co. Ltd, 1996
- Funes, S.C., Rios, M., Escobar-Vera, J., Kalergis, A.M., 2018. Implications of macrophage polarization in autoimmunity. *Immunology*. <https://doi.org/10.1111/imm.12910>

- Gill, S., Parks, W., 2008. Metalloproteinases and their inhibitors: Regulators of wound healing. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 40, 1334–1347. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.10.024>
- Gilmore MA. Phases of wound healing. *Dimens Oncol Nurs*. 1991. 5(3):32-4.
- Gordon, S., Martinez, F.O., 2010. Alternative Activation of Macrophages: Mechanism and Functions. *Immunity* 32, 593–604. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.05.007>
- Gurtner, G.C., Werner, S., Barrandon, Y., Longaker, M.T., 2008. Wound repair and regeneration. *Nature* 453, 314–321. <https://doi.org/10.1038/nature07039>
- Kim, W. J., Gittes, G. K., and Longaker, M. T., Signal transduction in wound pharmacology, *Arch Pharm Res*, 21, 487 (1998)
- Kindahl, Ingrid. 2017. Fluglarverna – veterinärens bästa vänner? *VeterinärMagazinet* 10 (3): 6-11.
- Laskin, D.L., Sunil, V.R., Gardner, C.R., Laskin, J.D., 2011. Macrophages and Tissue Injury: Agents of Defense or Destruction? *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 51, 267–288. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105812>
- Lee, W.-F., Chen, Y.-C., 2005. Effect of intercalated reactive mica on water absorbency for poly(sodium acrylate) composite superabsorbents. *European Polymer Journal* 41, 1605–1612. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.02.011>
- Lerch, K., Linde, H.-J., Lehn, N., Grifka, J., 2003. Bacteria Ingestion by Blowfly Larvae: An in vitro Study. *Dermatology* 207, 362–366. <https://doi.org/10.1159/000074115>
- Lovvorn III, H. N., Cheung, D.T., Nimni, M.E., Perelman, N., Estes, J.M., Adzick, N.S., 1999. Relative distribution and crosslinking of collagen distinguish fetal from adult sheep wound repair. *J. Pediatr. Surg.* 34, 218–223.
- Manfredi, A.A., Ramirez, G.A., Rovere-Querini, P., Maugeri, N., 2018. The Neutrophil's Choice: Phagocytose vs Make Neutrophil Extracellular Traps. *Frontiers in Immunology* 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00288>
- Mudge, E., Price, P., Neal, W., Harding, K.G., 2014. 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: RCT of larval therapy for leg ulcer debridement. *Wound Repair and Regeneration* 22, 43–51. <https://doi.org/10.1111/wrr.12127>
- Mumcuoglu, K. Y., 2001. Clinical Applications for Maggots in Wound Care: *American Journal of Clinical Dermatology* 2, 219–227. <https://doi.org/10.2165/00128071-200102040-00003>
- Nathan, C., 2006. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature Reviews Immunology* 6, 173–182. <https://doi.org/10.1038/nri1785>
- Nigam, Y., Bexfield, A., Thomas, S., Ratcliffe, N.A., 2006. Maggot Therapy: The Science and Implication for CAM Part I—History and Bacterial Resistance. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 3, 223–227. <https://doi.org/10.1093/ecam/nel021>
- Pecivova, J., Macickova, T., Takac, P., Kovacsova, M., Cupanikova, D., Kozanek, M., 2008. Effect of the extract from salivary glands of *Lucilia sericata* on human neutrophils. *Neuroendocrinology Letters*, vol. 29, pp.794–797.
- Robinson W., 1935. Stimulation of healing in non-healing wounds by allantoin in maggot secretions and of wide biological distribution. *J Bone Joint Surg* 17:267–71

- Schultz, G.S., Barillo, D.J., Mozingo, D.W., Chin, G.A., 2004. Wound bed preparation and a brief history of TIME. *International wound journal* 1, 19–32.
- Schultz, G.S., Sibbald, R.G., Falanga, V., Ayello, E.A., Dowsett, C., Harding, K., 2003. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. *Wound Repair and Regeneration* 11, 1–28
- Serhan, C.N., Chiang, N., Van Dyke, T.E., 2008. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology* 8, 349–361.
<https://doi.org/10.1038/nri2294>
- Shah, J.B., 2011. The History of Wound Care. *The Journal of the American College of Certified Wound Specialists* 3, 65–66. <https://doi.org/10.1016/j.jcws.2012.04.002>
- Sherman, R.A., Morrison, S., Ng, D., 2007. Maggot debridement therapy for serious horse wounds – A survey of practitioners. *The Veterinary Journal* 174, 86–91.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.05.012>
- Sherman, R.A., Stevens, H., Ng, D., Iversen, E., 2007. Treating wounds in small animals with maggot debridement therapy: A survey of practitioners. *The Veterinary Journal* 173, 138–143.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.11.006>
- Sherman, R.A., Wyle, F.A., Thrupp, L., 1995. Effects of Seven Antibiotics on the Growth and Development of *Phaenicia sericata* (Diptera: Calliphoridae) Larvae. *Journal of Medical Entomology* 32, 646–649. <https://doi.org/10.1093/jmedent/32.5.646>
- Sherman, R.A., 2009. Maggot therapy takes us back to the future of wound care: new and improved maggot therapy for the 21st century. *Journal of diabetes science and technology* 3, 336–344.
- Sherman R.A. 2002. Maggot versus conservative debridement therapy for the treatment of pressure ulcers. *Wound Repair Regen*;10:208–14.
- Stamatialis, D.F., Papenburg, B.J., Gironés, M., Saiful, S., Bettahalli, S.N.M., Schmitmeier, S., Wessling, M., 2008. Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering. *Journal of Membrane Science* 308, 1–34.
<https://doi.org/10.1016/j.memsci.2007.09.059>
- Telford, G., Brown, A.P., Seabra, R.A.M., Horobin, A.J., Rich, A., English, J.S.C., Pritchard, D.I., 2010. Degradation of eschar from venous leg ulcers using a recombinant chymotrypsin from *Lucilia sericata*: Recombinant maggot chymotrypsin degrades wound eschar. *British Journal of Dermatology* 163, 523–531. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09854.x>
- Valachova, I., Bohová, J., Kozanek, M., Takac, P., Majtan, J., 2014. *Lucilia sericata* medicinal maggots: A new source of antimicrobial compounds. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*. Spain: FORMATEX 1745–53.
- van der Plas, M.J.A., van Dissel, J.T., Nibbering, P.H., 2009. Maggot Secretions Skew Monocyte-Macrophage Differentiation Away from a Pro-Inflammatory to a Pro-Angiogenic Type. *PLoS ONE* 4, e8071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008071>
- Ventola, C.L., 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics* 40, 277.
- Wilgus, T.A., Roy, S., McDaniel, J.C., 2013. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions. *Advances in Wound Care* 2, 379–388.
<https://doi.org/10.1089/wound.2012.0383>

- Wolff, H., Hansson, C., 2005. Rearing Larvae of *Lucilia sericata* for Chronic Ulcer Treatment – an Improved Method. *Acta Dermato-Venereologica* 85, 126–131.
<https://doi.org/10.1080/00015550510025533>
- Zhang, X., Mosser, D., 2008. Macrophage activation by endogenous danger signals. *The Journal of Pathology* 214, 161–178. <https://doi.org/10.1002/path.2284>