วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

บทความปริทัศน์
REVIEW ARTICLE

ตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียว *Lucilia sericata*: ทางเลือกสำหรับบาดแผลติดเชื้อ

ธารินี ไชยวงศ์ *

Received: *November 30, 2011*
Revised & Accepted: *February 28, 2012*

บทคัดย่อ

การรักษาแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวันจัดเป็นการรักษาแบบวิธีชีวภาพ ซึ่งเป็นวิธีโบราณในการสมานแผลติดเชื้อเรื้อรัง และปัจจุบันมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการรักษาแผลเรื้อรัง แผลติดเชื้อ และแผลที่รักษาด้วยวิทยาการทางการแพทย์ปกติไม่ประสบความสำเร็จ ตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียว *Lucilia (Phaenicia) sericata* ถูกนำมาใช้ในการรักษาแผล เนื่องจากสามารถรุกรานเนื้อเยื่อได้ โดยชอบเนื้อเยื่อที่เน่าเสียมากกว่าเนื้อเยื่อดี การรักษาบาดแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียวนี้อาศัยการทำงานของสารต่างๆ ที่มีในสารคัดหลั่งจากตัวอ่อน ร่วมกับกระบวนการสมานแผลโดยกลไกของร่างกายได้แก่ การกำจัดเนื้อเยื่อเสีย การทำลายเชื้อแบคทีเรีย และการกระตุ้นการสมานแผล บทความนี้ได้กล่าวถึง บทบาทในการรักษาแผลของตัวอ่อนของแมลงวัน การเตรียมตัวอ่อนสำหรับการนำไปใช้รักษาแผล รวมถึงบทบาทของสารคัดหลั่งจากตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* ในกระบวนการสมานบาดแผล การรักษาบาดแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวันเป็นวิธีที่มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ การพัฒนาชุดตัวอ่อนในการรักษาแผล จึงควรมีการศึกษาต่อไป เพื่อให้ผลการรักษาบาดแผลที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น อย่างไรก็ตามการรักษาแผลด้วยตัวอ่อนของหนอนแมลงวันเป็นเพียงการรักษาทางเลือกหรือการรักษาภายหลังจากวิทยาการทางการแพทย์ปกติไม่ประสบความสำเร็จ

คำสำคัญ: ตัวอ่อน, แมลงวันหัวเขียว, บาดแผลติดเชื้อ

วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
85 ถนนสถลมาร์ค อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190
* ผู้รับผิดชอบบทความ

วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

บทความปริทัศน์
REVIEW ARTICLE

The maggot of the blow fly, *Lucilia sericata*: an alternative for wound infection

Tarinee Chaiwong *

Abstract

Maggot therapy, also known as bio-therapeutics, is an ancient method for the healing of chronically infected wounds and has been used successfully to treat non-healing wounds, which have previously failed to respond to conventional treatment. This treatment method employs the use of freshly emerged, sterile larvae of the common green bottle fly, *Lucilia (Phaenicia) sericata*, and is a form of artificially induced myiasis in a controlled clinical environment. Maggot therapy has three core beneficial effects on wounds including debridement, disinfection and enhanced healing. In this article I will discuss the role of maggots and their preparation for clinical use, the evidence supporting the enzymatic degradation of necrotic tissue, potent antibacterial action of maggot secretions and maggot secretion stimulated granulation tissue formation. Maggot therapy has been shown to be a safe and effective means of chronic wound management but is not as widely utilized as it could be due to limitations on production of sterile maggots and education about its benefits. Future development of the delivery system may help to overcome some of these limitations and improve its acceptability.

Keywords: Maggot, Blow fly *Lucilia sericata*, Wound infection

College of Medicine and Public Health, Ubon-Ratchathani University,
85 Sathollamark Rd., Warin Chamrap Distinct, Ubon Ratchathani Province 34190
* Corresponding author: (e-mail: mdtarich@ubu.ac.th, trainee_cw@hotmail.com)

บทนำ

การรักษาแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวันจัดเป็นการรักษาแบบวิธีชีวภาพ (biotherapy) หรือ maggot debridement therapy (MDT) หรือ biosurgery ซึ่งเป็นวิธีโบราณในการสมานแผลติดเชื้อเรื้อรัง[1] ประโยชน์ของการรักษาแผลโดยใช้ตัวอ่อนของแมลงวันนี้ถูกค้นพบโดยชาวพื้นเมืองของออสเตรเลีย[2] และชาวอินเดียนเผ่ามายาในทวีปอเมริกา[3] ตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียว *Lucilia (Phaenicia) sericata* เป็นแมลงวันชนิดแรกที่ถูกนำมาให้ในการรักษาแผล[4]

แมลงวันหัวเขียว *L. sericata* จัดเป็น necrophagous insect มีความสำคัญทางด้านนิติเวชศาสตร์ สามารถใช้ในการประมาณระยะเวลาหลังการตาย (post-mortem interval; PMI) ได้ แมลงวันตัวเต็มวัยเป็นพาหะในการก่อโรคที่สำคัญ และตัวอ่อนสามารถรุกรานก่อให้เกิดโรคหนอนแมลงวัน (Myiasis)[5,6] ซึ่งรูปแบบการรุกรานของตัวอ่อนแมลงวันนี้จึงนำไปสู่การนำตัวอ่อนมาใช้ในการบำบัดบาดแผล ซึ่งตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* ได้รับความนิยมมากที่สุดในการนำมาใช้ในการรักษาบาดแผล เนื่องจากมีลักษณะเด่นที่สำคัญต่อการรักษาบาดแผลได้แก่ ตัวอ่อนของแมลงวันชนิดนี้สามารถรุกรานเนื้อเยื่อที่เน่าเสียมากกว่าเนื้อเยื่อดี ตัวอ่อนมีขนาดเล็กจึงไม่ทำให้บาดแผลได้รับการกระทบกระเทือนมากนัก มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วทำให้การรักษาใช้เวลาน้อย และสามารถเพาะเลี้ยงตัวอ่อนได้ง่ายในห้องเพาะเลี้ยงแมลงวัน[5-10] มีรายงานการใช้ตัวอ่อนของแมลงวัน *L. sericata* ในการในการรักษาแผลอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการรักษาแผลที่วิทยาการทางการแพทย์ปกติไม่ประสบความสำเร็จ เช่น แผลเรื้อรังของผู้ป่วยเบาหวาน แผล Osteomyelitis และแผลที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยา เช่น Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)[11] ปัจจุบันยังคงมีการใช้ตัวอ่อนของแมลงวันในการรักษาแผล ซึ่งเป็นวิธีการรักษาแผลที่วิทยาการทางการแพทย์ปกติไม่ประสบความสำเร็จ การศึกษากลไกในการสมานแผล สารคัดหลั่งจากตัวอ่อนแมลงวัน ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย การเลี้ยงตัวอ่อน เป็นประเด็นสำคัญและจำเป็นเพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับผู้ที่เกี่ยวข้องและสนใจ ในการใช้หนอนแมลงวันในการรักษาแผลเพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ถูกต้องต่อไป

ประวัติความเป็นมาของการรักษาแผลด้วยหนอนแมลงวัน

การรักษาแผลด้วยตัวอ่อนบำบัด หรือ Maggot therapy หรือ Maggot debridement therapy (MDT) หรือ Larval therapy ไม่ได้เป็นความรู้ใหม่แต่เป็นความรู้ที่ได้รับการสืบทอดมาตั้งแต่ประมาณ 1,000 ปีที่ผ่านมา โดยชาวอินเดียน เผ่ามายา ในทวีปอเมริกา ชาวเจมบาของประเทศออสเตรเลีย, ชาวที่ราบสูงในประเทศพม่า และชาวจีนในเมืองยูนาน[12] ได้ใช้ตัวอ่อนของแมลงวันในการทำความสะอาดบาดแผล แต่จุดเริ่มต้นของการใช้ตัวอ่อนบำบัดที่มีความสำคัญทางการแพทย์คือ การบันทึกข้อความในปี ค.ศ. 1829 ของนายแพทย์ Baron Dominic Larrey ซึ่งได้กล่าวถึงบาดแผลของทหารที่พบตัวอ่อนของแมลงวัน มีการสร้างเนื้อเยื่อสีชมพูและสมานแผลได้รวดเร็วกว่าแผลที่ไม่พบตัวอ่อนของแมลงวัน และเชื่อกันว่า John Zacharias เป็นบุคคลแรกที่ใช้ตัวอ่อนในการบำบัดบาดแผล เพื่อกำจัดเนื้อเยื่อเน่าเสียกับทหารที่บาดเจ็บจากสงคราม ต่อมาในปีค.ศ. 1917 ช่วงสงครามโลกครั้งที่ 1 ศาสตราจารย์นายแพทย์ William Baer ได้ใช้ตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* ในรักษาบาดแผลจากสงครามของทหารและบาดแผลติดเชื้อ Osteomyelitis ในเด็ก ต่อมามีการพัฒนาการปลอดเชื้อตัวอ่อนและตัวอ่อนบำบัดอย่างแพร่หลายในวงการแพทย์สมัยใหม่ ในประเทศอเมริกา แคนาดา และในยุโรป ปี ค.ศ. 1930 โรงพยาบาลมากกว่า 300 แห่งในอเมริกา ได้นำวิธีการรักษานี้ใช้กับผู้ป่วย ในปี ค.ศ. 1940 การใช้ตัวอ่อนบำบัดได้รับความนิยมลดลง เนื่องจากการค้นพบยาปฏิชีวนะ sulfa และ penicillin ที่สามารถใช้ในการรักษาแผลที่ติดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพและสะดวกต่อการใช้งาน แต่อย่างไรก็ตามช่วงปลายปี ค.ศ. 1940 เริ่มมีการรายงานการดื้อต่อยา และเพิ่มขึ้นเรื่อยมาจนถึง ปี ค.ศ. 1950 ทำให้ตัวอ่อนบำบัดกลับมาได้รับความนิยมอีกครั้ง ในปี ค.ศ. 1989 ประเทศเยอรมนีได้มีการฟื้นฟูวิธีการรักษาด้วยหนอนบำบัดขึ้นใหม่ เพื่อแก้ปัญหาแผลเรื้อรังเนื่องจากเบาหวาน ในปัจจุบันการรักษาแผลด้วยตัวอ่อนแมลงวันเป็นเพียงการรักษาทางเลือกหรือการรักษาหลังการรักษาโดยวิทยาการทางการแพทย์ปกติไม่ประสบความสำเร็จ โดยได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั่วโลกในทุกทวีป สำหรับในประเทศไทยมีการนำวิธีการนี้มาใช้ในการรักษาแผลเช่นกัน แต่ไม่พบรายงานอย่างเป็นทางการ

การเลือกชนิดแมลงวันในการรักษาแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวัน

แมลงวันถูกจัดให้อยู่ในลำดับ Diptera ซึ่งมีสายพันธุ์มากกว่า 120,000 สายพันธุ์ทั่วโลก ทั้งยังเป็น necrophagous insect มีแหล่งเพาะพันธุ์ในบริเวณซากศพหรือซากเน่าเสียของสัตว์มีกระดูกสันหลัง สำหรับในทางการแพทย์แมลงวันตัวเต็มวัยเป็นพาหะในการก่อโรคที่สำคัญ และตัวอ่อนสามารถรุกรานก่อให้เกิดโรคหนอนแมลงวัน หรือ Myiasis ซึ่งมีความรุนแรงและรูปแบบการรุกรานที่แตกต่างกันตามชนิดของแมลงวันตัวอ่อน แมลงวันชนิดที่เป็น Facultative myiasis นั้นหนอนแมลงวันอาศัยอยู่บนโฮสต์บางช่วงชีวิตเท่านั้น ดังนั้นจึงนำไปสู่การนำตัวอ่อนมาใช้ในการรักษาบาดแผล การเลือกชนิดของแมลงวันที่เหมาะสมสำหรับการใช้ในการรักษาบาดแผลนั้น ต้องคำนึงถึงทั้งความปลอดภัยและผลของการรักษา William Baer จึงเลือกใช้ตัวอ่อนแมลงวันชนิด *L. sericata* สำหรับการใช้รักษาบาดแผล และยังคงมีการใช้แมลงวันชนิดนี้มาจนถึงปัจจุบัน[8-10] เนื่องจากแมลงวัน *L. sericata* มีลักษณะเด่นที่สำคัญในการรักษาบาดแผลได้แก่ (1) แมลงวันหัวเขียวชนิดนี้จัดเป็น Facultative myiasis คือตัวอ่อนของแมลงวันชนิดนี้สามารถรุกรานเนื้อเยื่อได้ โดยชอบเนื้อเยื่อที่เน่าเสียมากกว่าเนื้อเยื่อดี จึงทำให้เป็นผลดีต่อการรักษาแผลที่ต้องการกำจัดเนื้อเยื่อที่เน่าเสีย แต่ไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อดีที่อยู่บริเวณรอบแผล ซึ่งเห็นได้จากการทดลองนำตัวอ่อนแมลงวันชนิดนี้เลี้ยงด้วยเนื้อเยื่อดีและเนื้อเยื่อที่เน่าเสีย พบว่าในเนื้อเยื่อดี ตัวอ่อนมีขนาดเล็กกว่าตัวอ่อนในเนื้อเยื่อที่เน่าเสีย ซึ่งมีลักษณะอ้วนและใหญ่กว่า[6] (2) ตัวอ่อนมีขนาดความยาวลำตัวสูงสุดเพียง 8-10 มิลลิเมตร จึงไม่ทำให้บาดแผลได้รับการกระทบกระเทือนมากนัก[7-9] (3) มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จึงทำให้สามารถกำจัดเนื้อเยื่อเน่าเสียได้อย่างรวดเร็ว ทำให้การรักษาใช้เวลาน้อย[10] (4) สามารถเพาะเลี้ยงตัวอ่อนได้ง่ายในห้องเพาะเลี้ยงแมลงวัน[5,10]

L. sericata ตัวเมียวางไข่เป็นกลุ่มขนาดใหญ่ประมาณ 2,000-3,000 ฟอง ในบริเวณแหล่งเพาะพันธุ์ซากศพหรือซากเน่าเสียของสัตว์มีกระดูกสันหลัง หรือในบริเวณที่มีความชื้น ภายใน 18-24 ชั่วโมง ตัวอ่อนจะฟักออกจากไข่ เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 (first instar larvae หรือ maggots) มีขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เป็นระยะที่ต้องการกินอาหาร ซึ่งถือว่าเป็นระยะที่เหมาะสำหรับการนำมาใช้ในการรักษาบาดแผลติดเชื้อ[8-9] ตัวอ่อนระยะนี้จะกินอาหารพร้อมทั้งมีการลอกคราบและเพิ่มขนาดเป็นระยะเวลาประมาณ 4-5 วัน จนกระทั่งตัวอ่อนมีขนาดประมาณ 8-10 มิลลิเมตร ตัวอ่อนจะไม่กินอาหาร โดยจะเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่แห้งเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้และเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไป[8-9]

กลไกการสมานแผลโดยการใช้ตัวอ่อนของแมลงวัน *L. sericata*

การสมานแผลตามปกติของร่างกาย อาศัยการทำงานระหว่างระบบเลือด ระบบภูมิคุ้มกัน และการทำงานของเซลล์บริเวณใกล้เคียง กลไกการสมานแผลโดยตัวอ่อนของหนอนแมลงวันต้องอาศัยการทำงานร่วมกันคล้ายการสมานแผลตามปกติ แต่สามารถให้ผลที่มีประสิทธิภาพมากกว่าด้วยสารจากตัวอ่อนของแมลงวันโดยอาศัย 3 กระบวนการคือ

1. การกำจัดเนื้อเยื่อเสีย[1,13,14] ตัวอ่อนของแมลงวันสามารถกินเนื้อเยื่อที่เน่าเสียได้ โดยการหลั่งสารคัดหลั่งซึ่งช่วยให้เนื้อเยื่อมีลักษณะเป็นสารกึ่งเหลว แล้วตัวอ่อนจึงสามารถกินได้ โดยในสารคัดหลั่งนั้นประกอบด้วย proteolytic enzymes หลายชนิด (**ตารางที่ 1**) ซึ่งอธิบายได้ดังนี้ (1) Trypsin-like serine proteases เป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ในการละลายลิ่มเลือด (fibrin clot) ผ่านตัวรับ Proteases-associated receptors (PARs) เนื่องจากการที่มีลิ่มเลือดปริมาณมากจะขัดขวางกลไกการสมานแผลและนำไปสู่การเกิดแผลชนิดเรื้อรัง (2) Chymotrypsin-like serine proteases เป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ในการสลายสารประกอบต่างๆที่เป็น extracellular matrix (ECM) ได้แก่ fibronectin, laminin, acid solubilized collagen type I, III ซึ่งเป็นผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ช่วยกระตุ้นการสมานแผล ดังรายละเอียดที่จะอธิบายต่อไป (3) Collagenase สามารถทำลายพันธะและสลายโมเลกุลของโปรตีน รวมทั้งการคืบคลานของตัวอ่อน (crawling of maggot) จะช่วยให้เอนไซม์ต่างๆ สามารถแทรกซึมลงสู่เนื้อเยื่อได้มากขึ้น ช่วยให้การทำงานของเอนไซม์มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ตารางที่ 1 สารคัดหลั่งจากตัวอ่อนแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* ที่ใช้ในการสมานบาดแผล

บทบาทในการสมานบาดแผล	ชนิดของสารคัดหลั่ง
กระบวนการกำจัดเนื้อเยื่อเสีย	Proteolytic enzymes[1,13-14] Chymotrypsin-like serine protease Trypsin-like serine protease Metalloproteinase (exopeptidase character) Carboxypeptidase A & B Aspartyl proteinase
การฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยสารจากตัวอ่อนแมลงวัน	Antimicrobial compound excretions/secretions (ES) Sapecin-B homologue[18] Three novel proline-rich antimicrobial peptides (AMPs) [18] Serine proteases[18] Insect lysozymes[18] Lucifensin[18]
การกระตุ้นการสมานแผล	Cytokines : IL-8, IL-10, gramma-interferon[8-9,21] Growth factors[8-9,21 Fibroblast growth Keratinocyte growth factor Insulin-like growth factor Fatty acid [26]

2. การทำลายเชื้อแบคทีเรียโดยสารจากตัวอ่อนของแมลงวัน[1,15] เชื้อแบคทีเรียเมื่อเข้าสู่ทางเดินอาหารของตัวอ่อนของแมลงวัน จะต้องทนทานต่อความเป็นกรดในทางเดินอาหาร ซึ่งจากการทดลองพบเชื้อแบคทีเรียในปริมาณมากในทางเดินอาหารส่วนต้นและกลาง (fore and mid gut) แต่ไม่พบเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหารส่วนปลาย (hind gut) ร่วมกับการทำงานของ *proteus mirabilis* ซึ่งเป็นเชื้อ normal flora ในทางเดินอาหาร จะผลิต antimicrobial peptides 2 ชนิดคือ phenylacetaldehyde และ phenylacetic acid มีคุณสมบัติเป็น antimicrobial peptides ซึ่งทำงานได้ดีในสภาพที่เป็นกรด ดังนั้นจึงไม่สามารถสกัดมาใช้กับแผลซึ่งมีสภาพเป็นเบส (pH 8-9) ได้ เนื่องจาก phenylacetaldehyde มีการทำงานลดลงและ phenylacetic acid ไม่คงตัว นอกจากนั้นในสารคัดหลั่งมี ammonia และ calcium carbonate ทำให้บาดแผลมีความเป็นเบส ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย รวมทั้ง allantoin ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้อได้หลายชนิด (broad spectrum antibacterial activity)

สารคัดหลั่งจากตัวอ่อนแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* ที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย หรือ antimicrobial compound excretions/secretions (ES) (**ตารางที่ 1**) มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิดทั้ง Gram-positive และ Gram-negative ได้แก่ methicillin-sensitive-*Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* [11,15-16] และยังมีการศึกษาพบว่าสารคัดหลั่งเหล่านี้มีผลในการลดอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคโดยเฉพาะ *Staphylococcus aureus*, Group A *Streptococci* และ

Group B *Streptococci* รวมถึงสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas sp.*[16-17] ได้อีกด้วย การศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ตัวอ่อนของหนอนแมลงวันมีความสามารถทำให้บาดแผลไม่มีการติดเชื้อแบคทีเรียได้ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าสารคัดหลั่งจากตัวอ่อนแมลงวัน *L. sericata* สามารถใช้ในการรักษาแผลที่ติดเชื้อแบคทีเรีย Gram-positive ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ได้ดี แต่ได้ผลน้อยในแผลติดเชื้อแบคทีเรีย Gram-negative โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *Proteus sp.*และ *Pseudomonas sp.* และพบว่าแบคทีเรียใน genus *Vagococcus* ดื้อต่อการรักษาด้วยสารคัดหลั่งจากตัวอ่อนแมลงวันชนิดนี้[1] มีการศึกษาผลของสารคัดหลั่งจากตัวอ่อนแมลงวัน *L. sericata* ร่วมกับการใช้ยา ciprofloxacin พบว่ามีผลในการรักษาแผลติดเชื้อแบคทีเรียชนิด multi-drug resistance *Staphylococcus aureus* ได้ดียิ่งขึ้น[11] นอกจากนี้ได้มีการค้นพบสารชนิดใหม่ lucifensin ซึ่งเป็นสารคัดหลั่งจากตัวอ่อนแมลงหัวเขียว *L. sericata* พบว่ามีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Streptococcus pneumonia*[18]

3. การกระตุ้นการสมานแผล[1] ในสารคัดหลั่งมีส่วนผสมระหว่าง allantoin, calcium carbonate และ urea ร่วมกัน กระตุ้นการกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) และการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ (granulation tissues) [8-9,19-20] มีการศึกษาพบว่า IL-8 และ IL-10[21] รวมถึง growth factors ได้แก่ fibroblast growth factor และ keratinocyte growth factor[8-9,21] ที่ช่วยกระตุ้นการสมานแผลด้วย โดยมีการคืบคลานของตัวอ่อนที่อาจมีผลให้สารต่างๆ สามารถแทรกซึมเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น[8-9,22] 20-hydroxyecdysone ซึ่งเป็น insect molting hormone สามารถกระตุ้นให้เซลล์ของคนในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เคลื่อนที่ได้[22] นอกจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลาย ECM แล้วยังมีผลมาช่วยใน pathway อื่นที่แตกต่างกันดังนี้ (1) กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ focal adhesion kinases (FAK) [23] ช่วยให้การเกาะกันระหว่างเซลล์ลดลงและมีผลต่อการควบคุมการหลั่ง growth factor และกระตุ้นที่บริเวณ integrin ทำให้เซลล์มีการเคลื่อนที่ (2) กระตุ้นการทำงานผ่าน PARs signals[8-9] เพิ่มการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) และควบคุมการหลั่งไซโตไคน์ (3) กระตุ้นการเกิดปฏิกิริยา tyrosine phosphorylation ผ่านทาง tyrosine kinase-linked receptor[23] ทำให้เกิดการหลั่ง growth factor และการทำงานของเซลล์ในด้านต่างๆ คือ การแบ่งตัวของเซลล์ การเคลื่อนที่ของเซลล์ และการสมานบาดแผล[24-25] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า fatty acid จากตัวอ่อนของหนอนแมลงวัน *L. sericata* ที่แห้ง มีผลช่วยในการสมานแผล จากกระบวนการ angiogenic activity ของสารสกัด[26]

ลักษณะบาดแผลที่มีการศึกษาและสามารถใช้หนอนบำบัดในการรักษา

1. Diabetic foot ulcers แผลเนื่องจากโรคเบาหวานบริเวณเท้า ซึ่งผลจากการรักษาด้วยหนอนบำบัดมีประสิทธิภาพมากกว่าการรักษาด้วยวิธีปกติ[27-29]

2. Decubitus ulcers, pressure ulcer แผลกดทับจากโรคเบาหวานและแผลกดทับอื่นๆ [21]

3. Traumatic wounds, Burn แผลจากอุบัติเหตุหรือแผลไฟไหม้ [12,31]

4. Amputation sites dehiscent surgical wounds แผลหลังการผ่าตัด[28]

5. Infected wounds แผลจากการติดเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งแผลจากการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา [1,11-12,16-17]

การทำตัวอ่อนของแมลงวัน *L. sericata* ให้ปลอดเชื้อ

1. การทำระยะไข่ให้ปลอดเชื้อ (1) การใช้พู่กันย้ายไข่จากตับหมูสดแช่ใน 2.5 % ฟอร์มาลดีไฮด์ (หรือ 1 % โซเดียมซัลไฟต์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ หรือ 5 % ฟอร์มาลินใน 1 % โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ สารละลายผสมระหว่างโซเดียมไฮโปคลอไรด์ เมอร์คิวริคคลอไรด์ และฟอร์มาลดีไฮด์ หรือ อะซิติคแอซิด) แล้วจึงนำไข่มาล้างด้วยน้ำกลั่น ละลายสารเคมีออกจากเปลือกไข่ และย้ายไข่ลงบนอาหารที่ปลอดเชื้อต่อไป[20,27,29] (2) นำไข่ที่ถูกเก็บจากตาของปลา *Scomberomorus niphonius* มาทำให้ปลอดเชื้อใน 1 % โซเดียมซัลไฟต์และไลซอล จากนั้นนำไข่ที่ปลอดเชื้อแล้วเก็บไว้ในขวดปลอดเชื้อ[16]

2. ระยะตัวอ่อน มีการศึกษาไว้หลายวิธีได้แก่ (1) ไข่ที่ผ่านการปลอดเชื้อแล้วมาล้างด้วยน้ำกลั่น และเลี้ยงตัวอ่อนด้วยวุ้นเลือดม้าที่ผสมยาปฏิชีวนะ kanamycin เพื่อป้องกันเชื้อราที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่อตัวอ่อนมีอายุ 1-2 วัน นำตัวอ่อนมาล้างด้วย 70 % เอทานอล น้ำกลั่น และซับน้ำส่วนเกินด้วยกระดาษกรอง[30] (2) ไข่ที่ผ่านการปลอดเชื้อแล้วลงใน 1

% โซเดียมซัลไฟต์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ ซึ่งมี 2.5 % ฟอร์มาลดีไฮด์ และเลี้ยงตัวอ่อนด้วย 3 % Bacto agar ที่มีตับหมูสดบดและยา kanamycin monosulfate เพื่อป้องกันเชื้อรา เมื่อตัวอ่อนมีอายุ 1-2 วัน นำตัวอ่อนมาล้างด้วยน้ำกลั่น ตามด้วย 3.5 % ฟอร์มาลดีไฮด์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ และน้ำกลั่น จากนั้นซับน้ำให้ตัวอ่อนหมาดด้วยกระดาษกรอง สามารถเก็บตัวอ่อนได้ 5 วันในที่อุณหภูมิ 7-8 องศาเซลเซียส[14] (3) นำตัวอ่อนระยะที่ 3 มาล้างด้วย 3.5 % ฟอร์มาลดีไฮด์ 2% ไฮโดรเจนเพอดรอกไซด์ 5 % ไฮโดรคลอลิกแอซิด แล้วจึงนำเก็บไว้ในขวดปลอดเชื้อ[16]

ตัวอ่อนแมลงวันตัวอ่อนของแมลงวัน *L. sericata* ที่ใช้ในการรักษาบาดแผล

ตัวอ่อนที่นำมาใช้ในการรักษาแผลสามารถแยกได้เป็น 2 ส่วนคือ (1) ตัวอ่อนจากห้องเพาะเลี้ยงแมลงวันที่ปลอดเชื้อ จำนวนตัวอ่อนต่อการรักษาขึ้นกับลักษณะบาดแผล ได้แก่ ความยาว ความกว้าง เส้นผ่านศูนย์กลาง ความลึก และปริมาณเนื้อเยื่อตาย โดยนิยมใช้ตัวอ่อนในลักษณะที่ไม่ได้ถูกบรรจุในถุงคือ ตัวอ่อนปลอดเชื้ออายุ 1-3 วัน จำนวน 5-8 ตัวต่อขนาดบาดแผล 1 ตารางเซนติเมตร การรักษาหนึ่งครั้งใช้เวลา 2-3 วัน 1 สัปดาห์น่าจะรักษาได้ไม่เกิน 2-3 ครั้ง ปัจจุบันมีการศึกษาวิธีการเลี้ยงตัวอ่อนแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* ที่เหมาะสมที่จะทำให้ได้จำนวนตัวอ่อนเพิ่มมากขึ้น เพื่อใช้ในการรักษาบาดแผล[5,10] (2) ตัวอ่อนจากบริษัทจัดจำหน่ายมีหลักการใช้ตัวอ่อนเช่นเดียวกับตัวอ่อนจากห้องเพาะเลี้ยง โดยแต่ละบริษัทมีลักษณะการรักษาที่ต่างกัน ตัวอ่อนในลักษณะที่ไม่ถูกบรรจุในถุงของ Bridgend™ จากประเทศอังกฤษ ใช้ตัวอ่อนอายุ 1-2 วันจำนวน 5-10 ตัวต่อตารางเซนติเมตร[29,32] ตัวอ่อนจากบริษัทในประเทศสหรัฐอเมริกาซึ่งใช้ชื่อว่า LB-01 strain of *Phaenicia (Lucilia) sericata* ใช้ปริมาณตัวอ่อน 5-10 ตัวต่อบาดแผลที่มีขนาด 1 ตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง[28] แสดงให้เห็นว่าการรักษาบาดแผลแต่ละบาดแผลจะต้องเลือกจำนวนหรือขนาดของถุงตัวอ่อนให้เหมาะสมต่อขนาดบาดแผล

การประยุกต์ตัวอ่อนของแมลงวัน *L. sericata* ในการรักษาบาดแผล

1. Hydrogel dressing เป็นรูปแบบการใช้สารคัดหลั่งของตัวอ่อนของแมลงวันชนิดหนึ่งที่อยู่ในขั้นตอนการทดลองในห้องปฏิบัติการที่จะเป็นการรักษาบาดแผล โดยไม่ต้องนำตัวอ่อนมาทำการรักษาโดยตรง แต่ใช้สารคัดหลั่งมาผสมกับแผ่นไฮโดรเจลสำเร็จรูปที่สะดวกต่อการใช้งาน ปัจจุบันหลายบริษัทที่มีการพัฒนาชุดตัวอ่อนในการรักษาแผลได้แก่ ชุดตัวอ่อน maggot confinement dressing ของ Le Flap™ (Monarch Labs, LLC, Irvine, CA) และชุดตัวอ่อน maggot containment dressing ของ Biobag™ (BioMonde Laboratories, Barsbüttel, Germany) เพื่อให้มีความสะดวกในการรักษาและป้องกันไม่ให้ตัวออกหนีออกจากแผลขณะทำการรักษา[28]

2. Lyophilized secretion เป็นการศึกษาคุณสมบัติการคงตัวของสารคัดหลั่งของตัวอ่อนแมลงวัน โดยเตรียมสารคัดหลั่งในรูปผง จากสารคัดหลั่งในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทดสอบประสิทธิภาพด้วย agar diffusion assay พบว่าสารคัดหลั่งในรูปผง เก็บที่อุณหภูมิน้อยกว่า 4 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียชนิด methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant *Enterococcus* และ *Escherichia coli* [30]

ข้อควรระวังในการรักษาแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวัน [27,29,33]

1. ไม่แนะนำให้ใช้ในหญิงตั้งครรภ์ ผู้ป่วยจิตไม่ปกติ และผู้ที่มีการรักษาบาดแผลด้วยยาปฏิชีวนะร่วมด้วย เนื่องจากข้อมูลการศึกษาในกรณีทั้ง 3 ยังไม่สมบูรณ์

2. ต้องมีป้องการการหลบหนีของตัวอ่อนแมลงวัน รวมถึงต้องให้ความชุ่มชื้นและออกซิเจนที่พอเพียงต่อการมีชีวิตของตัวอ่อน เนื่องจากตัวอ่อนมักจะมีการหลบหนีออกจากบาดแผลบริเวณที่ต้องการรักษา เพราะหากมีปริมาณตัวอ่อนที่น้อยเกินไปจะทำให้ pH ของบาดแผลไม่เหมาะสมต่อการรักษาบาดแผล

3. เกิดความเจ็บปวดในระหว่างการรักษา มักพบได้บ่อยกับบาดแผลที่ขาดเลือด (ischemic ulcer) และในระยะแรกของการรักษา 2-3 วัน แต่อย่างไรก็ตามสามารถระงับการเจ็บปวดได้ด้วยยา analgesics

4. การรักษาในบางกรณีอาจทำให้เลือดออก ตัวอ่อนบำบัดจึงไม่เหมาะสมต่อการรักษาบาดแผลของผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกง่ายหรือกินยาที่มีผลข้างเคียงต่อการระงับการทำงานของระบบเลือด

5. ภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ในผู้ป่วย

บางรายอาจเกิดภาวะภูมิไวเกินกับสารประกอบจากสารคัดหลั่งของตัวอ่อนเช่น แอมโมเนียโปรตีน นอกจากนี้ยังมีสารประกอบจากอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวอ่อน เช่น ถั่วเหลืองหรือ Brewer's yeast

บทสรุป

การรักษาบาดแผลโดยการใช้ตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* มีการใช้อย่างแพร่หลายก่อนการค้นพบยาปฏิชีวนะ เมื่อมีการค้นพบยาปฏิชีวนะทำให้การรักษาบาดแผลด้วยตัวอ่อนแมลงวันลดน้อยลง ปัจจุบันการดื้อต่อยาปฏิชีวนะเพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการนำการรักษาแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวันกลับมาใช้อีกครั้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการรักษาแผลเรื้อรังจากเบาหวาน และแผลที่ไม่สามารถรักษาด้วยที่วิทยาการทางการแพทย์ปกติ ซึ่งมีรายงานการใช้การรักษานี้ในหลายประเทศ ตัวอ่อนแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* สามารถรุกรานเนื้อเยื่อที่เน่าเสียได้มากกว่าเนื้อเยื่อที่ดี จึงถูกนำมาใช้ในการรักษาแผล ซึ่งในปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนที่ปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ รวมถึงมีหลายบริษัทที่จัดจำหน่ายตัวอ่อนแมลงวันชนิดนี้เพื่อใช้ในการรักษาแผล การรักษาบาดแผลด้วยตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียวนี้อาศัยการทำงานของสารต่างๆ ที่มีในสารคัดหลั่งจากตัวอ่อนร่วมกับกระบวนการสมานแผลโดยกลไกของร่างกายได้แก่ การกำจัดเนื้อเยื่อเสีย การฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และการกระตุ้นการสมานแผลตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการรักษาแผลด้วยตัวอ่อนแมลงวันนี้ยังขาดความรู้ทางชีววิทยา และผลข้างเคียงจากการรักษา ซึ่งได้แก่ ปฏิกิริยาภูมิไวเกินจากสารคัดหลั่ง ความเป็นพิษจากสารคัดหลั่ง เป็นต้น นอกจากนี้การพัฒนาชุดตัวอ่อนในการรักษาแผลและการนำส่วนประกอบของสารคัดหลั่งมาใช้ประโยชน์ จึงควรมีการศึกษาเพื่อให้ผลการรักษาบาดแผลที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น อย่างไรก็ตามการรักษาแผลด้วยตัวอ่อนของหนอนแมลงวันเป็นเพียงการรักษาทางเลือกหรือการรักษาภายหลังจากวิทยาการทางการแพทย์ปกติไม่ประสบความสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

1. Jaklic D, Lapanje A, Zupancic K, Smrke D, Gunde-Cimerman N. Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria. J Med Microbiol 2008; 57: 617-25.
2. Lee, D J. Human myiasis in Australia. Med J Aust 1968; 1: 170–3.
3. Weil GC, Simon RJ, and Sweadner WR. A biological, bacteriological and clinical study of larval or maggot therapy in the treatment of acute and chronic pyogenic infections. Am J Surg 1933; 19: 36–48.
4. Pechter E A and Sherman RA. Maggot therapy: the surgical metamorphosis. Plast Reconstr Surg 1983; 72: 567–70.
5. 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: 197-203.
6. Hall MJR, Wall R. Myasis in humans and domestic animals. Adv Parasitol 1995; 35: 258-334.
7. Grassberger M, Reiter C. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen-and isomorphen-diagram. J Forensic Sci 2001; 120: 32-6.
8. Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe NA. Maggot Therapy: The science and implication for CAM Part I-history and bacterial resistance. eCAM 2006; 3: 223-7.
9. Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe NA. Maggot Therapy: The science and implication for CAM Part II-history and bacterial resistance. eCAM 2006; 3: 303-8.
10. Firoozfar F, Moosa-Kazemi H, Baniardalani M, Khoobdel M, Rafinejd J. Mass rearing of *Lucilia sericata* Meigen (Diptera: Calliphoridae). Asian Pacific J Trop Biomed 2011; 54-6.
11. Arora S, Baptista C, Lim CS. Maggot metabolites and their combinatory effects with antibiotic on *Staphylococcus aureus*. Ann Clin Microb Antimicrob 2011; 10: 6.

12. Chan DCW, Fong DHF, Leung JYY, Patil NG, Leung GKK. Maggot debridement therapy in chronic wound care. Hong Kong Med J 2007; 13: 382-6.
13. Lerch K, Linde H-J, Lehn N, Grifka J. Bacteria ingestion by blowfly larvae: an *in vitro* study. Dermatology 2003; 207: 362–6.
14. Mumcuoglu KY, Miller J, Mumcuoglu M, Friger M, Tarshis M. Destruction of bacteria in the digestive tract of the maggot of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). J Med Entomol 2001; 38: 161–6.
15. Bexfield A, Nigam Y, Thomas S, Ratcliffe NA. Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Microbes Infect 2004; 6: 1297-304.
16. Wang S, Wang J, Lv D, Diao Y, Zhang Z. Clinical research on the bio-debridement effect of maggot therapy for treatment of chronically infected lesions. Ortho Surg 2010; 2: 201-6.
17. Bonn D. Maggot therapy: an alternative for wound infection. Lancet 2000; 356: 1174.
18. 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: 1646-54.
19. Leu H, Lee F. Maggot in surgery. Ann Coll Surg 2000; 4: 50-3.
20. Wollina U, Karte K, Herold C, Looks A. Biosurgery in wound healing—the renaissance of maggot therapy. J Eur Acad Dermatol Venereol 2000; 14: 285-9.
21. Sherman RA. Maggot versus conservative debridement therapy for the treatment of pressure ulcers. Wound Repair Regen 2002; 10: 208-14.
22. Prete PE. Growth effects of *Phaenicia sericata* larval extracts on fibroblasts: mechanism for wound healing by maggot therapy. Life Sci 1997; 60: 505-10.
23. Smith AG, Powis RA, Pritchard DI, Britland ST. Greenbottle (*Lucilia sericata*) larval secretions delivered from a prototype hydrogel wound dressing accelerate the closure of model wounds. Biotechnol Prog 2006; 22: 1690-6.
24. Horobin AJ, Shakesheff KM, Pritchard DI. Maggots and wound healing: an investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon the migration of human dermal fibroblasts over a fibronectin-coated surface. Wound Repair Regen 2005; 13: 422-33.
25. Horobin AJ, Shakesheff KM, Pritchard DI. Promotion of human dermal fibroblast migration, matrix remodelling and modification of fibroblast morphology within a novel 3D model by *Lucilia sericata* larval secretions. J Invest Dermatol 2006; 126: 1410-8.
26. 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 in Health and Disease 2010; 9: 1-9.
27. Sherman RA. Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy. Diabetes Care 2003; 26: 446-51.
28. Sherman RA. Maggot therapy takes us back to the future of wound care: New and improved maggot therapy for 21st Century. J Diabet Sci Tech 2009; 3: 336-44.
29. Wolff H, Hansson C. Larval therapy—an effective method of ulcer debridement. Clin Exp Dermatol 2003; 28: 134-7.
30. Kerridge A, Lappin-Scott H, Stevens JR. Antibacterial properties of larval secretions of the blowfly, *Lucilia sericata*. Med Vet Entomol

2005; 19: 333-7.
31. Gurunluoglu R, Glasgow M. Clinical experiences with the hydrosurgical debridement tool at a Level I Trauma Hospital. Open Reconstructive and Cosmetic Surgery 2009; 2: 1-6.
32. Wollina U, Liebold K, Schmidt WD, Hartmann M, Fassler D. Biosurgery supports granulation and debridement in chronic wounds—clinical data and remittance spectroscopy measurement. Int J Dermatol 2002; 41: 635-9.
33. Chambers L, Woodrow S, Brown AP, Harris PD, Phillips D, Hall M, et al. Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds. Br J Dermatol 2003; 148: 14-23.