

# Terapia con larvas de mosca para heridas crónicas: alternativa en una época de creciente resistencia a los antimicrobianos

## Maggot therapy for chronic wounds: alternative in an era of increasing antibiotic resistance

José Manuel Ríos Yuil,<sup>1</sup> Patricia Mercadillo Pérez,<sup>2</sup> Emma Yuil de Ríos,<sup>3</sup> Manuel Ríos Castro<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Dermatólogo, Dermatopatólogo, Inmunólogo, Parasitólogo, Micólogo. Policlínica San Fernando Norte y Caja de Seguro Social de Panamá.

Delegado adjunto de Panamá ante el Colegio Iberolatinoamericano de Dermatología

<sup>2</sup> Dermatóloga y Dermatopatóloga. Jefa del Servicio de Dermatopatología del Hospital General de México O.D.

<sup>3</sup> Dermatóloga. Policlínica San Fernando Norte y Caja de Seguro Social de Panamá. Comité Asesor de la Junta Directiva del Colegio Iberolatinoamericano de Dermatología

<sup>4</sup> Dermatólogo. Policlínica San Fernando Norte y Caja de Seguro Social de Panamá

### RESUMEN

Desde la antigüedad se han utilizado larvas de mosca para tratar heridas crónicas, mas esta terapia fue abandonada con el advenimiento de los antibióticos. La creciente resistencia antimicrobiana y la gran dificultad para desarrollar nuevos antibióticos han ocasionado que, en años recientes, se retomara el uso de este tratamiento y así, hoy día, se utilizan larvas de *Lucilia sericata* producidas asépticamente en laboratorios especializados para evitar la contaminación secundaria de las heridas. El mecanismo de acción de la terapia con larvas no es del todo comprendido, pero su excelente efecto para desbridar tejidos desvitalizados es indiscutible. Diversos estudios han encontrado que la terapia con larvas también favorece la formación de tejido de granulación y elimina infecciones en las heridas, aun las causadas por bacterias resistentes a múltiples antibióticos como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM). Además, contrario a lo esperado, la mayoría de los pacientes con heridas crónicas tolera muy bien la terapia con larvas. Por lo anterior, la terapia de heridas crónicas con larvas de mosca vuelve a ser una valiosa estrategia para el tratamiento de heridas crónicas de difícil manejo.

**PALABRAS CLAVE:** Larva; *Lucilia sericata*; heridas; desbridamiento; *lucifensina*

### ABSTRACT

While maggot therapy has been used for treating chronic ulcers since ancient times, this form of treatment became almost extinct with the advent of antibiotics. However, the increasing resistance and the difficulties inherent to antimicrobial production have favored the resurgence of larval therapy in recent years. Produced in specialized laboratories under sterile conditions, larvae of the *Lucilia sericata* fly are currently used to avoid secondary contamination of wounds. Although the mechanism of action of this therapy is not completely understood, there is no doubt as to its unrivaled ability to debride necrotic tissue. Various studies have reported that maggot therapy also promotes granulation tissue and eradicates wound infections, even those caused by resilient bacteria like methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Furthermore, against all expectations, the treatment is well tolerated by most patients. For these reasons, maggot therapy is rapidly reemerging as valuable strategy in the management of chronic wounds.

**KEYWORDS:** Larva; *Lucilia sericata*; wounds; debridement; *lucifensin*.

### Introducción

Las heridas crónicas son comunes en pacientes con insuficiencia vascular y padecimientos crónicos como diabetes mellitus, aunque también pueden ser de origen traumático. Hasta 15% de una población mundial calculada en más de 200 millones de diabéticos desarrolla una

úlcera de pie en algún momento de la enfermedad –situación muy preocupante debido a la elevada incidencia de amputaciones de miembros inferiores afectados. De hecho, se postula que hasta 84% de dichos procedimientos fue motivado por úlceras de pie diabético. Las úlceras crónicas y las amputaciones por complicaciones diabéti-

### CORRESPONDENCIA

José Manuel Ríos Yuil ■ jmriosyuil@hotmail.com

Apartado Postal 0834-2476 (Zona 9A), Ciudad de Panamá, República de Panamá. Teléfono: (507) 305-6351

cas ocasionan importantes alteraciones físicas, emocionales y sociales, con la consecuente mengua en la calidad de vida e importantes costes económicos.<sup>1,2</sup>

Por otra parte, las úlceras venosas también tienen una alta prevalencia mundial, con un impacto económico igualmente elevado. En 2004, la Comisión de Salud estimó que el coste anual del tratamiento para úlceras en piernas fue de entre 300 y 600 millones de libras esterlinas<sup>3</sup> —por no hablar de lo engorroso e insatisfactorio del tratamiento convencional.

Las úlceras y las heridas crónicas a menudo se contaminan e infectan y deben cicatrizar por segunda intención, ya que la infección, los restos necróticos y los cuerpos extraños retrasan el proceso de cicatrización y son la principal causa del fracaso de la terapéutica convencional. Es así que la terapia con larvas de mosca (TLM) ofrece una alternativa terapéutica para lesiones crónicas que no responden a la terapia convencional, sobre todo en casos donde abundan el tejido necrótico o los microorganismos resistentes.<sup>4</sup>

Por todo lo anterior, la presente revisión pretende sintetizar la información disponible sobre uso de larvas de mosca en el tratamiento de heridas crónicas, poniendo énfasis en los mecanismos de acción y los beneficios que ofrece la terapia en una época de creciente resistencia a los antimicrobianos.

### El proceso de curación y las heridas crónicas

El proceso de curación consiste de dos fases: cicatrización y epitelización. La cicatrización es el desarrollo de nuevo tejido conectivo y vascular<sup>4</sup> a través de cuatro etapas: inflamatoria, destructiva, proliferativa y de maduración. En la etapa inflamatoria ocurre la hemostasia y se liberan numerosos mediadores de la inflamación, en tanto que los leucocitos migran a la herida y se reduce la cantidad de bacterias presentes en la misma. En la etapa destructiva se llevan a cabo la fagocitosis del tejido necrótico y la destrucción de los microbios ingeridos y de las partículas extrañas. Además, se liberan numerosos factores de crecimiento. Durante la etapa proliferativa se forman nuevos capilares y el tejido de granulación (angiogénesis), con fibroplasia y síntesis de nuevo colágeno y matriz extracelular. En la etapa de maduración se dan la remodelación y la reorganización del colágeno, con la consecuente contracción de la herida. Por último ocurre la fase de epitelización.<sup>5</sup>

Las heridas pueden dividirse en dos grupos principales: heridas agudas y heridas crónicas. Las primeras son ocasionadas por un repentino daño del tejido, como el que conlleva un traumatismo y pasan ordenadamente por el proceso de curación. En contraste, las heridas crónicas, como las úlceras de miembros inferiores, usualmente tie-

nen una causa subyacente como diabetes mellitus o insuficiencia venosa. Estas patologías producen daño repetido y prolongado a los tejidos, provocando un compromiso severo de los mismos. Las heridas crónicas no pasan normalmente por el proceso de curación y suelen estacionarse en la etapa inflamatoria.<sup>5,6</sup> La característica principal de las heridas crónicas es una inflamación no regulada y prolongada con cantidades excesivas de células inflamatorias como neutrófilos, monocitos y macrófagos, y elevadas concentraciones de citocinas pro-inflamatorias, proteasas y especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), todo lo cual conduce a la inactivación de los factores de crecimiento y a la destrucción tisular.<sup>1</sup> La presencia de tejido necrótico y bacterias en la herida propicia que persista la etapa inflamatoria. Las bacterias que afectan las heridas crónicas suelen residir en biopelículas y presentan diferentes características de crecimiento y perfiles de expresión génica respecto de las bacterias que se encuentran libres en el ambiente, conocidas como bacterias planctónicas. Las bacterias presentes en biopelículas están protegidas tanto de la acción antibiótica cuanto de las células y moléculas del sistema inmune del hospedero. Lo que complica aun más el problema es que los fragmentos y productos bacterianos liberados de las biopelículas atraen células del sistema inmune continuamente a la herida, y dado que los fagocitos activados son incapaces de eliminar las bacterias que se encuentran protegidas en las biopelículas, ROS y las proteasas que liberan eventualmente destruyen el tejido de la herida.<sup>2,7</sup> Para lograr la curación de las heridas crónicas, el tratamiento debe romper el impase de la etapa inflamatoria, permitiendo que la herida progrese a través de las distintas fases del proceso de curación.<sup>1</sup>

### Terapia con larvas de mosca

TLM es una miasis inducida artificialmente en un ambiente controlado bajo la estricta supervisión de médicos entrenados.<sup>5</sup> TLM con *Lucilia sericata* se ha utilizado en el tratamiento de heridas crónicas de difícil manejo, con una tasa de éxito que oscila alrededor de 68 % en lesiones que no responden a las terapias convencionales.<sup>1</sup>

#### 1. Historia

Desde tiempos remotos se han utilizado larvas en el tratamiento de heridas infectadas. La primera referencia escrita conocida fue asentada en el Antiguo Testamento, donde se cita la infestación por larvas de mosca como medida terapéutica. Sin embargo, evidencias históricas de los últimos mil años han documentado esta práctica entre los sanadores de diversas culturas, entre ellas los aborígenes *ngemba*

de Nueva Gales del Sur, la tribu *bill* del norte de Myanmar y en particular, los mayas, quienes empapaban telas con sangre de ganado y las exponían al sol para que los vendajes se llenaran de larvas antes de aplicarlos en ciertas heridas.<sup>8</sup>

Ambroise Paré, cirujano militar francés del siglo XVI, fue el primero en constatar los beneficios de TLM.<sup>6,8</sup> Describió el caso de un paciente que sufrió una profunda herida penetrante de cráneo con extensa pérdida de material óseo. El cirujano observó que, al cabo de varios meses, gran cantidad de larvas de mosca emergía de la herida y con el tiempo, el paciente logró recuperarse. Esta observación llevó a Paré a permitir la infestación de heridas con larvas de mosca durante periodos prolongados.<sup>8</sup> En el siglo XVIII, el barón Dominique-Jean Larrey, médico de los ejércitos de Napoleón, observó que, durante la campaña de Siria, las larvas de la mosca azul removían únicamente el tejido necrótico de las heridas y tenían efectos beneficiosos en el resto del tejido sano. Describió que las heridas no se encontraban infectadas y que la curación era muy acelerada debido a la presencia de las larvas.<sup>5,6,8</sup>

La primera aplicación intencional de larvas de mosca fue documentada por John Forney Zacharias, cirujano confederado durante la guerra civil estadounidense.<sup>6,8</sup> Por su parte, William Williams Keen, cirujano del ejército de Norte, también reportó la presencia de larvas de mosca en heridas que, pese a su mal aspecto, no ocasionaron daño alguno en las lesiones.

Durante la Primera Guerra Mundial, la tasa de mortalidad de las heridas abiertas se disparó a 70 % debido a que las herramientas antisépticas disponibles a menudo eran inadecuadas. En 1917 el doctor William S. Baer, cirujano ortopédico destacado en Francia, informó que utilizaba larvas de mosca para el tratamiento de fracturas expuestas y heridas abdominales. Para 1929, tras su nombramiento como profesor de ortopedia en la Universidad John Hopkins, Baer presentó un informe de 21 casos en los que el tratamiento primario para la osteomielitis había fallado, logrando su curación luego de dos meses de terapia con larvas de mosca.<sup>5,8</sup> Por consiguiente, el estadounidense propuso TLM como la intervención más rápida y exitosa para el tratamiento de osteomielitis crónica, aunque la contaminación de algunas heridas con *Clostridium tetani* y *Clostridium perfringens* llevó a Baer a la conclusión de que siempre era necesario aplicar larvas estériles en las heridas.<sup>6,8</sup> Gracias a sus investigaciones, Baer es considerado el fundador de la terapia moderna con larvas de moscas.<sup>5</sup>

Entre 1930 y 1940, TLM alcanzó su cenit utilizándose en más de 300 hospitales estadounidense como parte del esquema terapéutico para heridas. Sin embargo, a fines de

los años cuarenta, el uso generalizado de sulfonamidas, la producción industrial masiva de penicilina y el desarrollo de nuevos antisépticos provocaron el gradual abandono de la terapia con larvas, considerada por muchos como una herramienta anticuada.<sup>6,8</sup>

Llegada la década de 1990, la creciente resistencia antimicrobiana propició el resurgimiento de TLM,<sup>6,9,10,11</sup> terapia que ha recibido fuerte impulso de los estadounidenses Ronald Sherman y Edward Pechter, mientras que John Church ha fomentado su aplicación en el Reino Unido.<sup>8,10</sup> Debido al renovado interés en TLM, numerosos laboratorios de todo el mundo se han especializado en la producción de larvas de mosca con técnicas asépticas.<sup>8,9</sup> Por último, en 2004, la Administración de Medicamentos y Alimentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) aprobó el uso de TLM como tratamiento de heridas, considerando a las larvas como “dispositivos médicos” que sólo pueden utilizarse bajo prescripción.<sup>12</sup>

## 2. Método de aplicación de TLM

TLM puede aplicarse de dos maneras: como larvas sueltas depositadas directamente en la herida o como “paquetes de larvas” –pequeñas bolsas de gasa (bio-bolsa) que se colocan en la lesión.<sup>13</sup> Un estudio que comparó la capacidad de desbridamiento de las larvas libres respecto de los paquetes reveló que 100 larvas desbridan alrededor de 50 gramos de tejido muerto, independientemente de la forma de aplicación. No obstante, los investigadores señalaron que el uso de larvas libres es el método más conveniente para tratar heridas grandes de forma irregular.

En general, se recomienda aplicar 10 larvas por centímetro cuadrado de herida.<sup>14</sup> Para ello, se utiliza un parche hidrocoloide al cual se le practica un orificio del tamaño de la herida. Esto permite proteger la piel circundante de las enzimas proteolíticas de las larvas y también sirve de base para el apósito adhesivo. A continuación, las larvas se introducen en una malla de nylon, la cual se plisa para formar una “jaula” que se coloca sobre la herida. La “jaula” de malla se fija al parche hidrocoloide con cinta adhesiva resistente al agua. Esto crea un apósito que, a su vez, se cubre con un parche absorbente (de gasa) sujeto con cinta o vendaje adhesivo.<sup>8</sup> Transcurridas 48 horas, se retiran las larvas con solución fisiológica. Cada aplicación tiene un costo aproximado de 100 dólares y su número dependerá del tamaño y la naturaleza de la herida aunque en general, tres aplicaciones son suficientes.<sup>14</sup>

## 3. Biología de *Lucilia sericata*

*Lucilia sericata* (clase *Insecta*; orden *Diptera*; familia *Calliphoridae*<sup>6,15,16</sup>) es una mosca con hábitos necrófagos y una de

las especies predominantes en la fauna cadavérica. Es más común en los meses de verano y aunque tiene distribución cosmopolita,<sup>15,16</sup> ocurre naturalmente en las regiones tropicales de Colombia, Argentina, Brasil, Chile y Perú, entre otros.<sup>15</sup>

*L. sericata* es un insecto de tamaño mediano cuyo vientre muestra una coloración verde metálica.<sup>16</sup> En su hábitat natural, la hembra adulta deposita entre dos mil y tres mil huevos a lo largo de unas pocas semanas, aunque muy pocos embriones sobreviven hasta la adultez.<sup>5</sup> La hembra alcanza su periodo de mayor fecundidad entre las 2 y 4 semanas de vida, y antes de desovar habrá copulado con múltiples machos. Sin embargo, la deposición de huevos se posterga hasta el momento en que otras hembras se encuentren en el mismo punto del ciclo reproductivo, pues al aumentar la cantidad de larvas se incrementan las posibilidades de supervivencia.<sup>17</sup> Los huevos se depositan en grupos directamente en la fuente de alimento que nutrirá las larvas. El desarrollo de los embriones requiere de un ambiente húmedo para prevenir la desecación, por lo que a menudo se les encuentra anidados en cadáveres animales en descomposición o en heridas necróticas y húmedas.<sup>5</sup> Los huevos eclosionan entre 18 y 24 horas liberando las larvas en el primer estadio, las cuales miden entre 1 y 2 mm y comienzan a alimentarse inmediatamente mediante la secreción extracorpórea de gran cantidad de enzimas proteolíticas, las cuales licúan los tejidos hospederos produciendo un líquido semi-digerido rico en nutrientes. Las larvas continúan alimentándose durante 4 o 5 días en los que realizan dos mudas (segundo y tercer estadio) hasta alcanzar un tamaño de 8 a 10 mm.<sup>5,6</sup> A partir de ese momento, dejan de alimentarse y abandonan la herida o el cadáver para buscar un lugar seco en el suelo, donde se transforman en pupas. Concluida la metamorfosis, la mosca adulta emerge de la pupa,<sup>5</sup> primero los machos y más tarde las hembras. No obstante, toda población de pupas guarda siempre una proporción machos/hembras de 1:1. Inicia entonces un período reproductivo intenso y al cabo de 6 semanas, los machos mueren seguidos al poco tiempo por las hembras. De lo antes descrito se deduce que la función primaria de la larva es la alimentación, en tanto que la del imago o adulto es la propagación.<sup>17</sup>

Las larvas utilizadas en la clínica deben ser estériles, de allí que sean producidas en laboratorios. En preparación para su uso terapéutico, las moscas desovan en hígado porcino y después se separan los huevos para esterilizarlos químicamente.<sup>5</sup> Parte fundamental del proceso de desinfección es eliminar una pegajosa masa de albúmina que los cubre y atrapa bacterias; y a tal fin, se han propuesto diversos métodos. En un estudio los huevos fueron

separados con agua mediante manipulación mecánica y posteriormente desinfectados con solución de cloramina, desinfectante económico de gran utilidad para erradicar bacterias, virus y hongos.<sup>17</sup> Otros investigadores sumergieron los huevos sucesivamente en soluciones de hipoclorito de sodio 0.5 % y formaldehído 10 % para después lavarlos en solución de cloruro de sodio 0.15 M.<sup>16</sup>

Las larvas recién nacidas deben utilizarse en las primeras 8 horas posteriores a la eclosión o refrigerarse a temperaturas de entre 8 y 10 °C para ralentizar su metabolismo.<sup>6</sup> Un estudio determinó la duración de cada estadio del ciclo de vida de *L. sericata* en condiciones de laboratorio, estableciendo los siguientes rangos: huevo,  $0.8 \pm 0.1$  días; larva de primer estadio,  $1.1 \pm 0.02$  días; larva de segundo estadio,  $1.94 \pm 0.16$  días; larva de tercer estadio,  $3.5 \pm 0.54$  días; y pupa,  $6.55 \pm 0.47$  días. Machos y hembras adultos suelen vivir  $28.7 \pm 0.83$  días y  $33.5 \pm 1.0$  días, respectivamente. Dicho estudio logró una producción de  $184.51 \pm 11.2$  huevos por hembra a lo largo de su ciclo de vida.<sup>15</sup>

#### 4. Mecanismos de acción de TLM

Diversos estudios han demostrado múltiples mecanismos de acción para explicar los efectos de TLM en las heridas crónicas. Dichos mecanismos pueden agruparse en tres categorías fundamentales: desbridamiento, eliminar la infección y promover la curación de la herida.<sup>5,11</sup>

a) **Desbridamiento:** Es el mecanismo más comúnmente aceptado para TLM. El desbridamiento se lleva a cabo mediante la producción de enzimas digestivas y también por acción mecánica. Las larvas producen numerosas enzimas proteolíticas que degradan los componentes de la matriz extracelular,<sup>4,6,8,18</sup> entre ellas: carboxipeptidasas A y B, leucina-aminopeptidasa, collagenasa y dos serina-proteasas (enzimas similares a tripsina y quimiotripsina). Un estudio británico demostró la presencia de cuatro enzimas proteolíticas en las secreciones/excreciones (SE) de *L. sericata*: dos serina-proteasas, una metaloproteínasa y una aspartil-proteínasa, con pesos moleculares de entre 20 y 40 kDa y actividad en un amplio rango de pH. La enzima similar a la quimiotripsina mostró excelente actividad para degradar componentes de la matriz extracelular, como laminina, fibronectina y colágenos tipo I y III, de allí que pueda desempeñar un papel fundamental en la degradación de la matriz extracelular y el desbridamiento eficaz.<sup>5</sup> Las larvas ingieren el material necrótico parcialmente digerido sin afectar al tejido sano,<sup>19</sup> aunque también ejercen una acción mecánica al utilizar sus ganchos bucales o mandíbulas para fijar-

se y desplazarse por los tejidos.<sup>4,6,8,18</sup> Una investigación demostró que la larvas reducen considerablemente el tiempo requerido para desbridar una herida respecto de otras terapias convencionales, como el hidrogel.<sup>20</sup>

- b) **Eliminar la infección:** Al parecer, las SE larvares poseen propiedades antibacterianas debido a que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas (incluido SARM) y anaeróbicas, con un efecto menor en Gram negativas como *P. aeruginosa* o *Proteus* spp.<sup>4,5,6,21,22</sup> De hecho, un estudio demostró que *P. aeruginosa*, mediante un mecanismo dependiente de las moléculas del quórum sensing, es capaz de expresar factores de virulencia que matan a las larvas de *L. sericata* y limitan su acción en heridas intensamente colonizadas por la bacteria. Por ello, no deberá utilizarse la terapia con larvas en este tipo de lesiones a menos que el paciente haya sido previamente tratado contra *P. aeruginosa*.<sup>22</sup>

Se ha propuesto que las larvas eliminan la infección por tres mecanismos: ingestión de bacterias, irrigación de la herida y producción de sustancias con propiedades antimicrobianas.<sup>6,8,9,2</sup> Un estudio que investigó la ingestión larvaria de *Escherichia coli* encontró que el segmento anterior del tubo digestivo de las larvas estaba más densamente poblado de *E. coli* (67 % de la superficie de la garganta contenía bacterias vivas) que el posterior (18% de la superficie estaba cubierta de bacterias vivas). A partir de este hallazgo, se llegó a la conclusión de que la destrucción bacteriana ocurre en el intestino larvario,<sup>6</sup> aunque la producción continua de SE también podría combatir infecciones mediante un efecto de irrigación sobre la herida que diluiría la concentración de bacterias presentes.<sup>23</sup>

Como se ha mencionado, las larvas secretan una gran variedad de sustancias con propiedades antimicrobianas que aparentemente se producen en el sistema inmune larvario como mecanismo de defensa frente al ambiente altamente contaminado de que se nutren.<sup>10</sup> Esta hipótesis ha sido reforzada por el hecho de que las SE de larvas no estériles tienen propiedades antimicrobianas más potentes que las SE de larvas estériles.<sup>9</sup> En apariencia, los insectos utilizan su sistema inmune innato para defenderse de las infecciones y dicho sistema depende de la detección y el reconocimiento de componentes microbianos —como peptidoglucano y lipopolisacáridos (LPS)— para precipitar una respuesta defensiva. Dado que las lectinas y las proteínas de reconocimiento de peptidoglucano son componentes importantes del sistema inmune de los insectos, es evidente que las larvas de *L. sericata* también producen sustancias con propiedades antimicrobianas. Una de

ellas es la lucifensina, que puede encontrarse en glándulas salivales, grasa corporal, SE y hemolinfa de *L. sericata* y ha demostrado su eficacia contra microorganismos Gram positivos, específicamente *Staphylococcus carnosus*, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*. Lucifensina también actúa contra SARM y *S. aureus* con sensibilidad intermedia a los glucopéptidos (GISA).<sup>10,23</sup>

Otra sustancia potencialmente implicada es el amonio, producto de la excreción larvaria que parece tener un efecto positivo en el combate de las infecciones ya que, al aumentar el pH de la herida, genera condiciones desfavorables para la proliferación bacterianas.<sup>9</sup> Por otra parte, ácido fenilacético (AFA) y fenilacetaldehído (FAL) también han sido postulados como efectores de la actividad antibacteriana de TLM. Estas dos moléculas son producidas por una bacteria comensal que habita en el intestino de la larva, el *Proteus mirabilis*;<sup>4,9</sup> sin embargo, a pesar de las propiedades antibacterianas demostradas *in vitro*, AFA y FAL podrían desempeñar un papel secundario *in vivo* debido a que la alcalinidad del pH de SE disminuye la actividad antibacteriana de AFA y FAL se vuelve inestable.<sup>9</sup>

Aunque SE también tienen la capacidad de eliminar biopelículas, un estudio *in vitro* demostró que su eficacia varía en las diferentes especies bacterianas. En dicho estudio sólo se necesitaron 2 µg de SE por pocillo para eliminar las biopelículas de *S. aureus* en dos horas; en contraste, SE favorecieron inicialmente el desarrollo de las biopelículas de *P. aeruginosa*, que terminaron por degradarse tras 10 horas de exposición a concentraciones de 20 µg por pocillo. A diferencia de lo observado con *S. aureus*, no se registró efecto alguno en las biopelículas de *P. aeruginosa* a concentraciones SE de 2 µg, por lo que tendría que utilizarse mayor cantidad de larvas para el tratamiento de heridas infectadas por esta bacteria.<sup>7</sup> Otro estudio *in vitro* demostró que la concentración SE óptima para reducir las biopelículas es de 10-20 µg por pocillo (80-160 µg/mL). Dado que cada larva produjo SE 1.8 µg/hora, se llegó a la conclusión de que eran necesarias por lo menos dos larvas por centímetro cuadrado de herida para eliminar las biopelículas. Esa cifra es inferior a las 5-10 larvas por centímetro cuadrado que se requieren para lograr un desbridamiento adecuado de la herida.<sup>24</sup>

En apariencia, el efecto de SE sobre las biopelículas no estriba directamente en la muerte bacteriana, sino en que rompe la integridad de la matriz de la biopelícula y libera las bacterias al medio. El mecanismo por el cual SE rompen las biopelículas no es del todo comprendido; sin embargo, se ha sugerido que con-



tienen sustancias que podrían afectar las biopelículas. Esta conclusión emergió de un experimento, en el cual el calentamiento de SE ocasionó que perdieran por completo su efecto inhibitor en las biopelículas de *S. aureus*, mientras que su acción en las biopelículas de *P. aeruginosa* permaneció intacta.<sup>7</sup> Al romperse las biopelículas, las bacterias liberadas se vuelven vulnerables al ataque del sistema inmune y los antibióticos. Así pues, TLM tiene un efecto sinérgico con los antibióticos debido a que, cuando SE rompe la matriz de la biopelícula, las bacterias no pueden desarrollarse a partir de la matriz remanente y los antibióticos, el sistema inmunitario y la ingestión larvaria eliminan eficazmente las bacterias.<sup>2</sup> Una investigación que combinó SE con ciprofloxacina en cantidades inferiores a la concentración inhibitoria mínima obtuvo mejores resultados contra *S. aureus* que el uso de cada agente por separado, confirmando la existencia del efecto sinérgico de SE con un antibiótico. El estudio demostró también que la combinación de SE con ciprofloxacina retrasaba el desarrollo de resistencia antimicrobiana.<sup>23</sup> Se ha sugerido que antibióticos como vancomicina y clindamicina pueden utilizarse en combinación con TLM porque matan bacterias sin dañar las larvas.<sup>23</sup> Ahora bien, a diferencia de vancomicina y otros antibióticos catiónicos, daptomicina mata los patógenos sin inducir lisis y dado que las heridas crónicas se caracterizan por procesos inflamatorios prolongados y mal regulados, la ausencia de lisis bacteriana en pacientes tratados con daptomicina contribuye a disminuir la respuesta inflamatoria que evocan los productos bacterianos, favoreciendo el proceso de curación de la herida.<sup>2</sup>

- c) **Promover la curación de la herida:** TLM estimula la formación de tejido de granulación favoreciendo así el proceso de cicatrización. Esto se debe a que promueve la motilidad de los fibroblastos, acelera la remodelación de la matriz extracelular y coordina las respuestas celulares.<sup>4</sup>

Varios estudios han demostrado que las SE larvarias contienen sustancias que podrían romper el círculo vicioso inflamatorio que impide la curación de las heridas crónicas. En un estudio *in vitro* que evaluó el efecto de SE en los monocitos se determinó que dichas secreciones/excreciones suprimen las respuestas pro-inflamatorias de los monocitos sin eliminar su capacidad antimicrobiana. Las SE redujeron la producción de citoquinas pro-inflamatorias como la subunidad p40 de la interleucina 12 (IL-12p40), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y el factor inhibitor de la migración de los macrófagos (MIF), aunque se observó

un incremento en la producción de la interleucina 10 (IL-10), una citoquina con propiedades antiinflamatorias. Este efecto sobre la expresión de citoquinas persistió aun en los monocitos que fueron previamente estimulados por LPS, indicando que las SE pueden interferir con respuestas inflamatorias activas. SE reducen también las respuestas quimiotácticas de monocitos y neutrófilos frente a formil-metionina-leucina-fenilalanina (fMLP). Como se mencionó antes, no afectan la capacidad antimicrobiana de los monocitos ni de los neutrófilos; no interfieren con la capacidad de los monocitos para fagocitar y matar intracelularmente a *S. aureus*; y tampoco alteran la acción de los neutrófilos contra *Candida albicans*.<sup>1</sup> Otro estudio demostró que SE alteran la diferenciación de los macrófagos alejándolos del fenotipo pro-inflamatorio para llevarlos hacia un fenotipo pro-angiogénico. En dicho estudio, los macrófagos M1 que se habían diferenciado en presencia de SE produjeron menos citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-12p40 y factor inhibitor de migración de macrófagos) cuando fueron estimulados por LPS o ácidos lipoteicoicos. Además, SE favorecieron el desarrollo del fenotipo M2, el cual aumenta la producción del factor de crecimiento básico derivado de los fibroblastos y del factor de crecimiento derivado del endotelio vascular (VEGF). Todos estos efectos fueron logrados sin afectar la capacidad de fagocitosis de dichas células.<sup>25</sup> A partir de lo antes mencionado, podría decirse que SE larvarias reducen la migración de células inflamatorias a la herida y disminuyen la producción de citoquinas pro-inflamatorias en las células que ya se encuentran presentes en la lesión, sin alterar las propiedades antibacterianas de las células. De tal manera, disminuye la liberación de citoquinas pro-inflamatorias, ROS y proteasas, interrumpiendo la destrucción del tejido lesionado y creando un ambiente propicio para la curación.<sup>1</sup>

Se ha demostrado que SE de *L. sericata* pueden estimular la proliferación de fibroblastos y en presencia de concentraciones estimuladoras de factor de crecimiento epidérmico (EGF), ocasionan también el crecimiento de dichas células, lo que apunta al sinergismo de SE y EGF.<sup>9</sup> Así mismo, SE larvario favorece la migración de fibroblastos –alterando su adhesión al colágeno– y de fibronectina –promoviendo su motilidad y coordinando respuestas celulares.

Las serina-proteasas y las metaloproteinasas presentes en las SE juegan un papel importante en la remodelación de la matriz extracelular<sup>6,26</sup> pues la lisis de fibrina y los componentes de la matriz extracelular mediada por las enzimas presentes en SE favorece tam-

bién la liberación de efectores con actividad proliferativa, como los fragmentos de fibronectina. Esto fue confirmado en un estudio *in vitro* en el que se observó que la incubación de SE con fibronectina favorecía la liberación de pequeños péptidos bioactivos derivados de fibronectina, los cuales modulaban el comportamiento de los fibroblastos, su proliferación y migración, favoreciendo la formación de nuevo tejido y acelerando el proceso de curación de la herida. Como confirmación de esto, otro experimento demostró que SE estimulan la migración de los fibroblastos que se encuentran en superficies cubiertas con fibronectina.<sup>9</sup>

Dado que la proliferación y migración de los fibroblastos es sólo un componente de la formación del tejido de granulación, debe haber mecanismos adicionales que expliquen cómo TLM favorece la curación de las heridas. El proceso de neovascularización, que incluye angiogénesis y vasculogénesis, es uno de los eventos más importantes del proceso de curación porque restaura la perfusión vascular que provee el oxígeno y nutre al tejido en reparación. En la angiogénesis, las células endoteliales migran y proliferan para formar nuevos capilares que brotan y se ramifican de vasos preexistentes. Por otra parte, la vasculogénesis es un proceso *de novo* en el que se generan canales vasculares a partir de la incorporación, diferenciación, migración y proliferación de células progenitoras endoteliales provenientes de la médula ósea. VEGF tipo A (VEGFA) es un mitógeno del endotelio vascular que se expresa en grandes cantidades durante curación de las heridas y se considera crítico para el proceso de angiogénesis porque promueve y estimula todos los pasos en la cascada de dicho proceso. Los extractos de ácidos grasos de larvas secas de *L. sericata* (80% insaturados) afectan el proceso de neovascularización y han demostrado aumentar las concentraciones de VEGFA, así como el número de capilares neoformados en la etapa inflamatoria. Además, aumentan el porcentaje de contracción de la herida en las fases de granulación y de remodelación de la cicatriz.<sup>18</sup>

Otros componentes larvarios que favorecen la curación de las heridas son los factores de crecimiento de SE. Los factores de crecimiento están involucrados en el desarrollo de los invertebrados y como las larvas de *L. sericata* están en su etapa de crecimiento y desarrollo, se encuentran en concentraciones importantes en SE. Las investigaciones sobre factores de crecimiento en invertebrados han revelado que, en buena medida, estas moléculas se conservan a lo largo del ciclo evolutivo. De hecho, se han identificado importantes homo-

logías entre los factores de crecimiento de invertebrados y los factores de crecimiento humanos, como EGF y factor transformante del crecimiento. Por último, se ha establecido una reacción cruzada entre SE larvarias y un anticuerpo dirigido contra un factor de crecimiento humano, el factor de crecimiento de fibroblastos. Por todo esto, se postula que al menos parte de los efectos beneficiosos de la TLM se deben a reacciones cruzadas en que los factores de crecimiento de las larvas estimulan directamente la fibroplasia y por ende, la curación de la herida.<sup>9</sup>

### 5. Indicaciones y Contraindicaciones de TLM

TLM está indicada principalmente para la limpieza y desinfección de heridas crónicas con abundante material fibrinoide, tejido necrótico o infectadas. Existen muchos tipos de heridas en las que se puede utilizar TLM, cuyas contraindicaciones son escasas (Cuadro 1).<sup>6</sup> Además, el uso de esta terapia en combinación con antibióticos<sup>6,8</sup> produce beneficios adicionales en el tratamiento de heridas infectadas. TLM ha sido utilizado para el tratamiento de leishmaniasis cutánea en animales, lográndose la cicatrización efectiva y curación de lesiones localizadas. Por es-

**Cuadro 1.** Indicaciones y contraindicaciones de la terapia con larvas de mosca

INDICACIONES <sup>6</sup>	CONTRAINDICACIONES <sup>6</sup>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Úlceras de pacientes diabéticos</li> <li>• Úlceras venosas</li> <li>• Úlceras neuropáticas no diabéticas</li> <li>• Úlceras arteriales/isquémicas</li> <li>• Úlceras de presión</li> <li>• Tromboangeítis obliterante</li> <li>• Heridas postraumáticas</li> <li>• Fascitis necrotizante</li> <li>• Pioderma gangrenoso</li> <li>• Seno pilonidal</li> <li>• Osteomielitis</li> <li>• Infecciones de sitio quirúrgico</li> <li>• Heridas quirúrgicas que no sanan</li> <li>• Infecciones de heridas por proyectil de arma de fuego</li> <li>• Úlceras de origen neoplásico</li> <li>• Quemaduras</li> <li>• Heridas infectadas por SARM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Heridas secas</li> <li>• Heridas abiertas con comunicación a cavidades corporales</li> <li>• Heridas en la proximidad de vasos sanguíneos de gran calibre</li> <li>• Pacientes alérgicos a huevo, soya o a larvas de mosca</li> </ul>

tas razones, TLM podría estar indicada en el tratamiento de pacientes en quienes la terapia convencional de leishmaniasis sea ineficaz o está contraindicada; sin embargo, se requieren estudios adicionales al respecto.<sup>27</sup> Los efectos adversos de la TLM son raros, pero pueden incluir: malestar leve en la herida y migración de larvas fuera de la lesión.<sup>6</sup>

## Conclusión

El tratamiento de las heridas crónicas con larvas de la mosca *L. sericata* ha producido muy buenos resultados. El mecanismo de acción de las larvas en las heridas crónicas no se ha esclarecido del todo, pero su excelente desbridamiento de tejido desvitalizado es indiscutible. Algunos estudios han encontrado que la terapia con larvas también favorece la formación de tejido de granulación y erradica infecciones, incluso las causadas por bacterias resistentes a múltiples antibióticos como SARM. Es por ello que, en tiempos de progresiva resistencia antimicrobiana y creciente dificultad para el desarrollo de antibióticos, TLM reemerge como una opción eficaz para el tratamiento de heridas crónicas de difícil manejo.

## REFERENCIAS

1. Van der Plas MJ, Baldry M, van Dissel JT, Jukema GN, Nibbering PH. "Maggot secretions suppress pro-inflammatory responses of human monocytes through elevation of cyclic AMP". *Diabetologia* 2009; 52(9): 1962-1970.
2. Van der Plas MJ, Dambrot C, Dogterom-Ballering HC, Kruithof S, van Dissel JT, Nibbering PH. "Combinations of maggot excretions/secretions and antibiotics are effective against *Staphylococcus aureus* biofilms and the bacteria derived therefrom". *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(5): 917-923.
3. Soares MO, Iglesias CP, Bland JM, Cullum N, Dumville JC, Nelson EA, et al. "Cost effectiveness analysis of larval therapy for leg ulcers". *BMJ* 2009; 338: b825.
4. Gentil I, Smirnova P. Larvaterapia. "Revisión sistemática de evidencia científica". *Revista Internacional de Ciencias Podológicas* 2009; 3: 45-52.
5. Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe NA. "Maggot Therapy: The Science and Implication for CAM Part I-History and Bacterial Resistance". *Evid Based Complement Alternat Med* 2006; 3(2): 223-227.
6. Chan DC, Fong DH, Leung JY, Patil NG, Leung GK. "Maggot debridement therapy in chronic wound care". *Hong Kong Med J* 2007; 13(5): 382-386.
7. van der Plas MJ, Jukema GN, Wai SW, Dogterom-Ballering HC, Lagendijk EL, van Gulpen C, et al. "Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*". *J Antimicrob Chemother* 2008; 61(1): 117-122.
8. Whitaker IS, Twine C, Whitaker MJ, Welck M, Brown CS, Shandall A. "Larval therapy from antiquity to the present day: mechanisms of action, clinical applications and future potential". *Postgrad Med J* 2007; 83(980): 409-413.
9. Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe NA. "Maggot therapy: the science and implication for CAM part II-maggots combat infection". *Evid Based Complement Alternat Med* 2006; 3(3): 303-308.
10. Andersen AS, Sandvang D, Schnorr KM, Kruse T, Neve S, Joergensen B, et al. "A novel approach to the antimicrobial activity of maggot debridement therapy". *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(8): 1646-1654.
11. Steenvoorde P, Jacobi CE, Van Doorn L, Oskam J. "Maggot debridement therapy of infected ulcers: patient and wound factors influencing outcome –a study on 101 patients with 117 wounds". *Ann R Coll Surg Engl* 2007; 89(6): 596-602.
12. Collier R. "Medicinal maggots cross border at a crawl". *CMAJ* 2010; 182(2): E123-124.
13. Petherick SE, O'Meara S, Spilsbury K, Iglesias CP, Nelson EA, Torgerson DJ. "Patient acceptability of larval therapy for leg ulcer treatment: a randomised survey to inform the sample size calculation of a randomised trial". *BMC Med Res Methodol* 2006; 6: 43.
14. Collier R. "New interest in maggot therapy". *CMAJ* 2010; 182(2): E121-122.
15. Rueda LC, Ortega LG, Segura NA, Acero VM, Bello F. "*Lucilia sericata* strain from Colombia: Experimental colonization, life tables and evaluation of two artificial diets of the blowfly *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae), Bogotá, Colombia strain". *Biol Res* 2010; 43(2): 197-203.
16. Figueroa L, Flores J, Rodríguez S. "Método de cultivo de larvas de moscas *Lucilia sericata* para terapia larval". *Parasitol Latinoam* 2007; 62: 79-82.
17. Wolff H, Hansson C. "Rearing Larvae of for chronic ulcer treatment –an improved method". *Acta Derm Venereol* 2005; 85(2): 126-131.
18. Zhang Z, Wang S, Diao Y, Zhang J, Lv D. "Fatty acid extracts from *Lucilia sericata* larvae promote murine cutaneous wound healing by angiogenic activity". *Lipids Health Dis* 2010; 9: 24.
19. Dumville JC, Worthy G, Soares MO, Bland JM, Cullum N, Dowson C, et al. "VenUS II: a randomised controlled trial of larval therapy in the management of leg ulcers". *Health Technol Assess* 2009; 13(55): 1-182.
20. Dumville JC, Worthy G, Bland JM, Cullum N, Dowson C, Iglesias C, et al. "Larval therapy for leg ulcers (VenUS II): randomised controlled trial". *BMJ* 2009; 338: b773.
21. Jaklic D, Lapanje A, Zupancic K, Smrke D, Gunde-Cimerman N. "Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria". *J Med Microbiol* 2008; 57(Pt 5): 617-625.
22. Andersen AS, Joergensen B, Bjarnsholt T, Johansen H, Karlsmark T, Givskov M, et al. "Quorum-sensing-regulated virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* are toxic to *Lucilia sericata* maggots". *Microbiology* 2010; 156(Pt 2): 400-407.
23. Arora S, Baptista C, Lim CS. "Maggot metabolites and their combinatory effects with antibiotic on *Staphylococcus aureus*". *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2011; 10: 6.
24. Cazander G, van Veen KE, Bouwman LH, Bernards AT, Jukema GN. "The influence of maggot excretions on PAO1 Biofilm formation on different biomaterials". *Clin Orthop Relat Res* 2009; 467(2): 536-545.
25. van der Plas MJ, van Dissel JT, Nibbering PH. "Maggot secretions skew monocyte-macrophage differentiation away from a pro-inflammatory to a pro-angiogenic type". *PLoS One* 2009; 4(11): e8071.
26. Horobin AJ, Shakesheff KM, Pritchard DI. "Promotion of human dermal fibroblast migration, matrix remodeling and modification of fibroblast morphology within a novel 3D model by *Lucilia sericata* larval secretions". *J Invest Dermatol* 2006; 126(6): 1410-1418.
27. Arrivillaga J, Rodríguez J, Oviedo M. "Evaluación preliminar en un método animal de la terapia con larvas de *Lucilia sericata* para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea". *Biomédica* 2008; 28: 305-310.