



UNIRIO - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)

Escola de Medicina e Cirurgia (EMC)

TOMÁS CARDOSO YOKOZAWA

**O IMPACTO DA EXCREÇÃO/SECREÇÃO NATURAL DE LARVAS DE DÍPTEROS
EM FERIDAS: REVISÃO INTEGRATIVA**

RIO DE JANEIRO

2024

TOMÁS CARDOSO YOKOZAWA

**O IMPACTO DA EXCREÇÃO/SECREÇÃO NATURAL DE LARVAS DE DÍPTEROS
EM FERIDAS: REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de médico no Curso de Medicina da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO.

Orientadora: Profa. Dra Cláudia Soares S. Lessa

RIO DE JANEIRO

2024

TOMÁS CARDOSO YOKOZAWA

**O IMPACTO DA EXCREÇÃO/SECREÇÃO NATURAL DE LARVAS DE DíPTEROS
EM FERIDAS: REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de médico no Curso de Medicina da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO.

Rio de Janeiro, de de

BANCA EXAMINADORA

Célia Garritano, Doutorado, UNIRIO

Eliane Rocha, Doutorado, UNIRIO

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Escola de Medicina e Cirurgia (EMC) da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). Essa instituição me forneceu e fornece um ambiente propício para a minha formação. Tenho orgulho em dizer que serei médico pela UNIRIO.

Gostaria de agradecer também a minha família. Sou de Goiás e ela me fornece todo o suporte para cursar Medicina fora de casa. Mesmo longe, a minha família está presente em todos os momentos. Até aqui já são horas de ligação. Discuto casos interessantes com meu pai, que é médico – o melhor médico que eu conheço. Peço conselhos para a minha mãe. Ligo para a minha irmã perguntando sobre as fofocas. Ainda que distante, nossas conversas são de uma família que se reúne todos os dias para o jantar. Quando volto para casa, tenho o sorriso mais verdadeiro de felicidade e aconchego. Quando retorno ao Rio, deixo o abraço apertado de despedida, mas com um objetivo.

Gostaria de agradecer ainda aos meus amigos. Eles são a família que me dei. Meus amigos, os de verdade, tornaram essa caminhada leve e muito mais divertida. Não consigo imaginar essa jornada sem eles e tenho a certeza de que escolhi os melhores.

Gostaria de agradecer, por fim, a minha orientadora: Cláudia Lessa. Ela foi a minha primeira orientadora. Comecei como monitor da disciplina de Parasitologia. Depois participei do projeto de Extensão sobre Terapia Larval. Por último, fiz Iniciação Científica sobre a Excreção-Secreção Natural de larvas de dípteros. Foi com a Cláudia que fiz a minha primeira apresentação em um congresso. Ela me ajudou a andar no mundo acadêmico. Aprendi muito além do objeto de estudos dos projetos. Ela colaborou para a pessoa que sou hoje e auxiliou no desenvolvimento de outras habilidades exigidas do médico.

Sou muito grato a todos que colaboraram nesse processo de formação. E espero alcançar o meu objetivo: não ser apenas um bom médico, mas um médico bom. Muito obrigado!

RESUMO

Objetivo: Sintetizar as ações da NES em feridas. **Metodologia:** Foi realizada uma RI. Foram selecionadas publicações de 2018 a junho de 2023. Os artigos incluídos passaram por mecanismo de extração comum, conforme apêndice 01. **Resultados:** Durante a fase de hemostasia da cicatrização, a NES estimula-a, por via independente da ativação plaquetária. Na inflamação, a NES promove desbridamento químico. Ela possui ainda atividade contra o biofilme de *Staphylococcus aureus*. Em relação ao biofilme de *Proteus mirabilis*, os resultados foram discordantes. Quanto à atividade antimicrobiana, a NES também age seletivamente. Entretanto, o efeito contra *S. aureus* foi comprovado reiteradas vezes. Além disso, a NES modula a resposta inflamatória. Na fase proliferativa, a NES é capaz de estimular a angiogênese e a produção de MEC. No remodelamento, foi observada a maior expressão de fibras colágenas mais resistentes. Por fim, um curativo embebido em NES foi desenvolvido. **Conclusão:** A NES atua nas quatro etapas de cicatrização: hemostasia, inflamação (desbridamento, desinfecção e modulação da resposta imune), proliferação e remodelamento. Apesar disso, é necessário padronizar o meio para a sua obtenção, pois variações nesse processo geram NES com diferentes atividades. A partir dessa uniformização, a seletividade da NES será melhor esclarecida. Essa padronização também favorecerá a sua aprovação pelas agências reguladoras e a aplicação em humanos. Nesse sentido, além de observar resultados laboratoriais, será possível analisar os clínicos em humanos. Por fim, curativos embebidos em NES parecem promissores ao reduzirem a limitação de transporte, facilitarem a aceitabilidade, serem de fácil uso e aumentarem a adesão.

Palavras-chave: “feridas”, “cicatrização”, “terapia larval”, “natural excreção-secreção”.

ABSTRACT

Objective: To synthesize NES actions in wounds. **Methodology:** An Integrative Review was conducted. Publications from 2018 to June 2023 were selected. Included articles underwent a common extraction mechanism, as detailed in Appendix 01. **Results:** During the hemostasis phase of healing, NES stimulates it independently of platelet activation. In inflammation, NES promotes chemical debridement and exhibits activity against *Staphylococcus aureus* biofilm. Results regarding *Proteus mirabilis* biofilm were inconclusive. Concerning antimicrobial activity, NES also acts selectively. However, its effect against *S. aureus* was consistently demonstrated. Additionally, NES modulates the inflammatory response. In the proliferative phase, NES stimulates angiogenesis and extracellular matrix (ECM) production. In remodeling, increased expression of more resistant collagen fibers was observed. Finally, a NES-soaked dressing was developed. **Conclusion:** NES acts in all four stages of wound healing: hemostasis, inflammation (debridement, disinfection, and immune response modulation), proliferation, and remodeling. Nonetheless, standardization of the extraction process is necessary, as variations generate NES with different activities. This standardization will clarify NES selectivity. Moreover, it will facilitate regulatory approval and human application. Consequently, besides laboratory results, clinical outcomes in humans can be analyzed. NES-soaked dressings appear promising by reducing transportation limitations, enhancing acceptability, ease of use, and increasing adherence.

Keywords: "wounds", "healing", "larval therapy", "natural excretion-secretion".

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FDA – Food and Drug Administration

IL-6 – Interleucina 6

IL-8 – Interleucina 8

IL-10 – Interleucina 10

IL-12 – Interleucina 12

LPS – Lipopolissacarídeos

MEC – Matriz extracelular

MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina

NES – Natural excreção-secreção

NHS – Serviço Nacional de Saúde Britânico

RI – Revisão Integrativa

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

TGF- β – Fator de Crescimento Transformador β

TL – Terapia Larval

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral- α

Treg – Linfócitos T reguladores

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
3. METODOLOGIA	11
4. RESULTADOS	12
5. DISCUSSÃO	13
5.1. HEMOSTASIA	13
5.2. INFLAMAÇÃO	13
5.2.1 Desbridamento	13
5.2.2 Atividade antimicrobiana	15
5.2.3 Modulação da resposta imune	16
5.3 . PROLIFERAÇÃO	17
5.4. REMODELAÇÃO	18
5.5. CICATRIZAÇÃO OBSERVADA.....	18
5.6. CURATIVO	19
6 . CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	22
APÊNDICE 01.....	28

1. INTRODUÇÃO

As feridas crônicas, de acordo com um critério temporal, são definidas por uma duração maior do que três meses. Isso é consequência de um atraso em uma das quatro etapas de cicatrização: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento. A primeira fase é caracterizada pela vasoconstrição, agregação plaquetária e formação de rede de fibrina. Isso estanca o sangramento e permite o avanço no processo de cicatrização. O estágio seguinte é marcado pela liberação de citocinas pró-inflamatórias, que provocam a vasodilatação, facilitando o combate ao patógeno. E, ao final dessa segunda etapa, há a retirada dos debris. Caso a inflamação seja prolongada ou exacerbada, pode haver lesão mesmo do tecido viável e uma resposta inflamatória sistêmica. Na próxima etapa, ocorre a migração e proliferação celular e formação de novos vasos e matriz extracelular, que juntos fornecem um suporte estrutural para a cicatrização. Por fim, na fase de remodelamento, há a organização tecidual e formação de uma matriz mais resistente. (1).

Quanto à epidemiologia, a prevalência dessas feridas é de 2,2 a cada 1.000 habitantes (2). Esse valor tende a aumentar devido à associação com obesidade, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e envelhecimento, que estão relacionadas entre si e com o desenvolvimento populacional (3). Acerca do tratamento, devido ao atraso em alguma etapa do processo de cicatrização, ele é prolongado. Isso não apenas eleva o custo, mas também marca o manejo com sucessivas falhas (4). Além disso, em caso de infecção, o cuidado é ainda mais complexo (5). Esse contexto traz ao portador de ferida crônica um sofrimento biopsicossocial (6) – mais de 30% dos pacientes com ferida crônica sofrem de sintomas depressivos ou ansiosos, reduzindo a qualidade de vida (7).

Nesse cenário de feridas crônicas infectadas e com o aumento de bactérias multidrogas resistentes, a Terapia Larval (TL) ganhou destaque por ser eficaz, eficiente e economicamente mais viável do que os tratamentos convencionais (curativo com gaze de algodão, hidrogel, desbridamento cirúrgico e antibioticoterapia), já tendo sido aplicada e testada em humanos (8). Essa terapia consiste na aplicação controlada de larvas de moscas vivas, descontaminadas, necrobiontófagas (hábito alimentar exclusivo de material necrótico) e criadas laboratorialmente (6) Outrossim, a TL possui triplo mecanismo de ação: desbridamento (9), atividade antimicrobiana (10) e modulação da resposta imune (9). As principais espécies usadas com esse propósito são as larvas de moscas varejeiras (Diptera: Calliphoridae): *Lucilia sericata*

(Meigen, 1826) (11), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (12) e *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (13). Devido à distribuição geográfica e condições ambientais, nos Estados Unidos da América e Europa, usa-se principalmente a primeira espécie. Ao passo que as últimas duas são facilmente encontradas em países tropicais e subtropicais, como o Brasil, sendo até definidas como moscas terapêuticas brasileiras (6). Além dessa característica territorial, essas moscas são facilmente mantidas em laboratório, possuem rápido desenvolvimento e baixa especificidade de escolha do substrato para a oviposição. Esses atributos são ainda mais marcantes em larvas de *C. megacephala*. Essas características favorecem o fornecimento dos subsídios para o desenvolvimento da TL (14, 15)

Em 2004, o Food and Drug Administration (FDA) (16) e o Serviço Nacional de Saúde Britânico (NHS) (17) aprovaram essa terapia para o tratamento de feridas. Atualmente ela é realizada em mais de 3.000 instituições médicas no mundo (18). E a segurança e a efetividade desse tratamento foram reforçadas por um artigo de revisão de Sherman em 2014 (19).

Por outro lado, a aceitabilidade da TL é comprometida pelo asco às larvas (20). Além disso, a TL está contraindicada para o tratamento de feridas muito exsudativas ou muito secas e que se aproximam de grandes vasos ou cavidades (21). Outro fator limitante está relacionado à necessidade de um adequado armazenamento e transporte das larvas (22). Nesse sentido, uma alternativa à TL é a aplicação da excreção-secreção natural (NES) dessas larvas (23). Esse composto é produto do metabolismo larval (24). Acerca da obtenção da NES, será descrito, a seguir, uma das possibilidades para a sua aquisição. Os dípteros são capturados através de armadilhas de tubo de PVC, contendo isca proteica, como sardinha, no seu interior (25). Após a coleta, as moscas adultas são identificadas com estereomicroscópio, de acordo com Grella e Thyssen (26). Os dípteros de interesse são criados em laboratório, colocados em gaiolas a uma temperatura de $25 \pm 1,5$ °C e a uma umidade relativa de $70 \pm 10\%$. É fornecido substrato proteico animal, como fígado de galinha, com o objetivo de estimular as moscas a oviporem e a maturação dos folículos ovarianos, e fonte glicídica de açúcar com água (27; 28). Os ovos são transferidos para um bécher; dissociados com solução salina e pincel zero. Eles são descontaminados com solução de Glutaraldeído (Glutacin 28®), que é ativado com solução de bicarbonato de sódio a 12%, atingindo o pH de 8,3-8,5. Após a descontaminação, os ovos são transferidos para placas de Ágar sangue e, depois de eclodirem, as larvas alimentam-se por 72 horas, até o estágio de L2 (29) Depois desse processo, as larvas são deixadas em solução salina com papel alumínio e incubadas, por 1 hora, a 37°C, com o objetivo de induzir o estresse

e produzir exsudatos. A NES é coletada com seringa descartável, filtrada e centrifugada por 10 minutos a 4°C (30).

Essas substâncias de *Lucilia sericata*, *Chrysomya megacephala* e *Cochliomyia macellaria* possuem atividade antimicrobiana (13, 31, 32), promovem o desbridamento químico (33), regulam o processo inflamatório (34), possuem ação angiogênica (35) e estimulam o tecido de granulação (36). Desse modo, a NES possui efeito aditivo e sinérgico na cura de feridas (37), atuando em todos os processos de cicatrização. Apesar disso, a NES ainda não foi aprovada pelas agências reguladoras (38).

Diante disso, a NES parece ser uma alternativa promissora para o tratamento de feridas. Entretanto, devido às diferentes ações das excreções-secreções naturais e devido também à multidisciplinariedade (Enfermagem, Medicina e Psicologia) e desafios envolvidos no cuidado dessas lesões (39), a relação entre essa terapia e essa enfermidade é complexa. Por isso, é necessária uma abordagem ampla, atualizada, organizada e crítica do impacto da NES em feridas.

2. OBJETIVOS

Objetivo primário

- Sintetizar as diferentes ações da NES em feridas;

Objetivos secundários

- Realizar uma abordagem ampla, atualizada, organizada e crítica do impacto da NES em feridas;
- Verificar novas aplicações da NES em feridas;
- Avaliar a viabilidade do uso da NES;
- Contribuir para o uso da NES na prática clínica.

3. METODOLOGIA

Uma Revisão Integrativa fornece uma abordagem ampla, atualizada, organizada e crítica de um fenômeno analisado (40, 41). Não apenas pela complexidade do tema abordado

neste estudo, mas também pela necessidade desse tipo de evidência científica, justifica-se o emprego dessa metodologia.

A fim de elaborar esta revisão, foram realizadas as seguintes etapas: identificação de um problema com elaboração de pergunta norteadora, busca na literatura científica e coleta de dados, avaliação crítica dos resultados, análise e interpretação dos dados e apresentação desta Revisão Integrativa.

A pergunta norteadora foi: “Qual a ação da NES em feridas crônicas?”. Assim, este estudo teve como população as feridas crônicas e a intervenção foi a NES. As hipóteses iniciais foram a capacidade da NES de agir no desbridamento, na desinfecção, na modulação da resposta imune e no estímulo ao tecido de granulação.

A busca na literatura e coleta de dados foram realizadas nas bases de dados PubMed, Scielo, Scopus e Web of Science. Combinados com os operadores booleanos AND e OR, usaram-se os seguintes descritores: “excretions/secretions”, “ES”, “exosecretions”, “larvae” e “wounds”. Foram selecionadas publicações de 2018 a junho de 2023. Foram selecionadas publicações, a partir de 2018, pois, nesse ano, Yan *et al* (42) realizou a primeira revisão sobre as diferentes atividades da NES e esse trabalho está incluído nesta revisão. Assim as publicações anteriores a essa data também foram abarcadas. Não houve restrição de idioma. Os critérios de inclusão foram as publicações que avaliaram a ação do produto do metabolismo de *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), quando aplicados em feridas ou temas relacionados a ela. Os critérios de exclusão foram trabalhos que inferiam resultados sobre a NES, a partir da aplicação da TL. Também foram excluídos os artigos duplicados. As publicações foram selecionadas após leitura do título e resumo. Nos casos em que houve dúvida, os artigos foram lidos na íntegra.

Posteriormente foram resumidos e avaliados criticamente, com leitura na íntegra, e distribuídos sinteticamente, em apêndice 01, conforme as seguintes seções: autor/ano, tipo de estudo, principal(is) espécie(s) de larva(s) produtora(s) de NES do estudo, aplicação da NES, aspecto analisado e resultado (Apêndice 01).

4. RESULTADOS

Com os descritores e temporalidade descritos acima, na base de dados PubMed, foram contabilizadas 22 publicações, destas seis foram selecionadas. Na base de dados Scielo,

nenhum artigo foi encontrado. Na base de dados Scopus, 19 trabalhos foram identificados, 11 foram selecionados, oito eram duplicados e três foram incluídos. Por último, na base de dados Web of Science, 67 publicações foram detectadas, 10 foram selecionadas, oito estavam repetidas e duas foram incluídas. Dessa forma, esta revisão contabilizou 11 publicações.

Dentre essas produções científicas, quatro eram revisões e sete, experimentais. A espécie *Lucilia sericata* foi a mais estudada e estava presente em 10 dos 11 artigos. Além disso, o aspecto analisado mais abordado foi o efeito da NES na inflamação, mas todas as fases de cicatrização (hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento) foram abarcadas.

5. DISCUSSÃO

A discussão será apresentada em seções, de acordo com a ação da NES nas diferentes etapas de cicatrização (hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento). Serão abordadas também, em outras seções, a cicatrização ciclicamente observada, a partir da aplicação da NES, e uma nova possibilidade de meio para a sua aplicação.

5.1. HEMOSTASIA

A cicatrização é iniciada com a hemostasia, após a exposição das fibras colágenas. Essa exposição gera a agregação plaquetária – hemostasia primária. Posterior e concomitantemente, ocorre a hemostasia secundária: formação da rede insolúvel de fibrina (43). De acordo com Gazi *et al.* (44), a NES estimula a hemostasia, através de uma protease – serina – que induz o estancamento, por uma via independente da ativação plaquetária. Esse estímulo impede a perda sanguínea excessiva e favorece um ambiente favorável para as próximas etapas de cicatrização.

5.2. INFLAMAÇÃO

Na inflamação, a NES atua por diferentes mecanismos – desbridamento, desinfecção e modulação da resposta imune – que serão discutidos a seguir.

A perpetuação da fase inflamatória é geralmente a responsável por causar um arraste no processo de cicatrização (45). Talvez isso justifique a maioria das publicações desenvolvidas versarem, sobre a ação da excreção/secreção natural, na inflamação.

5.2.1 Inflamação: desbridamento

Acerca do desbridamento, em relação à remoção do tecido necrótico, a NES age, através de enzimas proteolíticas, promovendo um desbridamento químico e seletivo. Em comparação com a TL, a NES possui o benefício de poder realizar essa ação, mesmo em pacientes com feridas dolorosas, como os pacientes queimados. Assim, a seletividade é mantida, sem aumento de dor, pela técnica, no caso de lesões álgicas (46). Apesar de o desbridamento ser uma das principais vantagens estudadas na TL, sendo inclusive chamada também de Terapia do Desbridamento Larval (23), somente Amiri (46) relatou a ação da NES na remoção do tecido que não é mais viável. Além desse desbridamento químico, a TL também realiza um mecânico, pela ação dos ganchos orais e espinhos distribuídos ao longo do corpo (19). Por isso, talvez a NES seja um pouco menos eficiente temporalmente, mas a concentração em que esse composto foi aplicado também deve ser levada em consideração.

Ainda sobre o desbridamento, ele compreende também a remoção da matéria orgânica, incluindo o biofilme, que é um agregado de microrganismos aderidos a uma superfície e envoltos por uma substância polimérica extracelular (47). Essa estrutura está presente em aproximadamente 80% das feridas crônicas (48) e o seu correto manejo é um dos principais pontos ainda não solucionados, por sua propriedade inata de resistência aos antibióticos (47). Segundo Morris *et al.* (49), a NES atua por diferentes mecanismos em relação a remoção do biofilme: redução na expressão de genes bacterianos relacionados à maturação do biofilme, produção de nucleases que digerem componentes do biofilme e secreção de enzimas que degradam os polissacarídeos de adesão intercelular. Morris *et al.* (49) e Yan *et al.* (42) relataram que a NES teve ação contra o biofilme de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* e *Enterococcus faecalis*. Entretanto, segundo o primeiro autor, a NES não exerce ação sobre o biofilme de *Proteus mirabilis*, ao passo que, de acordo com Yan *et al.* (42), ela não apenas não atua sobre ele, como também estimula o seu crescimento. Isso demonstra a ação seletiva da NES contra diferentes espécies bacterianas e seus biofilmes, expondo a necessidade da sua testagem contra outros patógenos.

Além disso, as infecções de pele geralmente são polimicrobianas (49). Todavia, os estudos avaliaram a ação da NES apenas sobre o biofilme de infecções monomicrobianas. Nesse sentido, em caso de infecção polimicrobiana, sendo um dos patógenos *Proteus mirabilis*, não é possível precisar até aqui se os benefícios do uso da NES extrapolariam os malefícios.

Outrossim, a maioria dos estudos aplicou a NES em superfícies abióticas e *in vitro* (49). Desse modo, a sua efetividade ainda não está completamente testada. Algumas das superfícies abióticas usadas foram o polietileno e o titânio (42). Esses materiais são comumente usados para a fabricação de próteses articulares (50), indicando uma possível aplicação da NES na retirada do biofilme dessas estruturas infectadas e de infecções periprotéticas.

Por fim, em Morris *et al.* (49), a ação da NES foi avaliada em biofilmes com maturação de 24 horas. Entretanto, quanto maior é o tempo de maturação, maior é a sua tolerância aos tratamentos (51). A TL é capaz de remover biofilmes com formação há mais de 72 horas (52). Apesar disso, não é possível afirmar se a NES também seria capaz de degradar esses biofilmes maduros, ou se a presença da larva, na ferida, interferiria nesse desfecho, promovendo também uma ação que tem sua efetividade essencialmente dependente da ação mecânica exercida pelas larvas.

5.2.2 Inflamação: atividade antimicrobiana

Conforme Yan *et al.* (42), as principais substâncias com atividade antibacteriana isoladas na NES foram as Lucifensinas e Defensinas. Ainda de acordo com esse artigo de revisão, em algumas publicações, a NES teve melhor desempenho contra *Escherichia coli* do que contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Contudo, em outros, ela apresentou atividade antibacteriana contra *Streptococcus A e B*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, incluindo *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (MRSA), mas não teve ação contra *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*. Essa divergência pode ser resultado de inúmeros fatores, dentre eles estão a cepa da espécie bacteriana, número de larvas utilizadas para a produção da NES, o tipo de estresse dado as larvas para aumentar seu metabolismo, a concentração desse composto no momento da extração, a sua posterior diluição, a quantidade e volume total aplicados.

A despeito dessa discrepância, as demais publicações envolvidas nesta revisão que versam sobre isso (46, 53, 54) comprovaram a ação da NES contra *S. aureus* repetidas vezes, corroborando para a evidência de que a excreção/secreção natural possui ação contra essa espécie. A relevância desses estudos é devido ao fato de que mais de 90% das feridas crônicas estão infectadas por *S. aureus* (55).

Em Amiri *et al.* (46), a NES de *Lucilia sericata*, em diferentes concentrações, e Nitrofurazona foram testadas contra *S. aureus*, incluindo MRSA. Esse derivado da bioterapia puro se mostrou o mais efetivo.

Fonseca-Muñoz *et al.* (53) avaliaram a ação da Amicacina e NES de *Chrysomya rufifacies* e *Cochliomyia macellaria* contra *S. aureus*, através de teste colorimétrico. Com a concentração de 800 ppm, as NES desses dípteros inibiram o crescimento em respectivamente $97,45 \pm 1,7\%$ ($p < 0,0001$) e $82,21 \pm 1,88\%$ ($p < 0,0001$). Resultados semelhantes foram observados até a titulação de 100 ppm. Já com a concentração de 50 ppm, a inibição foi de $77,65 \pm 4,25\%$ para *Chrysomya rufifacies* e $43,54 \pm 4,63\%$ para *Cochliomyia macellaria*. Portanto, essa bioterapia com *Chrysomya rufifacies* é mais potente do que com *Cochliomyia macellaria* para o patógeno avaliado. Segundo o autor, *Cochliomyia macellaria* nem sempre produz uma NES com substâncias bactericidas, mas sim bacteriostáticas. Isso poderia justificar essa discrepância na inibição de *S. aureus*. Apesar disso, a excreção-secreção natural desse díptero não deve ser descartada como agente antibacteriano. Além disso, a partir dessa última diluição, a efetividade da NES está comprometida. Por outro lado, a Amicacina inibiu o crescimento em 100%. Apesar dessa maior inibição, esse antibiótico não propicia os outros benefícios que NES fornece no tratamento de feridas.

Zare *et al.* (54) avaliou a ação de NES e Gentamicina contra MRSA, em olhos de coelhos. Ambas resolveram a infecção de forma significativa e não foram tóxicas. Isso demonstra que o princípio da não maleficência foi respeitado. Contudo, não especificou qual a concentração de NES foi utilizada. Apesar disso, propõe uma nova aplicabilidade dessa bioterapia.

Além dessa ação direcionada contra bactérias, essa bioterapia também atua de forma inespecífica. Conforme Gazi, Taylan e Mumcuoglu (44) e Yan *et al.* (42), a NES eleva o pH, pois possui em sua composição amônio, ureia, cálcio e alantoína. Esse pH mais alcalino inibe o crescimento bacteriano.

Segundo Yan *et al.* (42), outra atividade antimicrobiana da NES é a sua ação contra os fungos. Tanto por essa elevação do pH, quanto pela presença de uma substância chamada Lucimucina, essa bioterapia desempenha função antifúngica contra Ascomycetos, Basidiomycetos e Zigomicetos. E, de forma mais direcionada, a NES também apresentou atividade contra *Candida albicans*, que é responsável por causar diversas infecções fúngicas no homem.

5.2.3 Inflamação: modulação da resposta imune

A fim da modulação da resposta imune, a NES atua por diferentes mecanismos, reduzindo a perpetuação da fase inflamatória. Gazi, Taylan e Mumcuoglu. (44) e Tombulturk e Kanigur-Sultuybek (23) observaram a redução de Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e Interleucina-12 (IL-12), que seriam liberados por macrófagos pró-inflamatórios de fenótipo M1. De acordo com esse primeiro autor, foi verificado ainda o decréscimo de Interleucina-8 (IL-8), por fibroblastos, quando estimulados por Lipopolissacarídeos (LPS). Ele atribui também à NES uma dupla ação no Sistema Complemento: degradação de C3a e C5a, pela proteína serina sensível ao calor, e redução do complexo C5b-9, mesmo em amostras tratadas com inibidor da serina. Essa última ação demonstra haver uma outra substância, além da serina, com capacidade anti-inflamatória com ação no Complemento. Essa menor resposta aos LPS e inibição de todas as vias do Sistema Complemento, ao reduzir C3a e C5a, que são comuns a todas elas, também foram atestados por Yan *et al.* (42).

Laboratorialmente, Lema *et al.* (56) observou, em córneas epiteliais humanas telomerase induzidas, a redução na expressão de Interleucina-6 (IL-6), IL-8 e TNF- α . Além disso, na concentração de 25 μ g/ml, durante 24 horas de exposição, diferentemente de Zare *et al.* (54), que não fez essa especificação, a NES também não apresentou caráter tóxico. Essa nova aplicabilidade da NES, apesar de parecer promissora, necessita de maiores estudos, como proposto pelo próprio autor, pois a córnea é uma estrutura avascular, e esse composto apresenta caráter angiogênico.

Em estudo experimental, Zhang *et al.* (57) buscou verificar se a NES seria capaz de substituir a função das células T reguladoras (Treg). Elas são responsáveis pelo equilíbrio entre sensibilidade e tolerância - homeostase da imunidade (58). Essa homeostase é fornecida, em partes, pela secreção de Interleucina-10 (IL-10) (59). Em células de baço de roedores tratadas com NES, foi percebido não só a maior concentração de IL-10, mas também de Treg. Isso mostra uma ação da NES na hemostasia da imunidade e na diferenciação celular.

Por fim, além dessa ação na fase inflamatória, a NES colabora para a transição dessa fase para a proliferativa. Conforme observado em Gazi, Taylan e Mumcuoglu (44) e Tombulturk e Kanigur-Sultuybek (23), a excreção-secreção natural favorece a diferenciação do fenótipo M1 para o fenótipo M2 de macrófagos. Estes produzem IL-10 e Fator de Crescimento Transformador β (TGF- β), impedindo a continuidade da fase inflamatória e estimulando a migração, angiogênese e contração da ferida.

5.3 PROLIFERAÇÃO

A fase proliferativa da cicatrização é caracterizada pela angiogênese, migração e crescimento celular (60). De acordo com Gazi, Taylan e Mumcuoglu (44) e Yan *et al.* (42), a NES favorece essa primeira característica ao aumentar a produção de Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF). Além dessa ação, Gazi, Taylan e Mumcuoglu (44) especificam ainda Histidina, Valinol e ácido 3-guanitidinopropiônico, como substâncias presentes na NES com caráter pró-angiogênico, por estimularem o crescimento endotelial. A formação de novos vasos é essencial para a cicatrização, à medida que fornece oxigênio e nutrientes e permite que cheguem à lesão células e fatores de crescimento. Isso mantém um ambiente propício para a continuidade da cicatrização.

Segundo esses autores e Tombulturk e Kanigur-Sultuybek (23), essa bioterapia favorece essa fase da cicatrização ainda, por estimular a migração e proliferação de queratinócitos e fibroblastos. De acordo com Gazi, Taylan e Mumcuoglu. (44), o peptídeo Lucilina é capaz de induzir a migração de queratinócitos humanos, que reparam a epiderme. Além disso, em concordância com Tombulturk e Kanigur-Sultuybek (23), a Serina, presente na NES, é capaz de estimular não apenas a migração, mas também proliferação de fibroblastos, que fornecem o suporte estrutural necessário.

Outra atividade da NES, na fase proliferativa, conforme Gazi, Taylan e Mumcuoglu (44), foi o aumento na transcrição de RNAs responsáveis pela expressão de matriz extracelular (MEC) e proteínas de adesão celular, promovendo um suporte físico para a cicatrização.

5.4. REMODELAMENTO

Na última fase da cicatrização – remodelamento – ocorre uma melhor organização tecidual e substituição das fibras colágenas tipo III por I (60). Segundo Gazi, Taylan e Mumcuoglu (44), em ratos com diabetes induzida, foi observado o aumento na expressão dessas fibras colágenas mais resistentes (fibras colágenas tipo I). Além disso, a serina e as glicosidases presentes na NES são capazes clivar o plasminogênio, gerando plasmina e promovendo a fibrinólise. Essas ações permitem que o sistema circulatório seja restaurado ao seu normal, após a cicatrização, e o tecido cicatrizado tenha maior estabilidade e resistência.

Outra ação da NES nessa fase foi notada por Tombulturk e Kanigur-Sultuybek (23). A serina é capaz de degradar a MEC. Isso favorece a organização tecidual à medida que reorganiza as fibras colágenas e gera um equilíbrio entre degradação e síntese de MEC.

5.5. CICATRIZAÇÃO OBSERVADA

Amiri *et al* (46) realizou queimaduras de 3° grau em quatro coelhos. Cada animal foi tratado com uma das opções a seguir: excreção/secreção natural de *Lucilia sericata* pura, NES com veículo em pomada, Nitrofurazona e placebo. O coelho tratado com NES pura apresentou a maior contração da ferida. Apesar de a população desse estudo ser pequena, essa aplicação corrobora para que as alterações laboratoriais descritas acima também resultem em repercussões clínicas.

Tombulturk *et al.*(61) analisou 20 roedores divididos em 4 grupos: diabético-induzido tratado com NES, diabético-induzido sem tratamento, saudável com tratamento e saudável sem tratamento. O diabetes foi induzido por estreptozotocina: agente antineoplásico tóxico para as células β -pancreáticas, que são produtoras de insulina. Foi realizada uma ferida no dorso dos animais com instrumental estéril. Quando adequado, a bioterapia foi realizada, com 50 μ l, a uma concentração de 50 μ g/ml de NES. Os animais diabéticos tratados tiveram uma cicatrização mais rápida, em comparação com os diabéticos não tratados, e semelhante aos grupos saudáveis tratados ou não. Isso comprova a efetividade da NES, para a cicatrização, na presença dessa comorbidades. A excreção/secreção natural torna o desfecho do grupo doente e saudável próximos, se a terapia for aplicada. Contudo, os saudáveis tratados e saudáveis sem tratamento tiveram uma taxa de cicatrização semelhante. Isso pode indicar que, na ausência de infecção e de diabetes, essa bioterapia não altera o desfecho. Por outro lado, como dito anteriormente, a fase inflamatória é comumente a responsável pelo atraso no processo de cicatrização.

5.6. CURATIVO

Giacaman *et al.* (62) desenvolveu um curativo de policaprolactona com polietilenoglicol (PCL/PEC) embebido em NES. Esse material foi biodegradável e perdeu 30% da sua massa em 12 meses. Além dessa característica ecológica, ele serviu de suporte para a migração e proliferação celular. Outras capacidades foram a de liberar a excreção/secreção natural, por pelo menos 21 dias, e manter a atividade desse composto ($98,0 \pm 2,6\%$). Yan *et al.* (42) colabora ainda para o desenvolvimento de um dispositivo semelhante. Segundo ele, apesar de a NES ter seu efeito inibido quando aquecida, ela permanece ativa, se armazenada em temperatura ambiente, por um mês. Essa nova forma de aplicação parece promissora pelos seguintes motivos: maior aceitabilidade em relação a TL, menor limitação de transporte e armazenamento e maior familiaridade e facilidade com o usuário.

6. CONCLUSÕES

A NES atua nas quatro etapas de cicatrização: hemostasia, inflamação (desbridamento, desinfecção e modulação da resposta imune), proliferação e remodelamento. Essa bioterapia age nas feridas, através de diferentes mecanismos de ação. Contra o patógeno, a excreção/secreção natural pode tanto combatê-lo diretamente, quanto reduzir a sua transcrição de genes. Já em favor do portador da ferida, ela ativa/inativa substâncias, estimula células e aumenta a transcrição de genes. Merece destaque a Serina, que atua em diferentes fases da cicatrização: estimula a hemostasia, degrada moléculas do Sistema Complemento, estimula a migração e proliferação de fibroblastos, degrada a MEC e cliva plasminogênio. Quanto à desinfecção, as principais representantes são Lucifensinas e Defensinas.

A despeito de a NES operar comprovadamente, em todas as fases de cicatrização, é necessário padronizar o meio para a sua obtenção: número de larvas utilizadas, concentração da excreção/secreção natural no momento da extração, tipo de estresse gerado para aumentar o metabolismo larval, volume de diluente, tipo de diluente, quantidade e volume total aplicados. Variações nesse processo geram NES com diferentes atividades. Ainda assim, essa bioterapia parece ter atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e não está indicada para *P. mirabilis*. Apesar disso, a partir da uniformização do processo de obtenção, a seletividade da NES será melhor esclarecida. Essa padronização também favorecerá a sua aprovação pelas agências reguladoras, como já ocorreu com a TL.

Outro ponto a ser melhor elucidado é a efetividade dessa terapia. Ela ainda não foi aplicada em humanos e as infecções de ferida geralmente são polimicrobianas. A interação entre NES, tecido humano e vários patógenos pode alterar o desfecho. Nesse sentido, além de observar resultados laboratoriais, é preciso analisar os clínicos.

Por fim, possibilidades promissoras para a aplicação da NES estão sendo desenvolvidas. Uma delas é o uso do metabolismo das larvas em pacientes queimados, em que não seria possível realizar a TL, mantendo-se a seletividade da bioterapia na ausência da dor relacionada à técnica. Outro destino são os colírios à base de NES. Além disso, há os curativos embebidos na excreção/secreção natural. Eles possuem menor limitação de transporte, facilitam a aceitabilidade, são de fácil uso e aumentam a adesão. Essas são características essenciais visto o contexto principalmente das feridas crônicas: tendência de aumento da prevalência, cuidado

multidisciplinar da lesão, difícil manejo e tratamento conservador prolongado, que aumenta o custo.

REFERÊNCIAS

- 1) Dynamed. Treatment of Chronic Wounds. Disponível em <<https://www.dynamed.com/management/treatment-of-chronic-wounds-18>> Acessado em 01/02/2022.
- 2) Martinengo, L; Olsson, M; Bajpai, R. *et al.* Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Annals of Epidemiology*. 2019; 29: 8–15.
<https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.10.005>.
- 3) World population prospects. World population prospects, Futuribles (Paris, France: 2019). Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12283219> >. Acessado em 25/11/2020.
- 4) Silva, K. F; Marchiori, M. R. C.T. Desvelando a Terapia Larval como alternativa no tratamento de lesões de pele: Revisão Integrativa. *Journal of Research Fundamental Care On Line*. 2013v5n3p66.
- 5) Bowler, P; Davies, B. J. The microbiology of acute and chronic wounds. *Wounds*. 1999; 1: 72–78.
- 6) Thyssen, P. J; Ferraz, J. B; Masiero, F. S; Suguimoto, P. U; Silva, S. M. Terapia do Desbridamento Larval: como a biologia atua em favor da reparação e cicatrização tecidual. Em: Parisi, M. C. R; Leite, C. R. M; Rosa, M. F. F. *Interdisciplinaridade no Contexto das Doenças dos Pés no Diabetes: Tratamentos Clínicos, Políticas Públicas e Tecnologia em Saúde*. Mossoró, RN: Editora UERN; 2021. p. 229-253.
- 7) Renner, R; Erfurt-Berge, C. Depression and quality of life in patients with chronic wounds: Ways to measure their influence and their effect on daily life. *Chronic Wound Care Management Res*. 2017; 4: 143–151.
- 8) Sherman, R.A. Maggot versus conservative debridement therapy for the treatment of pressure ulcers. *Wound Repair Regen*. 2002; 10: 208–214.
- 9) Masiero, F. S; Nassu, M. P; Soares, M. P; Thyssen, P. J. Histological patterns in healing chronic wounds using *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) larvae and other therapeutic measures. *Parasitology Research*. 2015; 114: 2865-2872.
- 10) Čeřovský, V; Bem, R. Lucifensins, the insect defensins of biomedical importance: the story behind maggot therapy. *Pharmaceuticals*. 2014; 7: 251-264.
- 11) Mumcuoglu, K. Y. Maggot debridement therapy. *Plast. Reconstr. Surg*. 2007; 120: 1738–1739.
- 12) Pinheiro, M. A. R. Q; Ferraz, J. B; Júnior, M. A. A; Moura, A. D; Costa, M. E. S. M; Costa, F. J. M. D; Neto, V. F. A; Neto, R. M; Gama, R. A. Use of maggot therapy for treating a diabetic foot ulcer colonized by multidrug resistant bacteria in Brazil. *Indian Journal of Medicine and Research*. 2015; 141: 340-342.

- 13) Masiero, F. S; Aquino, M. F; Nassu, M. P; Pereira, D. I; Leite, D. S; Thyssen, P.J. First record of larval secretions of *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae) Inhibiting the Growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Neotrop. Entomol. 2017; 46: 125–129.
- 14) Pinheiro, M. A. R. Q. Terapia larval: uso de larvas de *Chrysomya megacephala* (Diptera, Calliphoridae) no tratamento de úlceras crônicas em pacientes diabéticos no Hospital Universitário Onofre Lopes-Natal, RN [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2014. Disponível em <https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/23572/1/UsoterapiaLarval_Pinheiro_2014.pdf>. Acesso em 19 out. 2021.
- 15) Sherman, R. A. Maggot therapy takes us back to the future of wound care: new and improved maggot therapy for the 21st century. Journal of diabetes science and technology. 2009; v. 3, n. 2, p. 336-344.
- 16) Davydov, L. Maggot therapy in wound management in modern era and a review of published literature. J Pharm Pract. 2011; 24(1):89–93.
- 17) Gilead, L; Mumcuoglu, K. Y; Ingber, A. The use of maggot debridement therapy in the treatment of chronic wounds in hospitalised and ambulatory patients. J Wound Care. 2012; 21:78–85.
- 18) IBS (International Biotherapy Society). Maggot Debridement Therapy. Disponível em <http://biotherapysociety.org/maggot-debridement-therapy-mdt/>. Acessado em 01 de Agosto de 2023.
- 19) Sherman, R. A. Mechanisms of maggot-induced wound healing: what do we know, and where do we go from here? Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:592419. doi: 10.1155/2014/592419. Epub 2014 Mar 13. PMID: 24744812; PMCID: PMC3976885.
- 20) Steenvoorde, P; Buddingh, T. J; Van Engeland, A; Oskam, J. Maggot therapy and the “Yuk” factor: An issue for the patient? Wound Repair Regen. 2005; 13: 350–352.
- 21) Church, J. C. T. Larval therapy in modern wound care: a review. Primary Intention. 1999; v. 7, n. 2, p. 63-68.
- 22) Stadler, F. The maggot therapy supply chain: A review of the literature and practice. Med. Veter. Entomol. 2019; 34: 1–9.
- 23) Tombulturk, F. K; Kanigur-Sultuybek, G. A molecular approach to maggot debridement therapy with *Lucilia sericata* and its excretions/secretions in wound healing. Wound Repair Regen. 2021, Nov;29(6):1051-1061. doi: 10.1111/wrr.12961. Epub 2021 Aug 3. PMID: 34343386.
- 24) Simmons, S. W. A Bactericidal Principle in Excretions of Surgical Maggots which Destroys Important Etiological Agents of Pyogenic Infections. Journal of Bacteriology. 1935; vol. 30, n. 3, p. 253–267.

- 25) Mello, R. S; Queiroz, M. M. C; Aguiar-Colho, V. M. Population fluctuations of Calliphorid species (Diptera, Calliphoridae) in the Biological Reserve of Tinguá, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia Série Zoologia*. 2007; v. 97, n. 4, p. 481-485.
- 26) Grella, M. D; Thyssen, P. J. Chave taxonômica interativa para espécies de dípteros califorídeos (Infraordem: Muscomorpha) do Brasil [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual de Campinas, 2011. Disponível em http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/calliphoridae_brazil
- 27) Ferraz, A. C. P; Bosisiso, D. D; Aguiar-Coelho, V. M. Dieta para Larvas de *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria*, *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Entomo Brasiliis*. 2011; v. 4, n. 3, p. 125–129.
- 28) Sukontason, K; Piangjai, S; Siri wattanarungsee, S; Sukontason, K. L. Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: application in forensic entomology. *Parasitol. Res*. 2008; 102: 1207–1216.
- 29) Nunes, M. P; Debelian, A. C. M; Padilha, L. P; Azevedo, W. T. A; Carneiro, L. T; Silva, F. R. G; Lessa, C. S. S; Aguiar, V. M. Avaliação da relação entre peso e número de larvas esterilizadas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius: 1794) (Diptera: Calliphoridae): subsídios à Terapia Larval. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 2020; v. 3, p. 2310-2321.
- 30) Díaz-Roa, A; María, A. G; Nydia, A. S; Diana, S; Manuel, A. P; Felio, J. B. *Sarconesiopsis magellanica* (Diptera: Calliphoridae) excretions and secretions have potent antibacterial activity. *Acta Trop*. 2014; 136: 37–43.
- 31) Huberman, L; Gollop, N; Mumcuoglu, K. Y; Block, C; Galun, R. Antibacterial properties of whole body extracts and haemolymph of *Lucilia sericata* maggots. *J. Wound Care*. 2007; 16: 123–127.
- 32) Ratcliffe, N. A; Vieira, C. S; Mendonça, P. M; Caetano, R. L; Queiroz, M. M; Garcia, E. S; Mello, C.B; Azambuja, P. Detection and preliminary physico-chemical properties of antimicrobial components in the native excretions/secretions of three species of *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) in Brazil. *Acta Trop*. 2015; 147: 6–11.
- 33) Thomas, S; Jones, M; Shutler, S; Jones, S. Using larvae in modern wound management. *J Wound Care*. 1996; 5:60-69.
- 34) van der Plas, M. J; Jukema, G. N; Wai, S. W; Dogterom-Ballering, H. C; Lagendijk, E. L; van Gulpen, C; van Dissel, J. T; Bloemberg, G. V; Nibbering, P. H. Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother*. 2008; 61: 117–122.
- 35) Wang, S. Y; Wang, K; Xin, Y; Lv, D. C. Maggot excretions/secretions induces human microvascular endothelial cell migration through AKT1. *Mol Biol Rep*. 2010; 37: 2719–25. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9806-x>.
- 36) Chambers, L; Woodrow, S; Brown, A. P; Harris, P. D; Phillips, D; Hall, M; Church, J. C; Pritchard, D. I. 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.
- 37) Cazander, G; Pritchard, D. I; Nigam, Y; Jung, W; Nibbering, P. H. Multiple actions of *Lucilia sericata* larvae in hard-to-heal wounds: larval secretions contain molecules that accelerate wound healing, reduce chronic inflammation and inhibit bacterial infection. *Bioessays.* 2013; 35(12):1083-1092.
- 38) Ratcliffe, N.A; Mello, C. B; Garcia, E. S; Butt, T. M; Azambuja, P. Insect natural products and processes: New treatments for human disease. *Insect Biochemistry and Molecular Biology.* 2011; 41 (10), p. 747-769.
- 39) Watson, J; Smith, M. C. Caring science and the science of unitary human beings: a trans-theoretical discourse for nursing knowledge development. *J Adv Nurs.* 2002; 37(5): 452-61.
- 40) Russell, C. L. An overview of the integrative research review. *Prog Transplant.* 2005; 15(1): 8-13.
- 41) Torraco, R. J. Writing integrative literature reviews: guidelines and examples. *Hum Resour Dev Rev.* 2005; 4(3): 356-367.
- 42) Yan, L; Chu, J; Li, M; Wang, X; Zong, J; Zhang, X; Song, M; Wang, S. Pharmacological Properties of the Medical Maggot: A Novel Therapy Overview. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018; 2018: ID 4934890. doi: 10.1155/2018/4934890. PMID: 29853956; PMCID: PMC5960508.
- 43) Hall, J. E. *Tratado de fisiologia médica.* 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.
- 44) Gazi, U; Taylan-Ozkan, A; Mumcuoglu, K. Y. The effect of *Lucilia sericata* larval excretion/secretion (ES) products on cellular responses in wound healing. *Med Vet Entomol.* 2021 Sep; 35(3): 257-266. doi: 10.1111/mve.12497. Epub 2020 Dec 13. PMID: 33314340.
- 45) Zhao, R; Liang, H; Clarke, E; Jackson, C; Xue, M. Inflammation in chronic wounds. *International Journal of Molecular Sciences.* 2016; 17: 2085. <https://doi.org/10.3390/ijms17122085>.
- 46) Amiri, Z. S; Akbarzadeh, K; Douraghi, M; Abdi, K; Afshar, A. A; Ghaffari, J; Kordshouli, R; Akbari, M; Rafinejad, J. Effectiveness of maggot extractions and secretion (E/S) of *Lucilia sericata* in reducing wound surface in experimental scalding burn injury. *Nusantara Bioscience.* 2021; Vol. 13; No. 1; p. 11-15.
- 47) Singh, S; Singh, S. K; Chowdhury, I; Singh, R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *Open Microbiol. J.* 2017; 11; 53–62.
- 48) Malone, M; Bjarnsholt, T; McBain, A. J; James, G. A; Stoodley, P; Leaper, D; Tachi, M; Schultz, G; Swanson, T; Wolcott, R. D. The prevalence of biofilms in chronic wounds: A systematic review and meta-analysis of published data. *J. Wound Care.* 2017; 26: 20–25.

- 49) Bertesteanu, S; Triaridis, S; Stankovic, M; Lazar, V; Chifiriuc, M. C; Vlad, M; Grigore, R. Polymicrobial wound infections: Pathophysiology and current therapeutic approaches. *Int. J. Pharm.* 2014; 463: 119–126.
- 50) Sang, S; Guo, G; Yu, J; Zhang, X. Antibacterial application of gentamicin-silk protein coating with smart release function on titanium, polyethylene, and Al₂O₃ materials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021 May; 124: 112069. doi: 10.1016/j.msec.2021.112069. Epub 2021 Mar 26. PMID: 33947562.
- 51) Stewart, P. S. Antimicrobial Tolerance in Biofilms. *Microbiol. Spectr.* 2015; 3: 3.
- 52) Cowan, L. J; Stechmiller, J. K; Phillips, P. L; Yang, Q; Schultz, G. S. Chronic Wounds, Biofilms and Use of Medicinal Larvae. *Ulcers.* 2013; 2013, 487024.
- 53) Fonseca-Muñoz, A; Pérez-Pacheco, R; Ortega-Morales, B. O; Reyes-Estebanez, M; Vásquez-López, A; Chan-Bacab, M; Ruiz-Vega, J; Granados-Echegoyen, C. A. Bactericidal Activity of *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) Larval Excretions-Secretions Against *Staphylococcus aureus* (Bacillales: Staphylococcaceae). *J Med Entomol.* 2019 Oct; 28; 56(6): 1598-1604. doi: 10.1093/jme/tjz109. PMID: 31287880.
- 54) Zare, H; Jadidi, K; Farnoosh, G; Hosseindokht, M; Kieliszek, M; Aghamollaei, H. Evaluation of Excreta/Secreta of *Lucilia sericata* Larvae as a New Antibacterial Candidate for Treatment of MRSA Ocular Infection. *Biointerface Research in Applied Chemistry.* 2022; 12: 5638–5646. <https://doi.org/10.33263/briac124.56385646>
- 55) Withycombe, C; Purdy, K. J; Maddocks, S. E. Micro-management: curbing chronic wound infection. *Mol Oral Microbiol.* 2017 Aug; 32(4): 263-274. doi: 10.1111/omi.12174. Epub 2016 Oct 3. PMID: 27516380.
- 56) Lema, C; Baidouri, H; Sun, M; Pohl, S; Cookson, S; Redfern, R; McDermott, A. M. Anti-inflammatory and wound healing potential of medicinal maggot excretions/secretions at the ocular surface. *Ocul Surf.* 2022 Oct; 26: 244-254. doi: 10.1016/j.jtos.2022.09.003. Epub 2022 Sep 18. PMID: 36130696.
- 57) Zhang, J; Chen, J; Gao, C; Sun, X; Wang, L; Hu, Z; Li, G; Wang, J; Wang, A. Maggot treatment promotes healing of diabetic foot ulcer wounds possibly by upregulating Treg levels. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022 Feb; 184: 109187. doi: 10.1016/j.diabres.2021.109187. Epub 2022 Jan 8. PMID: 35016990.
- 58) Rothstein, D. M; Camirand, G. New insights into the mechanisms of Treg function. *Curr Opin Organ Transplant.* 2015; 20(4): 376–84.
- 59) Sakaguchi, S; Ono, M; Setoguchi, R; Yagi, H; Hori, S; Fehervari, Z. Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev.* 2006; 212(1): 8–27.
- 60) Landén, N. X; Li, D; Stahle, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2016; 73, 3861–3885. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>.

- 61) Tombulturk, F. K; Soydas, T; Sarac, E. Y; Tuncdemir, M; Coskunpinar, E; Polat, E; Sirekbasan, S; Kanigur-Sultuybek, G. Regulation of MMP 2 and MMP 9 expressions modulated by AP-1 (c-jun) in wound healing: improving role of *Lucilia sericata* in diabetic rats. *Acta Diabetol.* 2019 Feb; 56(2): 177-186. doi: 10.1007/s00592-018-1237-5. Epub 2018 Oct 9. PMID: 30302545.
- 62) Giacaman, A. G; Styliari, I. D; Taresco, V. *et al.* Development of bioactive electrospun scaffolds suitable to support skin fibroblasts and release *Lucilia sericata* maggot excretion/secretion. *SN Appl. Sci.* 2022; 4: 331. (<https://doi.org/10.1007/s42452-022-05209-3>)

Apêndice 01: Processo para extração comum dos dados das publicações incluídas nesta revisão conforme autor/ano, tipo de estudo da publicação, aplicação da NES, aspecto analisado e resultados

Autor/Ano	Tipo de estudo	Espécie de mosca	Aplicação da NES	Aspecto analisado	Resultado
Amiri <i>et al.</i> 2021	Experimental	<i>Lucilia sericata</i>	Queimadura em coelhos: <i>S. aureus</i> e MRSA	Cicatrização clínica; Inflamação	Redução da área da ferida; <i>S. aureus</i> e MRSA são sensíveis à NES
Fonseca-Muñoz <i>et al.</i> 2019	Experimental	<i>Chrysomya rufifacies</i> e <i>Cochliomyia macellaria</i>	<i>S. aureus</i>	Inflamação	<i>S. aureus</i> é mais sensível à NES de <i>Chrysomya rufifacies</i>
Gazi, Taylan e Mumcuoglu, 2021	Revisão	<i>Lucilia sericata</i> e <i>Lucilia cuprina</i>		Hemostasia, Inflamação; Proliferação ;	Indução da coagulação por via independente da ativação plaquetária; Modulação da resposta imune e atividade antimicrobiana por aumento do pH; Estímulo ao crescimento e migração celular.
Giancamann <i>et al.</i> 2022	Experimental	<i>Lucilia sericata</i>	PCL e PEG	Curativos	Curativo com NES
Lema <i>et al.</i> 2022	Experimental	<i>Lucilia sericata</i>	Células epiteliais de córnea humana e de ratos	Inflamação	Modulação da resposta imune

Morris <i>et al.</i> 2023	Revisão sistemática	<i>Lucilia sericata</i>	Biofilme	Inflamação	Degradação do biofilme de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> Não redução do biofilme de <i>Proteus mirabilis</i>
Tombulturk <i>et al.</i> 2018	Experimental	<i>Lucilia sericata</i>	Feridas em roedores	Cicatrização	Aumento da taxa de cicatrização em roedores com diabetes induzida.
Tombulturk e Kanigur-Sultuybek 2021	Revisão	<i>Lucilia sericata</i>		Inflamação Proliferação Remodelamento	Inibe a permanência da fase inflamatória; Estimula a proliferação e migração celular Degradação da MEC
Yan <i>et al.</i> 2018	Revisão	<i>Lucilia sericata</i>		Inflamação Proliferação Remodelamento	Atividade antibacteriana, antibiofilme, antifúngica, anti-inflamatória; Pró-angiogênica por estímulo de produção de VEGF; Estímulo a proliferação e migração de fibroblastos
Zare <i>et al.</i> 2022	Experimental	<i>Lucilia sericata</i>	MRSA em olhos de coelhos	Inflamação	Redução das unidades formadoras de colônia Redução da opacidade
Zhang <i>et al.</i> 2022	Experimental	<i>Lucilia sericata</i>	Células de baço de rato	Inflamação	Maior expressão de Treg