

Use of *Lucilia sericata* blowfly maggots in the treatment of diabetic feet threatened with amputation

Zastosowanie jałowych larw muchy plujki *Lucilia sericata* w leczeniu chorych z zagrożoną amputacją stopą cukrzycową

Grzegorz Jarczyk¹, Marek Jackowski¹, Krzysztof Szpila², Grażyna Boszek¹, Sławomir Kapelaty³

¹Department of General, Gastroenterological and Oncological Surgery in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Poland (Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Onkologicznej w Toruniu, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu)

²Faculty of Biology and Earth Sciences, Institute of Ecology and Environmental Protection, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Poland (Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Instytut Ekologii i Ochrony Środowiska, Zakład Ekologii Zwierząt, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu)

³Department of Radiology, District Hospital in Toruń, Poland (Zakład Diagnostyki Obrazowej, Wojewódzki Szpital Zespolony w Toruniu)

Abstract

Background. The treatment of diabetic foot lesions is performed by any member of an interdisciplinary team of physicians including diabetes specialists, podiatrists, nurses and surgeons. *Lucilia sericata* blowfly maggots effectively help the surgeon. The aim of the study was to evaluate treatment results in cases of patients at risk of diabetic foot amputation following larval therapy using sterile *Lucilia sericata* maggots.

Material and methods. Four patients with diabetes mellitus at risk of lower leg amputation due to diffuse diabetic foot ulcerations were subjected to larval therapy. Three of the patients were additionally diagnosed with atherosclerosis of the lower legs. The study group comprised 1 female and 3 male patients, aged between 56 and 75 years. The ulcerations prior to the examination were present for a period of 2 to 9 months. The type and degree of vascular insufficiency of the lower legs was evaluated on the basis of Doppler ultrasound examinations with the determination of the ankle/brachial index. *Lucilia sericata* blowfly maggots were placed in the wound, 10 for every 1 cm², and left for a period of 2–3 days. The external part of the dressing was changed 2–3 times every day. Before and after treatment, wound swabs were collected for bacteriological examination, in addition to photographic documentation.

Results. The surface of the wounds subjected to larval therapy, ranged between 14 and 139 cm², mean — 47cm². The maggots were applied three times in one case, four times in two cases, and five times in the case of one patient. Three of the ulcerations were debrided from necrotic tissue in 76.5%, 73.2% and 56.8%, respectively. These good biosurgical treatment results protected patients from the risk of high limb amputations. In the case of one patient, the wounds were not cleansed and the limb was amputated. Thus, best treatment results were obtained in the case of the patients without lower limb atherosclerosis.

Conclusions. The use of sterile *Lucilia sericata* blowfly maggots in the treatment of diabetic feet leads towards rapid and effective debridement of ulcerations, enabling the extremity to be saved.

Key words: larval therapy, diabetic foot

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr med. Grzegorz Jarczyk
ul. Mickiewicza 114a/19, 87–100 Toruń
tel: +48 (56) 610 12 03, 601 319 855, fax: +48 (56) 654 40 54
e-mail: gjarczyk@mp.pl

Streszczenie

Wstęp. Leczeniem zmian w obrębie stopy cukrzycowej z założenia zajmuje się zespół interdyscyplinarny, w skład którego wchodzi: diabetolog, podiatra, protetyk, pielęgniarka i chirurg, przy czym pielęgniarka i chirurg mogą w pracy skutecznie wykorzystać larwę muchy plujki *Lucilia sericata*. Celem pracy była ocena wyników leczenia po zastosowaniu jałowych larw muchy plujki *Lucilia sericata* u chorych ze stopą cukrzycową zagrożonych amputacją.

Material i metody. U 4 chorych na cukrzycę, zagrożonych amputacją kończyny z powodu rozległego owrzodzenia stopy cukrzycowej, zastosowano leczenie larwalne. U 3 osób dodatkowo stwierdzono zaawansowaną miażdżycę kończyn dolnych. W grupie była 1 kobieta i 3 mężczyzn w wieku 56–75 lat. Czas trwania owrzodzeń przed badaniem wynosił 2–9 miesięcy. Rodzaj i stopień niewydolności naczyniowej w obrębie kończyn dolnych oceniano na podstawie dopplerowskiego badania USG oraz określając wartość wskaźnika kostka–ramię. W ranie umieszczano larwy w liczbie ~ 10 na 1 cm² i pozostawiano je na okres 2–3 dni. Zewnętrzną część opatrunku zmieniano 2–3 razy dziennie. Przed leczeniem i po jego zakończeniu pobierano z rany wymaz na badanie bakteriologiczne i sporządzano dokumentację fotograficzną ran.

Wyniki. Powierzchnia ran poddanych leczeniu larwalnemu wynosiła 14–139 cm², średnio — 47 cm². Czerwie zaaplikowano 3-krotnie w 1 przypadku, 4-krotnie w 2 i 5-krotnie w przypadku 1 rany. Trzy owrzodzenia oczyszczono z martwiczej tkanki w 76,5%, 73,2% i 56,8%. Te dość dobre wyniki leczenia biochirurgicznego uchroniły 3 pacjentów przed zagrażającą wysoką amputacją. U jednego pacjenta rany nie oczyszczono i kończynę amputowano. Ostatecznie najlepsze wyniki leczenia osiągnięto u pacjenta nieobciążonego miażdżycą kończyn dolnych.

Wnioski. Zastosowanie jałowych larw muchy plujki *Lucilia sericata* w leczeniu stopy cukrzycowej prowadzi do szybkiego i skutecznego oczyszczenia owrzodzenia i stwarza szansę na uratowanie kończyny.

Słowa kluczowe: leczenie larwalne, stopa cukrzycowa

Acta Angiol 2008; 14: 42–55

Introduction

In developed countries, nearly 15% of patients with diabetes mellitus are hospitalized due to diabetic feet. In the case of 15–25% of these patients, amputations are required [1]. Improvement of results might be observed after the introduction of larval therapy. The use of maggots in the treatment of wounds has been known for many years [2]. The American William Baer established the scientific basis of bio-surgical treatment after experience gained during World War I. During the above-mentioned period larval therapy was applied in many hospitals in the United States, Canada and Europe [3, 4]. In the latter half of the 20th century, due to the development of antibiotics and progress in the surgical debridement of wounds, larval therapy was forgotten. In recent years the issue of biosurgical treatment arose once again, being published in numerous acknowledged scientific journals. According to many authors, larval therapy based on modern technology can improve treatment results with regard to chronic wounds, including diabetic ulcerations [5–8].

Wstęp

W krajach uprzemysłowionych niemal 15% chorych na cukrzycę przynajmniej raz przebywa w szpitalu z powodu stopy cukrzycowej, w tym u 15–25% leczenie kończy się amputacją [1]. Poprawy wyników można oczekiwać po szerszym wprowadzeniu do leczenia terapii larwalnej. Zastosowanie czerwi w leczeniu ran nie jest niczym nowym i ma swoją długą historię [2]. Jednak dopiero Amerykanin William Baer, po doświadczeniach z okresu I wojny światowej, stworzył naukowe podstawy leczenia biochirurgicznego. Za jego sprawą terapię larwalną stosowało w tamtym okresie wiele szpitali w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie i Europie [3, 4]. W drugiej połowie XX wieku, w związku z rozwojem antybiotykoterapii i postępami w chirurgicznym opracowaniu ran o leczeniu larwalnym zapomniano. W ostatnich latach temat leczenia biochirurgicznego pojawił się ponownie na łamach uznanych czasopism naukowych. Według licznych autorów współczesne leczenie larwalne, oparte na nowoczesnej technologii, może wpłynąć na poprawę wyników terapii przewlekłych ran, w tym owrzodzeń cukrzycowych [5–8].

Material and methods

During the period between 15.02 and 4.03.2007, four patients with insulin-dependent diabetes mellitus were subjected to larval therapy, following extensive and infected foot ulcerations. The stage and extension of the lesions meant that limb amputation was a serious threat. In the case of three patients with concomitant advanced atherosclerosis, amputation at thigh level was looked into, while in the fourth patient with a coexisting gangrenous foot, although without atherosclerosis, amputation at the level of the lower limb was considered. The study group comprised one female and three male patients, aged between 56 and 75 years (mean age — 63 years). The ulcerations prior to the examination were present for a period of 2 to 9 months (mean — 5 months). The type and degree of vascular insufficiency of the lower legs was evaluated on the basis of Doppler ultrasound examinations with the determination of the ankle/brachial index. The ultrasound examination of the lower limb vessels was performed by means of the B presentation imaging method with colour and power Doppler. GE Logiq Expert apparatus were used with 3.5 and 12 Mhz probes. Patency and degree of arterial stenosis, as well as the spectra and velocity of blood flow were evaluated. The stage of the lesions was determined on the basis of the University of Texas, San Antonio Wound Classification System, which considered the depth of the wound, limb vascularization and the presence of infection [9].

Biosurgical treatment was undertaken in hospital conditions at the Chair and Department of General, Gastroenterological and Oncological Surgery, Toruń. Sterile *Lucilia sericata* maggots (LarvE) were obtained from the ZooBiotic Welsh company functioning via the Princess of Wales Hospital in Bridgend. Vials containing 300, 2–3 mm maggots were secured from accidental opening, and had filters which enabled the maggots to breathe while protecting them against the intrusion of external pathogens. All the maggots survived transport and the entire period of treatment. A hydrocolloid platelet in the shape of the wound, protecting the surrounding skin from the digesting enzymes, infected exudate and maggots, constituted the base of the larval dressing. The maggots from the container were subjected to lavage using physiological saline, onto a sterile, small nylon mesh, which was turned over placing the larvae inside the wound. The edges of the mesh were glued to the hydrocolloid dressing using a waterproof, self-adhesive tape. Thus, a small cage was created comprising the maggots within the wound. Such dressings enabled the larvae to breathe and allowed proper drainage (Figure 1B). The

Material i metody

W okresie 15.02–4.03.2007 r. 4 chorych na cukrzycę typu 2 (insulinoterpia) poddano leczeniu larwalnemu z powodu rozległych, zakażonych owrzodzeń stóp. Stopień zaawansowania zmian oraz szerzenie się zakażenia na całą stopę groziły amputacją kończyny. U 3 osób ze względu na współistniejącą, zaawansowaną miażdżycę kończyn dolnych rozpatrywano amputację na poziomie uda, u czwartego pacjenta, z zagrażającą zgorzelą stopy i nieobciążonego miażdżycą, na podudziu. Wśród pacjentów była 1 kobieta i 3 mężczyźni w wieku 56–75 lat (śr. 63 lata). Czas trwania owrzodzeń przed badaniem wynosił 2–9 miesięcy (śr. 5 miesięcy). Rodzaj i stopień niewydolności naczyniowej w obrębie kończyn dolnych oceniano na podstawie badania ultrasonograficznego i określając wartość wskaźnika kostka–ramię. Badanie USG tętnic kończyn dolnych wykonano metodą obrazowania w prezentacji B, z zastosowaniem przepływu kodowanego kolorem i doplera mocy, aparatem GE Logiq 5 Expert, używając głowic 3,5 i 12 Mhz. Oceniano drożność i stopień zwężenia tętnic oraz spektra i prędkości przepływu krwi. Stopień zaawansowania zmian w obrębie stóp określono zgodnie z *University of Texas San Antonio Wound Classification System*, który uwzględnia głębokość rany, ukrwienie kończyny i obecność zakażenia [9].

Leczenie biochirurgiczne przeprowadzono w warunkach szpitalnych, w Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Onkologicznej w Toruniu (Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu). Jałowe larwy muchy plujki *Lucilia sericata*, o nazwie handlowej LarvE, zakupiono od walijskiej firmy ZooBiotic działającej przy Princess of Wales Hospital w Bridgend. Fiolki zawierające po 300 2–3-milimetrowych larw (czerwi) zabezpieczono przed przypadkowym otwarciem, posiadały one filtry, które umożliwiały larwom oddychanie i chroniły je przed wtargnięciem drobnoustrojów z zewnątrz. Wszystkie czerwie przeżyły zarówno transport, jak i cały okres leczenia. Podstawę opatrunku larwalnego stanowiła wycięta centralnie w kształcie rany hydrokoloidowa płytką zabezpieczająca otaczającą skórę przed trawiącymi enzymami, zakażonym wysiękiem i larwami. Czerwie z pojemnika transportowego wypłukiwano roztworem soli fizjologicznej na jałową, drobną, nylonową siatkę, którą odwracano, umieszczając larwy w obrębie rany. Brzegi siatki przyklejano do opatrunku hydrokoloidowego za pomocą nieprzemakalnej, samoprzylepnej taśmy. W ten sposób tworzone małą klatkę utrzymującą czerwie w obrębie rany. Tak wykonany opatrunek umożliwiał larwom oddychanie i zapewniał właściwy drenaż (ryc. 1B). Kolejną war-

following layer of the dressing was composed of an exudate-absorbing gauze, which, after becoming soiled, was replaced without damage to the structure of the cage. A moist bandage was wrapped around the dressing to protect young maggots from exsiccation. *Lucilia sericata* blowfly maggots were placed in the wound, ten for every 1 cm², and left for a period of 2–3 days. The external part of the dressing was changed 2–3 times every day. After treatment the maggots were subjected to lavage using physiological saline, being discarded with the entire dressing into a red bag. The bag was tightly closed and placed in a second bag, which was also sealed.

Before and after treatment, wound swabs were collected for bacteriological examination, in addition to photographic documentation (digital camera). VITEC (manufactured by bioMerieux) apparatus were used for pathogen identification and antibiogram preparation (automatic method). In selected cases, the antibiograms were prepared manually. The presented study showed no evidence of anaerobic culture conditions. Images of the wounds were calibrated according to reference measures. Specific segmental algorithms were used for the determination and marking of images (program IRIS Laboratorium, Professional version with the module enabling planimetric measurements).

Based on the contamination of the wound, we estimated a so-called „debridement index” in every patient, both before and after therapy, by means of the following formula:

$$\text{Debridement index} = 100 - \frac{x_1}{x_2} \times 100$$

where:

x_1 — percentage of necrosis and purulent exudate, before treatment,

x_2 — percentage of necrosis and purulent exudate, after treatment

Systemic antibiotics were administered on the basis of culture results. Additionally, two patients were subjected to surgical wound debridement removing the gangrenous lesions, as well as bone and tendon fragments (Figure 2B).

Patients qualified for the study were informed of the nature of therapy and signed a written informed consent form. The study was approved by the Bioethical Committee.

Results

Results are shown on Figures 1 and 2.

The surface of the wounds subjected to treatment ranged between 14 and 139 cm², mean — 47 cm². From

stwę opatrunku stanowiła wchłaniająca wysięk wyściółka z gazy, którą po zabrudzeniu wymieniano bez naruszenia struktury klatki. Całość owijano wilgotnym bandażem, chroniąc młode czerwie przed wysuszeniem. W ranie umieszczano sterylne larwy w liczbie około 10 na 1 cm² i pozostawiano je na okres 2–3 dni. Zewnętrzną część opatrunku zmieniano 2–3 razy dziennie. Po leczeniu larwy wyplukiwano z rany roztworem soli fizjologicznej i wraz z całym opatrunkiem wyrzucono do czerwonego worka. Worek zamykano szczelnie i umieszczano ponownie w kolejnym zawiązywanym na węzeł worku.

Przed leczeniem i po jego zakończeniu pobierano z rany wymaz na badanie bakteriologiczne oraz sporządzano dokumentację fotograficzną ran (fotografia cyfrowa). Do identyfikacji drobnoustrojów i sporządzania antybiogramów posłużono się aparatem VITEC firmy bioMerieux (metoda automatyczna). W niektórych przypadkach antybiogramy wykonywano metodą manualną, dyfuzyjno-krążkową. W badaniu nie przeprowadzano hodowli w warunkach beztlenowych. Zdjęcia ran kalibrowano według wzorca miary. Zaznaczanie i obliczanie obiektów na obrazie realizowano według specyficznych algorytmów segmentacyjnych (program IRIS Laboratorium wersja profesjonalna z modulem pomiarów planimetrycznych).

Opierając się na wyrażonym procentowo stopniu zabrudzenia rany, u wszystkich chorych przed leczeniem i po jego zakończeniu obliczono „wskaźnik oczyszczenia” zgodnie z równaniem:

$$\text{Wskaźnik oczyszczenia} = 100 - \frac{x_1}{x_2} \times 100$$

gdzie:

x_1 — procent martwicy i wysięku ropnego przed leczeniem,

x_2 — procent martwicy i wysięku ropnego po leczeniu.

Systemową antybiotykoterapię stosowano zgodnie z wynikami posiewów. Dodatkowo u 2 chorych rany na stopie opracowano chirurgicznie, usuwając zgorzelinowo zmienione palce, fragmenty kości i ścięgien (ryc. 2B).

Pacjentów przystępujących do badania dokładnie poinformowano o istocie leczenia i wyrazili oni na nie pisemną zgodę. Badanie zaaprobowała Komisja Bioetyczna przy Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy (Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu).

Wyniki

Wyniki leczenia przedstawiono na rycinach 1 i 2.

Powierzchnia ran poddanych leczeniu larwalnemu wynosiła 14–139 cm², średnio — 47 cm². Owrzodzenia



Figure 1. Larval therapy in a woman with diabetic foot and atherosclerosis. **A.** Skin protection; **B.** Cage construction; **C.** The 3rd day, removal of mature larvae; **D.** The 12th day of therapy

Rycina 1. Leczenie larwalne u kobiety ze stopą cukrzycową i miażdżycą tętnic. **A.** Ochrona skóry; **B.** Budowa klatki; **C.** Trzeci dzień leczenia, usuwanie dojrzałych larw; **D.** Dwunasty dzień leczenia



Figure 2. Results of larval therapy in a man with diabetic foot. **AB.** Before LT; **CD.** The 3rd day of therapy; **EF.** 2 weeks after therapy; **GH.** After 4 months

Rycina 2. Wyniki leczenia larwalnego u mężczyzny ze stopą cukrzycową. **AB.** Przed leczeniem; **CD.** Trzeci dzień leczenia; **EF.** 2 tygodnie od zakończenia leczenia; **GH.** Po 4 miesiącach leczenia

among the four patients with diabetic feet, ulcerations penetrating towards the bones and joints with infection and ischaemia (stage III D, according to the San Antonio Wound Classification System) were observed in two patients, penetrating to the bones and joints with infection (III B) in one patient (Figure 2AB), and concerning the tendons and tendon sheaths with infection and ischaemia (II D) in one patient (Figure 1A).

Considering the 4 wounds, 10 species of bacteria were cultured before therapy, including 6 Gram-negative and 4 Gram-positive. In one of the wounds, only one species of bacteria was isolated (*Enterobacter cloacae*). In the remaining cases, 2–4 species coexisted (Table I).

The maggots were applied 3 times in the case of 1 wound, 4 times in the case of 2 wounds, and 5 times in the case of 1 wound. The duration of larval therapy ranged between 9 and 18 days (mean — 12 days). Three of the ulcerations were debrided of necrotic tissue in 76.5%, 73.2% and 56.8% of cases, respectively (debridement index). The debrided wounds were gradually filled with granulation tissue, and the inflammatory condition regressed. Thus, three patients were protected from the risk of amputation at the level of the lower — 1 and upper — 2 legs.

penetrujące do kości i stawów z zakażeniem i niedokrwieniem (III D według *San Antonio Wound Classification System*) obserwowano u 2 pacjentów, drążące do kości i stawów z zakażeniem (III B) u 1 chorego (ryc. 2AB) i dotyczące ścięgien i pochewek ścięgniętych z zakażeniem i niedokrwieniem u 1 pacjentki (II D) (ryc. 1A).

W 4 ranach wyhodowano pierwotnie, przed leczeniem, 10 gatunków bakterii, w tym 6 Gram-ujemnych i 4 Gram-dodatnie. Z 1 rany wyizolowano kolonie tylko jednego gatunku bakterii (*Enterobacter cloacae*). W pozostałych trzech współwystępowały 2–4 gatunki (tab. I).

Larwy zaaplikowano 3-krotnie w 1 przypadku, 4-krotnie w 2 i 5-krotnie w przypadku 1 rany. Czas trwania leczenia larwalnego wynosił 9–18 dni (śr. 12). Trzy owrzodzenia oczyszczono z martwiczej tkanki w 76,5%, 73,2% i 56,8% (wskaźnik oczyszczenia). Oczyszczone rany stopniowo wypełniały się ziarniną, a stan zapalny w obrębie stopy ustępował. W ten sposób 3 pacjentów uchroniono przed uprzednio rozważaną amputacją: u jednego chorego na poziomie podudzia, a u dwóch — uda.

Ostatecznie gorsze wyniki leczenia zanotowano u 2 pacjentów ze współistniejącą miażdżycą kończyn dolnych. U jednego z nich, 65-letniego chorego z owrzodzeniem o powierzchni 139 cm², obejmującym

Table I. Results of microbiological evaluation in 4 patients with diabetic foot during larval therapy

Tabela I. Wyniki badania mikrobiologicznego u 4 pacjentów ze stopą cukrzycową podczas leczenia larwalnego

Microbiological evaluation of wounds Badanie mikrobiologiczne ran					
Before therapy Przed leczeniem	After 1 st applica- tion of larve Po 1 aplikacji larw	After 2 nd applica- tion of larve and SA* Po 2 aplikacji larw i SA*	After 3 rd applica- tion of larve and SA* Po 3 aplikacji larw i SA*	After 4 th applica- tion of larve and SA* Po 4 aplikacji larw i SA*	After 5 th applica- tion of larve and SA* Po 4 aplikacji larw i SA*
1. <i>Pseudomonas ae.</i> , <i>Klebsiella oxyt.</i> , <i>Citrobacter</i> <i>freundii com.</i>	<i>Serratia marc.</i> , <i>Citrobacter</i> <i>freundii com.</i> , <i>Staphylococcus au.</i> , <i>Candida parap.</i>	<i>Citrobacter</i> <i>freundii com.</i> , <i>Staphylococcus sp.k (-)</i> MRCNS ^o	—	—	—
2. <i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i>	<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i>	<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i> , <i>Serratia marc.</i> , <i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i> , <i>Corynebacterium</i> <i>species</i> , <i>Escherichia coli</i>	—	—
3. <i>Serratia marc.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneum.</i>	<i>Serratia marc.</i> , <i>Klebsiella oxyt.</i>	<i>Serratia marc.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus sp.k (-)</i> MRCNS	<i>Serratia marc.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Stenotrophomonas</i> <i>maltophilia</i> <i>Klebsiella oxyt.</i>	<i>Serratia marc.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Stenotrophomonas</i> <i>maltophilia</i> ,	<i>Serratia</i> <i>marc.</i> , <i>Escherichia</i> <i>coli</i>
4. <i>Streptococcus</i> <i>sp. alfa-hem.</i> , <i>Streptococcus sp.</i> <i>beta-hem.</i> , <i>Staphylococcus au.</i>	<i>Morganella</i> <i>morganii</i> , <i>Pseudomonas ae.</i>	<i>Pseudomonas ae.</i> <i>Serratia marc.</i>	<i>Morganella</i> <i>morganii</i> , <i>Serratia marc.</i>	—	—

*SA — systemic antibiotic therapy (systemowa antybiotykoterapia), MRCNS — methicillin resistant coagulase negative *Staphylococcus* (metycyliinoporny koagulazoujemny gronkowiec)

Worse results were observed in the two patients with coexisting lower limb atherosclerosis. One was a 65-year-old patient with a 139 cm² foot ulceration surface, ankle-brachial index amounting to 0.46, stable angina, hypertension, chronic venous insufficiency, renal insufficiency (on dialysis), obesity, following ablation of the other leg. In spite of a fourfold application of maggots, wound debridement proved ineffective, and the leg was subjected to amputation. The second case was a 56-year-old patient with a deeply penetrating wound towards the bone, following ablation of 3 digits (I—III): the wound filled with healthy granulation tissue after biosurgical debridement. However, the remaining two digits were subjected to dry necrosis and amputation. The patient had a history of generalized atherosclerosis (with ankle-brachial index amounting to 0.36), multi-level aortic, iliac, popliteal and femoral artery stenosis, myocardial infarction, several episodes of acute heart insufficiency, CABG, impatency of common and internal carotid arteries, ischaemic stroke with hemiparesis and carotid artery endarterectomy, hypertension, thrombocytopenia (steroids), hyperlipidaemia, obesity, cholelithiasis and an episode of mechanical jaundice, acute pancreatitis, and massive haemorrhage from a gastric ulcer.

In the case of the third patient (75-year-old female) with advanced atherosclerosis, hypertension, and ankle-brachial index amounting to 0.5, significantly better results were obtained. The atonic, 8-month wound changed its character after larval therapy from chronic to acute, and filled with healthy granulation tissue (Figure 1).

The best results were obtained in the case of a 58-year old patient, admitted to the hospital with threatening diabetic foot gangrene, hyperglycaemia and symptoms of generalized inflammation (temperature — 38.8°C, OB — 100, leucocytosis — 19.4 K/UI, neutrocytes — 78%, CRP — 240 mg/l). The gangrenous II digit was amputated showing deep ulceration penetrating towards the other wounds on the dorsal surface of the foot. Systemic antibiotics (Clindamicin, Metronidazol) were administered simultaneously to larval therapy. During a period of 9 days, after a threefold application of maggots, the wound was completely debrided of necrotic tissues and purulent exudate. The inflammation and oedema of the foot rapidly regressed, and the patient's condition significantly improved. The wound was filled with healthy granulation tissue and covered with epidermis (Figure 2).

Of the 4 patients threatened with limb amputation, including two in severe general condition due to concomitant diseases, failure was observed in only one patient. Another patient, following wound debridement,

praktycznie całą stopę, mimo 4-krotnej aplikacji larw rany nie oczyszczono i kończynę amputowano. U tego pacjenta wartość wskaźnika kostka-ramię wynosiła 0,46, stwierdzono u niego chorobą wieńcową, nadciśnienie tętnicze, przewlekłą niewydolność żylną, niewydolność nerek (dializy), otyłość. Chory ten przeżył wcześniej ablację drugiej kończyny.

U drugiego pacjenta (56-letniego) uprzednio przeprowadzono ablację 3 palców stopy (I—III). U chorego występowała głęboka, penetrująca do kości rana, która po oczyszczeniu biologicznym wypełniła się zdrową ziarniną, jednak pozostałe 2 palce uległy suchej martwicy i konieczna była ich amputacja. U chorego stwierdzono uogólnioną miażdżycę, z krańcowym niedokrwieniem kończyn (wartość wskaźnika kostka-ramię — 0,36), wielopoziomowe zwężenie aorty, tętnic biodrowych, udowych i podkolanowych. Chory przeżył zawał serca oraz kilkakrotną ostrą niewydolność krążenia, przeprowadzono u niego zabieg pomostowania aortalno-wieńcowego. U pacjenta ponadto wykazano niedrożność tętnic szyjnych wspólnych i wewnętrznych, przeżyty udar mózgu, niedowład połowiczny, przeprowadzono u niego także zabieg endarteriektomii tętnicy szyjnej. U pacjenta występowało ponadto nadciśnienie tętnicze, małopłytkowość samoistna (steroidy), hiperlipidemia, otyłość oraz kamica pęcherzyka żółciowego. Chory przeżył również incydent żółtaczk mechanicznej, ostre zapalenie trzustki i masywne krwawienie z wrzodu żołądka!

W trzecim przypadku, u 75-letniej pacjentki z zaawansowaną miażdżycą, z nadciśnieniem tętniczym, u której wartość wskaźnika kostka-ramię wynosiła 0,5, uzyskano znacznie lepsze rezultaty. Atoniczna, utrzymująca się przez 8 miesięcy rana po oczyszczeniu larwalnym zmieniła charakter z przewlekłej na ostrą i wypełniła się zdrową ziarniną (ryc. 1). Dwoje ostatnich chorych skierowano do dalszego leczenia w trybie ambulatoryjnym.

Najlepsze wyniki uzyskano u 58-letniego pacjenta, którego przyjęto do szpitala z zagrażającą zgorzelą stopy, hiperglikemią i objawami uogólnionego zakażenia (temperatura — 38,8°C, OB — 100, leukocytoza — 19,4 K/UI, neutrocyty — 78%, CRP — 240 mg/l). Zgorzelinowo zmieniony palec II stopy amputowano, odsłaniając głębokie owrzodzenie penetrujące do kolejnej rany na grzbietowej powierzchni stopy. Systemową antybiotykoterapię (klindamycyna, metronidazol) wdrożono jednocześnie z leczeniem larwalnym, nie czekając na wynik posiewu. W ciągu 9 dni, po 3-krotnej aplikacji larw, ranę kompletnie oczyszczono z tkanek martwiczych i wysięku ropnego. Zapalenie i obrzęk w obrębie stopy szybko ustępowały, a stan chorego

was qualified to a skin graft. However, no such operation was performed due to the fact that the patient was satisfied with treatment results and moved to a distant region of the country. Two patients with debrided wounds filled with healthy granulation tissue were directed towards ambulatory treatment.

Discussion

Ulcerations which develop within the diabetic foot are characterized by a lack of natural self-healing ability. The above-mentioned is connected with coexisting neuropathy, angiopathy, leukocyte dysfunction, nephropathy, foot deformation, improper glucose control and advanced patient age [10, 11]. In the case of impaired immunity, bacteria which exist on the skin become the pathogens. Considering diabetic neuropathy and peripheral ischaemia, classical symptoms of infection, such as pain and reddening, are not so distinct. Infection spreads to the surrounding skin and lymphatic vessels, penetrating to the bone, and the developing bacteraemia directly threatens the patient's life. Afterwards, one can observe necrosis, which leads to the loss of digits and extensive soft tissue defects. The above-mentioned condition is initially observed on the plantar surface of the foot [12]. In the United States, amputations attributed to diabetes mellitus account for 50% of all non-traumatic, lower extremity amputations [13]. Thorough wound debridement of necrotic tissue and purulent exudate can inhibit the progressive destruction and initiate the process of healing.

Larval therapy is an artificially provoked and controlled myiasis in which sterile *Lucilia sericata* (green bottlefly) blowfly maggots are used during the process of wound debridement [14]. Maggots support wound healing by means of the following three mechanisms: mechanical debridement, infection combat and cellular growth stimulation. The maggots feed only on necrotic tissue using a pair of uncinates and thorn-like processes. The secreted proteolytic enzymes are responsible for the macromolecular decomposition and tissue liquefaction, being sucked and digested by the alimentary tract of the maggots. *In vitro* studies of maggot secretions showed such enzymes as carboxypeptidase A and B, leucine aminopeptidase, collagenase, serine protease and metalloproteinase [15]. Good enzymatic penetration is assured by the previously-mentioned pair of uncinates and thorn-like processes. During the debridement process, the mobility and voracity of the maggots is of significant value, being localized even in the distant corners of the ulceration [16]. The larvae penetrate into areas that immunological response mediators and systemic antibiotics cannot reach due to blood perfusion disturbances and

szybko poprawiał się. W ciągu kolejnych 2 tygodni rana wypełniła się zdrową ziarniną i zagoiła się całkowicie w 4. miesiącu leczenia (ryc. 2).

Podsumowując, spośród 4 pacjentów, u których zmiany w obrębie stopy groziły amputacją, zanotowano jedno niepowodzenie leczenia larwalnego u chorego, któremu ostatecznie nogę amputowano. Kolejną chorą po biologicznym oczyszczeniu rany zakwalifikowano do przeszczepu skóry, jednak do operacji nie doszło, ponieważ pacjentka, zadowolona z dotychczasowych wyników leczenia, postanowiła przeprowadzić się do córki mieszkającej w odległym rejonie Polski. Pozostałych dwóch pacjentów z oczyszczonymi, ziarninującymi ranami skierowano do dalszego leczenia w poradni chirurgicznej.

Dyskusja

Owrzodzenia powstające w obrębie stopy cukrzycowej charakteryzują się brakiem naturalnej zdolności do samoistnego wygojenia się. Dzieje się tak głównie z powodu towarzyszących cukrzycy neuropatii, angiopatii i dysfunkcji białych krwinek, ale także często z powodu nefropatii, deformacji stóp, niewłaściwej kontroli glikemii czy zaawansowanego wieku [10, 11]. W przypadku towarzyszącej cukrzycy, upośledzonej odporności immunologicznej patogenami stają się bakterie zwykle bytujące na skórze. W neuropatii cukrzycowej i obwodowym niedokrwieniu klasyczne objawy zakażenia, takie jak ból i zaczerwienienie mogą być mało wyraźne. Infekcja szerzy się na otaczającą skórę, naczynia chłonne i penetruje do kości, a rozwijająca się bakteremia zagraża bezpośrednio życiu pacjenta. Z czasem pojawia się martwica, która doprowadza do utraty palców i rozległych ubytków tkanek miękkich, początkowo zwykle na podeszwowej powierzchni stopy [12]. W Stanach Zjednoczonych amputacje z powodu cukrzycy stanowią 50% wszystkich nieurazowych amputacji w obrębie kończyn dolnych [13]. Jedynie dokładne oczyszczenie rany z martwiczych tkanek i wysięku ropnego może zatrzymać postępującą destrukcję i zainicjować proces gojenia rany.

Leczenie larwalne jest sztucznie wywołaną, kontrolowaną muszycą, w której świeżo wyklute, sterylne larwy muchy *Lucilia sericata* (green bottle-fly) wykorzystuje się w procesie oczyszczania rany [14]. Czerwie wspomagają gojenie rany poprzez trzy mechanizmy: mechaniczne oczyszczanie, zwalczanie zakażenia i stymulację wzrostu komórkowego. Larwy spożywają jedynie martwą tkankę, którą rozrywają za pomocą pary haczyków i obecnych wokół każdego z segmentów kolców. Wydzielane przez czerwie enzymy proteolityczne powodują rozpad makrocząsteczek i upłynniają tkan-

biofilm development. The maggots debride the wound with a precision and sensitivity that no surgeon could dream of. Additionally, the time required during maggot therapy is much shorter in comparison to autolytic and enzymatic methods [5, 6, 17]. Sherman and co-authors compared the efficacy of conventional treatment (frequent changes of dressings, local antiseptics and antibiotics, hydrogel and hydrocolloid dressings, and surgical wound debridement) with larval therapy in patients with diabetic feet. After 5 weeks of therapy, wounds subjected to conventional treatment remained covered with necrotic tissue (33% of the surface of the wound), while in the case of larval therapy all the ulcerations were cleaned after 4 weeks ($p = 0.001$) [5]. In the case of our study, larval therapy was applied in cases of patients subjected to surgical debridement which proved ineffective, and in whom the area of necrosis and infection continued to spread, endangering the extremity. Such patients presented with deep penetrating wounds, and 3 of them were additionally diagnosed with atherosclerosis (ankle/brachial: 0.36, 0.46, 0.50). Two subjects with numerous concomitant diseases were qualified as high-risk mortality patients. The ulcerations, which usually presented with lacunae and necrosis reaching several centimetres, penetrated to the bones, joints and tendons (Figures 1AB). Since maggots do not digest tendons, ligaments, scars or bones, the final debridement was supplemented by surgical management [18]. Maggots removed the necrotic tissue revealing the wound. Frequently after larval therapy the ulceration appeared to be more extensive (Figures 2CD). However, following close examination one could observe the benefits of larval therapy — mostly the development of granulation tissue (Figures 2EF). The debridement of penetrating diabetic foot wounds required 4–5 larval applications. The combination of larval therapy with antibiotics and surgical wound debridement gradually limited the inflammatory process and initiated the reconstruction of the defect, saving the limbs in three patients. Data from the literature mention numerous cases concerning the above-mentioned issue, including patients with limb ischaemia [6, 19]. It is commonly accepted that ulcerations do not have the ability to heal in cases of systolic ankle pressure less than 50 mm Hg or when the ankle-brachial index is below 0.6. Pressure ranging between 50 and 80 mm Hg is indicative of healing difficulties, while that exceeding 80 mm Hg implies good treatment results [20]. In spite of the fact that larval therapy is less effective in patients with coexisting atherosclerosis of the lower limbs, it initiates granulation and prevents amputation, due to better wound debridement than in conventional treatment. Therefore, even in cases of clinically difficult conditions,

która zostaje zassana i strawiona w przewodzie pokarmowym larwy. Dotychczas w sokach trawiennych larw wykryto między innymi: karboksypeptydazy A i B, aminopeptydazę leucynową, kolagenazę, proteazy serynowe i metaloproteinazę [15]. Dobrą penetrację enzymów zapewniają macerujące podłoże rany wyżej wspomniane haczyki i kolce. W całym procesie oczyszczania wielkie znaczenie ma także niezwykła ruchliwość i żarłoczność tych stworzeń — znajduje się je w najodleglejszych oraz najdrobniejszych zakamarkach owrzodzenia [16]. Larwy penetrują między innymi do obszarów, do których z powodu zaburzeń perfuzji krwi i w związku z formowaniem się biofilmu nie docierają mediatory odpowiedzi immunologicznej czy systemowe antybiotyki. Czerwie oczyszczają ranę z nieosiągalną dla chirurgii fascynującą precyzją i delikatnością. Przy tym dokonują tego w nieporównywalnie krótszym czasie niż w przypadku zastosowania metody autolitycznej czy enzymatycznej [5, 6, 17]. Sherman porównał skuteczność leczenia konwencjonalnego (częste zmiany opatrunku, miejscowe stosowanie antyseptyków, antybiotyków, opatrunki hydrożelowe, hydrokoloidowe, chirurgiczne oczyszczanie rany) z leczeniem larwalnym u pacjentów ze stopą cukrzycową. Zaobserwował, że po okresie 5 tygodni rany leczone tradycyjnie nadal pokryte były martwiczą tkanką na 33% swojej powierzchni, podczas gdy wszystkie owrzodzenia poddane leczeniu larwalnemu już po 4 tygodniach zostały całkowicie oczyszczone ($p = 0,001$) [5]. W badaniu autorów niniejszej pracy do leczenia larwalnego zakwalifikowano pacjentów, u których dotychczasowa terapia w poradni chirurgicznej (chirurgiczne opracowanie rany, opatrunki konwencjonalne, antybiotykoterapia) nie przynosiła rezultatów, a obszar martwicy i zakażenia poszerzał się, zagrażając całej kończynie. Byli to chorzy z głęboko penetrującymi ranami, w 3 przypadkach z zaawansowaną miażdżycą (wartości wskaźników kostka–ramię: 0,36, 0,46, 0,5). Dwoch pacjentów ze względu na wiele współistniejących poważnych chorób zaliczono do grupy wysokiego ryzyka zgonu. Owrzodzenia zwykle podminowane, z zatokami i martwicą sięgającą na kilka centymetrów w głąb, penetrowały do kości, stawów i ścięgien (ryc. 1AB). Ponieważ czerwie nie trawią ścięgien, więzadeł, blizn czy kości [18], w przypadku zakażenia tych struktur ostateczne oczyszczenie wspomagano leczeniem chirurgicznym. Larwy usuwając martwe tkanki, sprawiały, że pojawiał się prawdziwy obraz rany. Nierzadko po leczeniu larwalnym owrzodzenie wydawało się bardziej rozległe (ryc. 2CD), jednak przy bliższym badaniu obserwowano wyraźne zmiany na korzyść, głównie rozwój żywoczerwonej ziarniny (ryc. 2EF). Oczyszczanie penetrujących ran

biosurgical treatment has its place and should not be discredited [21]. Debridement alone will not bring about a permanent effect in cases of continuous malnutrition and tissue anoxia. Following debridement, one should strive towards the restoration of limb vasculature [22, 23]. In three of our patients with advanced atherosclerosis, such management was not initiated. In one case, where control of foot necrosis proved impossible, and due to coexisting diseases, amputation was required as a life-saving procedure. Another patient was not qualified to vascular reconstruction, due to disseminated stenotic lesions of the lower limb vessels and concomitant severe diseases. Additionally, a 75-year-old female patient after wound debridement, satisfied with current therapy results, did not consent to surgical intervention. Doppler result evaluation (ankle/brachial index) can be falsely overestimated in patients with diabetes due to the coexisting vascular calcification. Thus, in the case of the low indices (0.36, 0.46, and 0.5), ischaemic disturbances could have been even more pronounced. Nevertheless, larval therapy proved beneficial. In two patients, chronic non-healing wounds were filled with granulation tissue and amputations were not required. Armstrong and co-authors mentioned the benefits connected with larval therapy in the case of patients with peripheral vascular lesions and diabetic foot ulcerations. The above-mentioned authors investigated 60 patients, demonstrating more rapid wound healing, a threefold lower percentage of limb amputations (10% vs. 33%), and shorter antibiotic therapy in patients subjected to biosurgical therapy, in comparison to the control group [19].

Excellent larval therapy effects were observed in the case of the fourth patient with diabetic gangrene who presented without atherosclerosis. Although healing was obtained following combined therapy (surgery and antibiotics), the maggots thoroughly debrided the deep wounds and initiated granulation.

Three of the four patients were subjected to biological debridement of long-lasting, non-healing diabetic ulcerations during a period of 12 days, on average. Apart from the main goals of larval therapy (shorter hospitalization, salvaged limb, limited treatment costs), the healing wound deprived of odour significantly improved the patients' general condition.

During the process of wound debridement, one can observe the elimination of necrotic tissues as well as the majority of pathogens. It is commonly accepted that the number of bacteria localized in a wound exceeding 10^6 per gram of tissue impairs healing (24, 25). Xu and co-authors demonstrated that the greater the bacterial load initially diagnosed, the poorer the healing [26]. On the other hand, Edmonds and co-authors demonstrated that

w obrębie stóp cukrzycowych wymagało 3–5 aplikacji larw. W ten sposób kojarząc leczenie larwalne z antybiotykoterapią i chirurgicznym opracowaniem rany, stopniowo ograniczono proces zapalny i zainicjowano odbudowę ubytków, ratując kończynę 3 pacjentom. Przypadki ratowania kończyn po zastosowaniu leczenia larwalnego są licznie opisywane w piśmiennictwie i dotyczą nie tylko pacjentów ze stopą cukrzycową, ale także chorych z niedokrwieniem kończyn [6, 19]. Przyjmuje się, że nie ma szans zagojenia owrzodzenia przy bezwzględnie niskim ciśnieniu skurczowym w obrębie kostki niższym niż 50 mm Hg lub jeśli wartość wskaźnika kostka–ramię wynosi poniżej 0,6. Ciśnienie 50–80 mm Hg zapowiada trudności w gojeniu, a jedynie wartości powyżej 80 mm Hg zapewniają dobre rezultaty leczenia [20]. Mimo że leczenie larwalne jest mniej efektywne u pacjentów ze współistniejącą miażdżycą kończyn dolnych, to w porównaniu z uprzednio stosowanym zwyczajowym leczeniem miejscowym zwykle szybciej inicjuje ziarninowanie, a nawet chroni przed amputacją, głównie za sprawą sprawniejszego oczyszczenia rany. Zatem nawet w tych trudnych stanach klinicznych leczenie biochirurgiczne ma swoje miejsce i nie powinno się go dyskredytować [21]. Samo oczyszczenie ran nie przyniesie trwałego skutku przy utrzymującym się niedożywieniu i niedotlenieniu tkanek. Kolejnym krokiem po oczyszczeniu powinno być przywrócenie, jeżeli to możliwe, właściwego krążenia w obrębie kończyny [22, 23]. Jednak u 3 chorych (leczonych przez autorów pracy) z zaawansowaną miażdżycą takiego postępowania nie wdrożono. W I przypadku brak realnych możliwości opanowania martwicy całej stopy oraz współistnienie ciężkich chorób nakazywały szybką, ratującą życie amputację. Drugiego pacjenta nie zakwalifikowano do rekonstrukcji naczyniowej z powodu rozszaniach wielopoziomowych zwężeń w obrębie tętnic kończyn dolnych i współistniejących poważnych schorzeń. Z kolei 75-letnia pacjentka, po oczyszczeniu rany, zadowolona z dotychczasowych wyników leczenia, nie godziła się na zabieg operacyjny. Mimo to leczenie larwalne przyniosło wymierne korzyści u dwojga ostatnich pacjentów. Przewlekłe, niegojące się rany wypełniły się czystą ziarniną, a kończyny zostały uratowane. Ze względu na towarzyszące cukrzycy zwężenie naczyń wartość wskaźnika kostka–ramię może być fałszywie zawyżona. Zatem przy i tak niskich wskaźnikach, jakie odnotowano, zaburzenia ukrwienia mogły być jeszcze bardziej znaczące. O korzyściach płynących z leczenia larwalnego w grupie chorych z obwodowymi zmianami naczyniowymi i owrzodzeniem stopy cukrzycowej donoszą Armstrong i wsp. Badając grupę 60 osób, stwierdzili szybsze gojenie się ran, 3-krotnie mniejszy odsetek am-

in the absence of evident diabetic foot ulceration infections, antibiotics shortened hospitalization and reduced the number of amputations [12]. Apart from the significant number of pathogens localized in the wound, delayed healing can be caused by a virulent bacterial strain or the presence of mixed flora (including anaerobic). Often, the diversity of the bacterial flora renders it impossible to determine the pathogen responsible for the infection and thus plan proper antibiotic therapy [27]. Maggots combat infection by means of three mechanisms: alkalizing the environment of the wound, secreting antibacterial substances and producing a significant amount of exudate. Maggots not only reduce the number of wound bacteria, but also combat microflora and destroy biofilm by acting against bacterial *quorum sensing* [28, 29]. Sherman and Shimoda demonstrated that in the case of 10 wounds subjected to larval therapy, prior to surgical intervention (amputation, flap graft, wound suturing, incomplete skin flap), none succumbed to infection. On the other hand, 6 (33%) of the 19 wounds not subjected to presurgical maggot debridement developed infection with ensuing wound dehiscence [30]. Maggots are most effective in the case of G-positive infections, including MRSA (31). Bowling and co-authors during an average period of 3 weeks of larval therapy eliminated MRSA infections in 12 of 13 patients with chronic diabetic foot ulcerations [7].

During consecutive larval applications, the ulcerations were debrided of necrotic tissue and purulent exudates, although wound sterilization was never reached. The process of healing was initiated, in spite of the presence of bacteria (Table I, Figures 1 and 2). It seems that for proper healing, complete sterilization is not necessary. The evaluation of the pathogenic bacterial flora on the basis of traditional cultures in cases of chronic wounds is not accurate. Thus, it is difficult to answer the question of whether the presence or disappearance of selected bacterial species during the therapeutic process was connected with in-hospital bacterial superinfection, indicated by the presence of multi-resistant species (Table I), or a reaction to therapy. Larval therapy in the early stage of infection (ambulatory care) could limit the number of hospitalizations and ensuing in-hospital infections.

During larval therapy one can observe the activation of growth factors, which results in the development of granulation tissue, shortening the healing process. Considering the presented study, the dynamic development of granulation tissue was observed after the first application of maggots (Figures 1 and 2).

Maintaining the tightness of the larval dressing in ambulatory conditions might prove difficult, leading to

putacji (10% vs. 33%) i krótszy czas antybiotykoterapii u pacjentów leczonych biochirurgicznie w porównaniu z grupą kontrolną [19].

Wręcz doskonały efekt leczenia larwalnego obserwowano u czwartego pacjenta z zagrażającą zgorzelą stopy, u którego nie stwierdzono zmian miażdżycowych w obrębie tętnic kończyn dolnych. Chociaż gojenie osiągnięto, kojarząc leczenie larwalne z postępowaniem chirurgicznym i antybiotykoterapią, to jednak główną zasługę należy przypisać czerwiom, które dokładnie oczyściły głębokie rany i pobudziły je do ziarninowania.

W sumie u trzech spośród czterech chorych oczyszczenie biologiczne niegojących się od wielu miesięcy owrzodzeń związanych z cukrzycą przeprowadzono w ciągu średnio 12 dni. Poza najważniejszym celem, jakim było ratowanie kończyny, skrócono okres hospitalizacji i ograniczono koszty leczenia, a niebolesna, pozbawiona odoru, gojąca się rana znacznie poprawiła samopoczucie chorych.

W procesie oczyszczania owrzodzenia usunięte zostają nie tylko martwicze tkanki, ale również znaczna część drobnoustrojów. Przyjmuje się, że liczba bakterii w ranie przekraczająca 10^6 na gram tkanki poważnie upośledza gojenie [24, 25]. Xu i wsp. podczas badań ilościowych flory bakteryjnej z owrzodzenia stopy cukrzycowej obserwowali bezpośrednią zależność pomiędzy znacznym początkowym obciążeniem bakteryjnym rany a gorszym wynikiem gojenia [26]. Z kolei Edmonds i wsp. wykazali, że nawet w przypadku braku jawnego zakażenia owrzodzenia stopy cukrzycowej antybiotykoterapia skróciła czas hospitalizacji i zmniejszyła liczbę amputacji [12]. Poza znaczącą liczbą drobnoustrojów w ranie na opóźnienie gojenia może mieć wpływ obecność szczególnie zjadliwego szczepu bakterii czy zakażenie florą mieszaną, w tym beztlenową. Często jednak złożoność flory bakteryjnej nie pozwala określić konkretnego, odpowiedzialnego za zakażenie gatunku drobnoustroju i trudno jest zaplanować właściwą antybiotykoterapię [27]. Larwy zwalczają zakażenie na drodze trzech mechanizmów: alkalizując środowisko rany, wydzielając substancje antybakteryjne i produkując duże ilości wysięku. Czerwie nie tylko zmniejszają ilość bakterii w ranie, ale zwalczają mikroflorę mieszaną, a niszcząc biofilm, działają również przeciwko zjawisku *quorum sensing* (reakcji kworum) [28, 29]. Sherman i Shimoda podają, że z 10 ran poddanych leczeniu larwalnemu przed chirurgicznym zamknięciem (amputacje, przesunięty płat, szycie rany, płat niepełnej grubości skóry) żadna nie uległa zakażeniu, podczas gdy 6 spośród 19 (33%) ran nieleczonych biochirurgicznie w okresie przedoperacyjnym uległo zakażeniu [30]. Larwy są najbardziej skuteczne w zakażeniach bakteriami

maggot escape. Novel technologies enable the application of maggots in mesh-like, nylon bags filled with a significant amount of small foam cubes. Maggot secretions reach the wound, being responsible for its debridement, and the liquefied necrotic tissue is absorbed by the dressing, which is also nutrition for the maggots [32]. This type of dressing is aesthetic, practical (rapid exchange) and safer (smaller risk of wound bleeding). Additionally, pain connected with adult larval movements inside the wound are less pronounced in the case of the above-mentioned dressing [33]. Unfortunately, maggots closed in a bag do not act on the wound and do not penetrate to its extremities, thus reducing the efficacy of the method. Based on the experience of the authors, the escape of maggots can be prevented by fixing the larval dressing with bandages soaked in zinc ointment, which additionally protects the skin from the irritating exudate. Larval therapy is accepted by most patients. Inconveniences connected with treatment (pain, frequent exchange of the external dressing) and aesthetic reasons are compensated by good treatment results. The negative attitude towards larval therapy, more often observed in the case of secondary personnel and patients' families, can be abated by precise information concerning the therapeutic method, possible complications and the benefits. Interest in larval therapy in Poland is continually growing amongst patients and medical personnel. Soon, sterile *Lucilia sericata* blowfly maggots will be produced in Poland for the treatment of poorly healing wounds. Larval therapy will not be the last resort, an alternative to amputation, but one of the most effective methods considering wound debridement. Larval dressings can be used in clinical departments, as well as small surgical and dermatological outpatient clinics [5, 35].

Conclusions

The treatment of diabetic feet requires multi-disciplinary management; however, one of the most important stages of therapy remains precise wound debridement, which ensures control of inflammation and stops ensuing tissue destruction, thus preventing the need for amputation. According to the authors of the study, larval therapy is a precise and highly effective method for wound debridement from necrotic tissues and purulent exudates.

References

1. Frygberg RG (1999) Epidemiology of diabetic foot: ulceration and amputation. *Adv Wound Care*, 12: 139–141.
 2. Jarczyk G (2006) Biochirurgia: *Lucilia sericata* — mały, wielki chirurg. *Pol Przeg Chir*, 78: 1513–1529.
- Gram-dodatnimi, w tym metycylooopornym gronkowcem złocistym (MRSA) [31]. Bowling i wsp. podczas trwającego średnio 3 tygodnie leczenia larwalnego wyeliminowali zakażenie MRSA u 12 spośród 13 pacjentów z przewlekłym owrzodzeniem w obrębie stopy cukrzycowej [7].
- W prezentowanym badaniu poprzez kolejne aplikacje larw stopniowo oczyszczano owrzodzenia z martwicy i wysięku ropnego, chociaż nigdy nie uzyskano wyjąłowania ran. Proces gojenia został zainicjowany, mimo utrzymującej się obecności bakterii (tab. 1, ryc. 1, ryc. 2). Wydaje się, że dla prawidłowego gojenia się rany jej całkowite wyjąłowanie nie jest konieczne. Ocena patogennej flory bakteryjnej w przewlekłych ranach na podstawie tradycyjnie wykonywanych posiewów jest mało dokładna. Trudno odpowiedzieć na pytanie, czy pojawianie się lub znikanie pewnych gatunków bakterii w trakcie procesu leczenia było reakcją na zastosowane leczenie, czy wiązało się z nadkażeniem szpitalną florą bakteryjną, na co wskazywała obecność szczepów wieloopornych (tab. 1). Zastosowanie leczenia larwalnego we wczesnym stadium zakażenia w lecznictwie otwartym mogłoby ograniczyć liczbę hospitalizacji i w następnym czasie zakażeń szpitalnych.
- Utrzymanie szczelności opatrunku larwalnego u pacjentów leczonych ambulatoryjnie może być trudne i prowadzić do uciezki czerwi. Nowo opracowane technologie pozwalają na aplikowanie larw w siatkowych, nylonowych torebkach, wypełnionych dużą ilością drobnych, piankowych sześcianików. Wydzieliny larw docierają do rany oczyszczając ją, a upłynnione nekrotyczne tkanki wchłaniane są przez opatrunek, stanowiąc jednocześnie pożywienie dla czerwi [32]. Ten rodzaj opatrunku jest estetyczny, niezwykle praktyczny (szybka zmiana) i bezpieczniejszy (mniejsze ryzyko krwawienia z rany). Także dolegliwości bólowe, spowodowane głównie pełzaniem dojrzałych larw w obrębie rany, są mniejsze w tej formie opatrunku [33]. Niestety zamknięte w woreczku larwy nie oddziałują mechanicznie na ranę i nie penetrują do jej najdalszych zakątków, stąd znacznie mniejsza skuteczność tej metody. Z doświadczeń autorów wynika, że ucieczce czerwi można zapobiec przez mocowanie opatrunku larwalnego bandażami nasączonymi maścią cynkową, co dodatkowo chroni skórę przed drażniącym wysiękiem z rany.
- Podczas leczenia larwalnego dochodzi także do aktywacji czynników wzrostu, co skutkuje powstaniem nowej ziarniny i skraca czas gojenia rany. W prezentowanym badaniu dynamiczny rozwój żywej czerwonej ziarniny obserwowano już po pierwszej aplikacji larw (ryc. 1, ryc. 2).

3. Baer WS (1931) The treatment of chronic osteomyelitis with the maggot (larva of the blowfly). *J Bone Jt Surg*, 13: 438–475.
4. Robinson W (1935) Progress of maggot therapy in the United States and Canada in the treatment of suppurative diseases. *Am J Surg*, 29: 67–71.
5. Sherman RA (2003) Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy. *Diabetes Care*, 26: 446–451.
6. Mumcuoglu KY, Ingber A, Gilead L et al (1998) Maggot therapy for the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*, 21: 2030–2031.
7. Bowling FL, Salgami EV, Boulton AJ (2007) Larval therapy: a novel treatment in eliminating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*, 30: 370–371.
8. Yates I, Fox M, Crewdson M, Woodyer AB (2003) Larvae — A key member of the multidisciplinary foot team? *Diabetic Foot*, 6: 166–171.
9. Armstrong DG, Lavery LA, Harkless LB (1998) Validation of a diabetic wound classification system: the contribution of depth, infection and ischemia to risk of amputation. *Diabetes Care*, 21: 855–859.
10. Brem H, Sheehan P, Boulton AJM (2004) Protocol for treatment of diabetic foot ulcers. *Am J Surg* 187 (suppl 1): S1–S10.
11. Cavanagh PR, Lipsky BA, Bradbury AW, Botek G (2005) Treatment for diabetic foot ulcers. *Lancet*, 366: 1725–1735.
12. Edmonds M, Foster A (2004) The use of antibiotics in the diabetic foot. *Am J Surg*, 187: 255–285.
13. Resnick HE, Valsania P, Phillips CL (1999) Diabetes mellitus and nontraumatic lower extremity amputation in black and white americans. *Arch Intern Med*, 159: 2470–2475.
14. Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe A (2006) Maggot therapy; The science and implication for CAM part II—Maggots combat infection. *Evid Based Complement Alternat Med*, 3: 303–308.
15. Chambers L, Woodrow S, Brown AP et al (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*, 1: 14–23.
16. Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe A (2006) Maggot therapy; The science and implication for CAM part I — History and bacterial resistance. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2: 223–227.
17. Wayman J, Nirojogi V, Walker A, Sowinski A, Walker MA (2000) The cost effectiveness of larval therapy in venous ulcers. *J Tissue Viability*, 3: 91–94.
18. Sherman RA (1998) Maggot therapy in modern medicine. *Infect Med*, 15: 651–656.
19. Armstrong DG, Salas P, Short B et al (2005) Maggot therapy in “lower-extremity hospice” wound care: fewer amputations and more antibiotic free days. *J Am Podiatr Med Assoc*, 95: 254–257.
20. Hafner J, Schaad I, Schneider E, Seifert B, Burg G, Casina PC (2000) Leg ulcers in peripheral arterial disease (arterial leg ulcers): Impaired wound healing above the threshold of chronic critical limb ischemia. *J Am Acad Dermatol*, 43: 1001–1008.

Leczenie larwalne jest akceptowane przez większość chorych [34]. Niedogodności metody, takie jak ból, częste zmiany opatrunku zewnętrznego i względy estetyczne rekompensowane są dobrymi wynikami leczenia. Negatywne nastawienie do leczenia larwalnego, częściej obserwowane wśród personelu średniego i rodziny chorego, można osłabić poprzez dokładną informację o istocie leczenia, jego działaniach niepożądanych i zaletach. Zainteresowanie leczeniem larwalnym w Polsce rośnie, zarówno ze strony pacjentów, jak również lekarzy i pielęgniarek. Wszystko na to wskazuje, że w niedługim czasie także w Polsce będą produkowane jałowe larwy muchy plujki *Lucilia sericata* dla potrzeb leczenia trudno gojących się ran. Leczenie larwalne nie będzie wówczas ostatnią deską ratunku, alternatywą dla amputacji, ale jedną z bardziej skutecznych metod oczyszczania rany. Opatrunek larwalny można stosować zarówno ośrodkach klinicznych, jak i w małej poradni chirurgicznej czy dermatologicznej [5, 35].

Wnioski

Leczenie chorych ze stopą cukrzycową wymaga podejścia wielodyscyplinarnego. Jednak jednym z najważniejszych etapów leczenia pozostanie dokładne opracowanie łożyska rany, które zapewni kontrolę nad zakażeniem i powstrzyma przed dalszą destrukcją tkanek, chroniąc chorego przed amputacją. Według autorów niniejszej pracy leczenie larwalne jest bardzo precyzyjnym i wysoce skutecznym sposobem oczyszczenia rany z martwiczych tkanek i wysięku ropnego.

Praca powstała dzięki grantowi pomostowemu (553-CM/B) Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

21. Steenvoorde P, Jacobi CE, Oskam J (2007) The results of maggot debridement therapy in the ischemic leg: A study on 89 patients with 89 wounds on the lower leg treated with maggots. *Internet J Surg*, 9: 1–4.
22. Marso SP, Hiatt WR (2006) Peripheral arterial disease in patients with diabetes. *J Am Coll Cardiol*, 47: 921–929.
23. Sheahan MG, Hamdan AD, Veraldi JR et al (2005) Lower extremity minor amputations: The roles of diabetes mellitus and timing of revascularization. *J Vasc Surg*, 42: 476–480.
24. Browne AC, Vearncombe M, Sibbald RG (2001) High bacterial load in asymptomatic diabetic patients with neurotrophic ulcers retards wound healing after application of Dermagraft. *Ostomy Wound Manage*, 47: 44–49.
25. Robson MC (1997) Wound infection: a failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *Surg Clin North Am*, 3: 637–650

26. Xu L, McLennan SV, Lo L et al (2007) Bacterial load predicts healing rate in neuropathic diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*, 30: 378–380.
27. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG (2001) Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev*, 14: 244–269.
28. Kievit TR, Iglewski BH (2000) Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect Immun*, 9: 4839–4849.
29. Suga H, Smith KM (2003) Molecular mechanism of bacterial quorum sensing as a new drug target. *Curr Opin Chem Biol*, 7: 586–591.
30. Sherman RA, Shimoda KJ (2004) Presurgical maggot debridement of soft tissue wounds is associated with decreased rates of postoperative infection. *CID*, 39: 1067–1070.
31. Thomas S, Andrews AM, Hay NP, Bourgoise S (1999) The antimicrobial activity of maggot secretions: results of preliminary study. *J Tissue Viability*, 9: 127–132.
32. Lodge A, Jones M, Thomas S (2007) Maggots 'n' chips: a novel approach to the treatment of diabetic ulcers. *BJCN*, 11: 23–26.
33. Jukema GN, Menon AG, Bernardis AT, Steenvoorde P, Taheri Rastegar A, van Dissel JT (2002) Amputation-sparing treatment by nature: "Surgical" maggots revisited. *CID*, 35: 1566–1571.
34. Steenvoorde P, Buddhing TJ, van Engeland A, Oskam J (2005) Maggot therapy and "Yuk" factor: An issue for the patient? *Wound Repair Regen*, 13: 350–352.
35. Edmonds M, Foster AVM, Vowden P (2006) Opracowanie łożyska rany w przypadku owrzodzeń stopy cukrzycowej. *Leczenie Ran*, 3 (supl. 1): S9–S14.