

무균 구리곰파리 유충 생산용 배지의 선발과 알 및 유충의 저장을 위한 온도 및 기간

장신애 · 윤지은 · 박정규*

경상대학교 농업생명과학연구원, 대학원 응용생명과학부(BK21 Program)

Selection of Rearing Media, Proper Temperature and Period for Storage of Sterile *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) Eggs and Larvae

Sin Ae Jang, Ji Eun Yun and Chung Gyoo Park*

Institute of Agriculture and Life Science / Division of Applied Life Science (BK21 Program), Graduate School, Gyeongsang Nat'l Univ., Jinju 660-701, Republic of Korea

ABSTRACT : Rearing media were selected for the production of sterile larvae of greenbottle blowfly, *Phaenicia* (= *Lucilia*) *sericata* (Meigen) which is widely used in maggot therapy. Eight media available in the market were used in this study. Egg hatchability was not different among the media. Survivorship of the larvae was higher in blood agar (BA), sabouraud dextrose agar, and brucella blood agar than the others. A higher content (20~40%) of sheep blood in BA and chocolate agar increased the survivorship of larvae. The eggs and the early 3rd larvae could be stored for 12 days at 8°C and for 15 days at 6°C without decrease in hatchability and larval survivorship, respectively.

KEY WORDS : Maggot therapy, *Phaenicia*, Diabetic ulcer, MDT, Rearing media

초 록 : 구더기 치료에 널리 이용되고 있는 무균 구리곰파리 [*Phaenicia* (= *Lucilia*) *sericata* (Meigen)]를 보다 손쉽게 사육하기 위한 배지를 선발하고, 알과 유충의 저장조건을 실험하였다. 시판되고 있는 8가지의 미생물 배양용 선택배지에서 실험한 결과, 알의 부화율은 배지 간에 차이가 없었고, 유충의 생존율은 1, 2차 실험결과 blood agar(BA), sabouraud dextrose agar 및 brucella blood agar 배지에서 가장 높았다. BA 및 chocolate agar 배지에서 양의 혈액 함량을 20~40%로 높일수록 유충의 생육이 좋았다. 알은 부화율의 저하 없이 8°C에서는 12일까지 저장할 수 있었고, 3령 초기 유충은 생존율의 저하 없이 6°C에서 15일까지 저장할 수 있었다.

검색어 : 구더기 치료, *Phaenicia*, 당뇨병 궤양, MDT, 사육배지

구더기증(승저증)은 수세기 동안 전쟁터에서 상처를 입은 군인을 치료하는데 효과가 있었다(Baer, 1931; Pechter and Sherman, 1983). 구더기 치료법(Maggot debridement therapy; MDT 또는 MT)은 상처 부위의 피부에 의도적으로 검정파리과의 구더기를 감염시키는

방법으로서 1931년 Bayer가 처음으로 도입하였다. 감염부위의 상처에 접종된 구더기는 괴사조직이나 부스럼(sloughy)을 제거하고, 구더기 자체의 소독작용으로 궁극적으로는 치료과정에 도움을 주게 된다(Nigam et al., 2006). 이 방법은 1930년대와 1940년대 초에 미국

*Corresponding author. E-mail: parkcg@gnu.ac.kr

에서만 300개의 병원에서 사용될 정도로 광범위하게 사용되다가 항생제의 도입과 수술법의 발달로 사라지게 되었다. 그러나 미국에서는 1989년 이후, 영국, 독일, 스웨덴, 스위스, 이스라엘 등에서는 1990년 대 이후 치료가 어려운 상처를 치료하기 위하여 구더기 치료법이 다시 사용되게 되었다(Sherman *et al.*, 2000). 현재 전 세계의 수천 명의 의사들이 구더기 치료법을 이용하여 환자의 상처를 치료하고 있으며(Sherman, 2002), 특히 관행적인 처치로 치료에 실패한 만성적인 괴사성 상처를 치료하는 신속하고 효과적인 방법으로서 점점 널리 사용되고 있다(Kerridge *et al.*, 2005).

구더기 치료법에는 구리금파리 [*Phaenicia* (= *Lucilia*) *sericata* (Meigen)]가 전 세계적으로 가장 많이 사용되고 있는데, 살균한 구리금파리 알을 무균의 병(vial)에 옮기고 상온에 두면 밤 사이에 무균 상태의 구더기가 부화하게 된다(Sherma *et al.*, 2007). 부화한 금파리는 일반적으로 간배지에서 사육하는데 간배지는 배지 제조방법이 복잡하고 많은 노력이 필요하다. 의료용 구리금파리는 2령충(Sherman and Wyle, 1996) 또는 부화 후 2~36시간 된 것(Mumcuoglu, 2001) 또는 알에서 갓 부화한 1령충을 사용한다(Chambers *et al.*, 2003; Nigam *et al.*, 2006). 생산된 무균 구더기를 제 때에 사용할 수 없을 경우에는 냉장고에 저장하기도 하는데, 저장기간이 길면 유충의 사망률이 증가하게 된다(Sherman and Wyle, 1996; Mumcuoglu, 2001).

따라서 본 실험에서는 무균 구리금파리를 보다 간편하게 생산하기 위한 적절한 배지를 선발하고, 생산된 구리금파리의 온도별 적정 보존기간을 검토하였다.

재료 및 방법

성충 및 유충의 사육과 알 소독

실험에 사용한 구리금파리의 사육과 채란한 알의 소독방법은 Kim *et al.* (2007)의 방법을 따랐다. 성충은 각설탕 6개(20 g), 20 g의 분유와 물(1:1:1)을 먹이로 하여 20×40×30 cm 크기의 사육 상자에서 사육하였다. 유충은 생 닭고기 약 240 g을 잘라 먹이로 하여 사육하였다. 우화 후 10일 이상 된 암 수 성충이 약 100마리가 들어있는 사육 상자에 소의 생간 조각 10 g을 2~3시간 정도 넣어 채란하였고, 무균작업대에서 소의 생간에 넣은 난과 약 800~1,000개를 떼어내 튜브(50 ml)에 넣고 0.5%의 sodium hypochlorite 용액과 5% formaldehyde

용액으로 소독한 후 3차 증류수로 3~4회 세척하였다.

배지

본 실험을 위해 Blood agar(BA), Sabouraud dextrose agar(SDA), Salmonella-shigella(SS), Phenylethyl alcohol (PEA), Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar(TCBS), Chocolate agar(CA), MacConkey agar(MC), Brucella blood agar(BBA)를 사용하였고, 대조구로서 간배지를 사용하였다. 배지는 한국배지(주)에서 구입하여 사용하였으며 각 배지의 조성은 Table 1과 같다. 간배지의 제조는 Kim *et al.* (2007)의 방법을 따랐다. 즉, 소의 생간을 갈아서 힘줄과 지방, 껍질 등을 제거한 후, 생간 분말 2,000 g을 증류수 2,526 ml와 agar 88.4 g을 넣고 다시 갈아 준다. 생간-agar액을 체로 거른 다음 삼각플라스크에 붓고 고압 멸균하고, 멸균한 간 배지를 무균 작업대 안에서 100 ml당 1 ml의 항생제를 첨가한 후 잘 섞어서 Petri dish에 3/2 정도씩 부어 배지를 제조하였다.

알의 부화와 유충 사육을 위한 배지의 선발

살균 메스로 배지에 여러 개의 직선 모양의 홈집을 낸 후 소독된 알을 작은 붓(00호, Babara)으로 각 배지에 20개씩 접종하였다. 배지 plate의 뚜껑을 덮고 parafilm으로 감싼 후 외부와 공기를 순환시키기 위해 연필 끝으로 5개의 작은 구멍을 뚫어 준 후 25±1°C 항온기에 48시간 동안 배양하였다. 48시간 후 알껍질 수와 구더기의 생존 수를 세고, 생존한 구더기의 무게를 판자동저울(HM-200, AND, Japan)을 이용하여 측정하였다. 배지에 따른 생존을 비교는 알부터 부화한지 48시간이 경과한 유충까지의 생존수로 계산하였다. 구더기의 무게는 측정하기 전에 필터페이퍼에 구더기를 올려 표피의 수분을 제거한 후 측정하였다. 이 실험은 2회 실시하였고, 각 회수별 3반복 실험하였다.

배지의 혈액 함량별 부화율과 유충의 생존율

상기 실험에서 선발된 BA, BBA, CA 배지에 양 (sheep)의 혈액을 5%, 20%, 40% 첨가하여 실험에 사용하였다. 나머지는 상기의 배지선발실험과 동일한 방법으로 20개의 알에서 부화한 유충을 접종한 뒤 25±1°C에서 48시간 후에 부화수를 세고, 구더기의 생존 여부를 확인하고 전술한 것과 동일한 방법으로 무게를 측정하였다. 이 실험은 1회 4반복 실험하였다.

Table 1. List and ingredient of the media tested

Ingredient	Media* (g/l)							
	BA	SDA	SS	PEA	TCBS	CA	MC	BBA
Agar	15.0	15.0	12.0	15.0	14.0	15.0	13.5	15.0
Nutrient substrate	20.0	-	-	-	-	-	-	-
Sodium chloride	5.0	-	-	5.0	10.0	5.0	-	5.0
Sodium citrate	-	-	10.0	-	10.0	-	-	-
Sodium thiosulfate	-	-	8.5	-	10.0	-	-	-
Sodium cholate	-	-	-	-	3.0	-	-	-
Sodium bisulfite	-	-	-	-	-	-	-	0.1
Defibrinated sheep blood (ml)	50.0	-	-	50.0	-	50.0	-	50.0
Proteose peptone	-	-	-	-	-	15.0	-	-
Soluble starch	-	-	-	-	-	1.0	5.0	-
Dipotassium hydrogen phosphate	-	-	-	-	-	4.0	-	-
Potassium dihydrogen phosphate	-	-	-	-	-	1.0	-	-
IsovitaleX enrichment (ml)	-	-	-	-	-	10.0	-	-
Pancreatic digest of casein	-	-	-	15.0	5.0	-	1.5	-
Pancreatic digest of gelatin	-	-	-	-	-	-	17.0	-
Peptic digest of animal tissue	-	-	-	-	5.0	-	1.5	-
Peptic digest of soybean meal	-	-	-	5.0	-	-	-	-
Lactose	-	-	10.0	-	-	-	10.0	-
Bile salt	-	-	-	-	-	-	1.5	-
Neural red	-	-	0.025	-	-	-	0.03	-
Crystal violet	-	-	-	-	-	-	0.001	-
Peptone	-	-	10.0	-	-	-	-	-
Neopeptone	-	10.0	-	-	-	-	-	-
Ammonium iron(III) citrate	-	-	1.0	-	-	-	-	-
Ox bile, dried	-	-	8.5	-	-	-	-	-
Brilliant green	-	-	0.0003	-	-	-	-	-
Dextrose	-	40.0	-	-	-	-	-	1.0
Yeast extract	-	-	-	-	5.0	-	-	2.0
Hemin (mg)	-	-	-	-	-	-	-	10.0
Vitamin K1 (mg)	-	-	-	-	-	-	-	10.0
β-phenylethyl alcohol	-	-	-	2.5	-	-	-	-
Oxgall, dehydrate	-	-	-	-	5.0	-	-	-
Ferric citrate	-	-	-	-	1.0	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	20.0	-	-	-
Bromthymol blue	-	-	-	-	0.04	-	-	-
Thymol blue	-	-	-	-	0.04	-	-	-
Final PH	6.9 ± 0.1	5.6 ± 0.2	7.0 ± 0.1	7.3 ± 0.2	8.6 ± 0.2	7.2 ± 0.2	7.1 ± 0.2	7.2 ± 0.2

*BA: Blood agar, SDA: Sabouraud dextrose agar, SS: Salmonella-shigella, PEA: Phenylethyl alcohol, TCBS: Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar, CA: Chocolate agar, MC: MacConkey agar, BBA: Brucella blood agar.

저장 기간별 부화율과 유충의 생존율

BAP 배지에 알과 3령 유충을 20마리씩 접종하고 4 ± 0.5°C와 8 ± 0.5°C의 항온기에 0, 3, 6, 9, 12일 동안 저장하였다. 각 저장 기간 후 25°C로 옮긴 뒤 24시간 후에 알의 부화 여부를 확인하였다. 알의 접종방법은 배지선발 실험과 동일하였다. 이 실험 도중 8°C에 저장한 유충이 느린 속도지만 계속 성장하고 있는 것이 관찰되어 저장온도를 더 낮추어 추가로 실시하였다. 4 ± 0.5°C

와 6 ± 0.5°C에 3령 유충을 10, 15, 20일간 저장한 후 25°C로 옮기고 24시간 후에 유충의 생존 여부를 확인하고 전술한 것과 동일한 방법으로 무게를 측정하였다. 이 실험은 1회 3반복 실시하였다.

통계 분석

각 배지별 부화율과 유충의 생존율, 유충의 무게는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 하였고, 저장 온

Table 2. Comparison of nine different media on the egg hatchability and larval survival of *L. sericata*

Trial	Medium	No. eggs used	No. eggs hatched	Hatchability (%; Mean ± SD)*	No. larvae after 48 h	Survival of larvae (%; Mean ± SD)*	Weight (mg/larva) (Mean ± SD)*
1st trial	BA	60	53	88.3 ± 2.9 a	48	80.0 ± 0.0 a	-**
	SDA	60	54	90.0 ± 5.0 a	50	83.0 ± 2.9 a	-
	SS	60	52	86.7 ± 2.9 a	44	73.3 ± 7.6 ab	-
	PEA	60	44	73.3 ± 22.5 a	33	55.0 ± 5.0 cd	-
	TCBS	60	45	75.0 ± 10.0 a	24	40.0 ± 8.7 c	-
	CA	60	49	81.7 ± 5.8 a	47	78.3 ± 2.9 ab	-
	MC	60	46	76.7 ± 2.9 a	41	68.3 ± 5.8 abc	-
	BBA	60	41	68.3 ± 5.8 a	38	63.3 ± 10.4 bc	-
	Liver	60	49	81.7 ± 7.6 a	47	78.3 ± 2.9 ab	-
2nd trial	BA	60	57	95.0 ± 5.0 a	50	83.3 ± 7.6 ab	0.95 ± 0.1 b
	SDA	60	57	95.0 ± 5.0 a	33	55.0 ± 27.8 abc	0.15 ± 0.0 b
	SS	60	58	96.7 ± 2.9 a	15	25.0 ± 5.0 c	0.07 ± 0.1 b
	PEA	60	54	90.0 ± 5.0 a	28	46.7 ± 2.9 bc	0.09 ± 0.0 b
	TCBS	60	55	91.7 ± 2.9 a	29	48.3 ± 17.6 bc	0.07 ± 0.0 b
	CA	60	55	91.7 ± 10.4 a	42	70.0 ± 13.2 ab	1.07 ± 0.3 b
	MC	60	60	100.0 ± 0.0 a	47	78.3 ± 5.8 ab	0.19 ± 0.0 b
	BBA	60	58	96.7 ± 5.8 a	54	90.0 ± 13.2 a	4.11 ± 1.8 a
	Liver	60	59	98.3 ± 2.9 a	38	63.3 ± 12.6 abc	1.83 ± 0.7 b

* Means indicated with the same letter are not significantly different (Tukey's HSD test, α=0.05).
 ** -: not checked.

Table 3. Hatchability and survivorship of *L. sericata* larvae by sheep blood contents on various media

Medium	% content of blood	No. eggs treated	No. eggs hatched	Hatchability (%; Mean ± SD)*	No. larvae after 48 h	Survivorship of larvae (%; Mean ± SD)*	Weight (mg/larva) (Mean ± SD)*
BA	5	80	78	97.5 ± 2.9 a	78	87.2 ± 9.2 a	1.75 ± 0.15 d
	20	80	75	93.8 ± 4.8 a	75	72.0 ± 8.3 a	3.75 ± 0.62 bc
	40	80	71	88.8 ± 6.3 a	71	83.1 ± 16.2 a	4.62 ± 0.97 ab
BBA	5	80	74	92.5 ± 6.5 a	74	91.9 ± 5.5 a	3.47 ± 0.46 bc
	20	80	76	95.0 ± 4.1 a	76	93.4 ± 6.6 a	3.44 ± 0.34 c
	40	80	72	90.0 ± 8.2 a	72	76.4 ± 28.8 a	4.20 ± 0.19 bc
CA	5	80	77	96.3 ± 4.8 a	77	93.5 ± 7.6 a	1.21 ± 0.11 d
	20	80	68	85.0 ± 8.2 a	68	89.7 ± 11.4 a	3.70 ± 0.18 bc
	40	80	72	90.0 ± 4.1 a	72	90.3 ± 9.4 a	5.46 ± 0.63 a

* Means indicated with the same letter are not significantly different (Tukey's HSD test, α=0.05).

도 및 저장 기간별 부화율과 유충의 생존율 및 체중은 이원배치 분산분석(two-way ANOVA)을 하였다. 분산 분석 후 Tukey's studentized range test (SAS, 1998)를 이용하여 5% 유의수준에서 평균간 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

알의 부화와 유충 사육을 위한 배지의 선발

구리금파리 알의 부화율은 1차와(F=1.88; P=0.127) 2차 실험(F=1.24; P=0.332)에서 배지 간에 차이가 없었다(Table 2). 1차 실험에서 유충의 생존율은 BA 배지와

SDA 배지에서 가장 높았고, SS, CA, MC, 간배지 등도 BA 배지와 차이가 없었다(F=16.5; P=0.0001). 2차 실험에서는 BBA 배지에서 유충의 생존율이 가장 높았는데 BA, SDA, CA, MC, 간배지 등도 BBA 배지와 차이가 없었다(F=6.71; P=0.0004). 유충의 무게는 2차 실험에서만 측정하였는데 BBA에서 가장 높았다(F=12.31; P=0.0001) (Table 2).

배지의 혈액 함량별 부화율과 유충의 생존율

상기 실험에서 유충의 생존율과 생육이 비교적 좋았던 BA, BBA 및 CA 배지에 양의 혈액을 첨가하여 실

Table 4. Survival of eggs and the 3rd larvae of *L. sericata* after low temperature storage

Temp. (°C)	Days in storage	Egg hatchability		Survival of larvae	
		No. eggs used**	%, Mean ± SD***	No. larvae used	%, Mean ± SD***
4	0 (control)*	60	85.0 ± 10.0 a	49	100.0 ± 0.0 a
	3	60	71.7 ± 7.6 a	52	59.9 ± 19.9 ab
	6	60	15.0 ± 13.2 bc	51	17.8 ± 25.6 bc
	9	60	25.0 ± 27.8 c	54	8.4 ± 10.4 c
	12	60	0.0 ± 0.0 c	53	0.0 ± 0.0 c
8	0 (control)*	60	85.0 ± 10.0 a	49	100.0 ± 0.0 a
	3	60	85.0 ± 5.0 a	47	75.0 ± 9.3 a
	6	60	71.7 ± 2.9 a	51	86.8 ± 5.3 a
	9	60	58.3 ± 20.8 ab	46	72.0 ± 38.1 a
	12	60	71.7 ± 2.9 a	48	68.9 ± 20.3 ab

* Storage for zero days means that those eggs were maintained at 25°C without storage at low temperature as control.

** Twenty eggs in each replication were used.

*** Means indicated with the same letter are not significantly different (Tukey's HSD test, $\alpha=0.05$).

Table 5. Survival of the 3rd larvae of *L. sericata* after low temperature storage

Temp. (°C)	Storage (Days)	Survival of larvae		Larval weight (mg/larva)	
		No. larvae hatched	%, Mean ± SD	No. larvae	Mean ± SD*
4	10	78	15.66 ± 7.55 c*	12	1.65 ± 0.24 bc
	15	85	9.97 ± 9.72 c	8	1.47 ± 0.38 bc
	20	75	0.00 ± 0.00 c	0	0.00 ± 0.00 c
6	10	73	84.97 ± 11.29 a	62	3.49 ± 0.55 bc
	15	79	68.47 ± 14.88 ab	54	5.99 ± 3.09 ab
	20	76	48.00 ± 23.71 b	37	9.71 ± 5.58 a

* Means indicated with the same letter are not significantly different (Tukey's HSD test, $\alpha=0.05$).

험했을 때, 부화율과 유충의 생존율은 배지 간에 차이가 없었으나(부화율, $F=1.91$; $P=0.1001$; 생존율, $F=1.25$; $P=0.308$), 유충의 무게는 세 배지 모두 첨가한 혈액의 함량이 높아짐에 따라 증가하는 경향이였다($F=29.03$; $P=0.0001$) (Table 3).

무균 구더기의 생산은 일반적으로 소독된 알을 간배지에서 부화시켜 유충을 사육하고 있지만(Park, 2006; Kim et al., 2007), 간배지는 제조과정이 복잡하기 때문에 노력과 시간이 많이 들어 경제적으로도 불리하다. 그러나 대량으로 제조·시판되고 있는 배지를 구입해서 사용한다면 생산과정을 획기적으로 줄일 수 있을 것이다. 또한 배지에 함유되는 양 혈액의 양을 증가시킴으로써 사육하는 유충의 발육을 높일 수 있을 것으로 판단된다.

저장 기간별 알의 부화율과 유충의 생존율

저장기간에 따라 알의 부화율 ($F=18.79$; $P<0.0001$)과 유충의 생존율 ($F=13.15$; $P<0.0001$)은 차이가 있었고,

또한 저장온도에 따라 부화율 ($F=54.58$; $P<0.0001$)과 유충의 생존율 ($F=44.69$; $P<0.0001$)에 차이가 있었다 (Table 4). 즉, 알과 3령 유충을 4°C에 6일 이상 저장하면 부화율과 유충 생존율이 크게 저하하였지만 8°C에서는 12일까지도 저장할 수 있었다. 저장온도 6°C에서는 4°C에서보다 유충의 생존율이 월등히 높았으며($F=145.45$; $P<0.0001$) 15일까지도 생존율의 의미 있는 차이 없이 ($F=9.86$; $P<0.0008$) 저장할 수 있었다 (Table 5). 그러나 4°C에서보다 6°C에서 유충의 무게가 무거웠고 ($F=42.50$; $P<0.0001$), 6°C에서도 저장기간이 길어짐에 따라 체중이 증가하여 6°C에 저장 중에도 유충이 서서히 발육하고 있었음을 알 수 있었다.

환자 치료용으로 구리금파리를 사용할 경우, 갓 부화한 1령충(Chambers et al., 2003; Nigam et al., 2006), 2령충(Sherman and Wyle, 1996) 또는 부화 후 2~36시간 된 1령~3령 초기의 유충(Mumcuoglu, 2001)을 사용하므로, 생산된 무균 유충을 즉시 사용할 수 없을 경우에는 일정 기간 저장할 필요가 있다. Sherman and Wyle(1996)는 4°C 냉장고에 5일 이상 저장하면 사망률이 급격히 증가

한다고 하였고, Mumcuoglu(2001)는 5~8℃에서 5일간 보관할 수 있다고 보고하였다. 그러나 본 연구결과, 6℃에서 생존율의 저하 없이 15일까지 저장할 수 있었다.

Literature Cited

- Baer, W.S. 1931. The treatment of chronic osteomyelitis with the maggot (larvae of the blowfly). *J. Bone and Jt. Surg.* 13: 438-475.
- Chambers, L., S. Woodrow, A.P. Brown, P.D. Harris, D. Phillips, M. Hall, J.C.T. Church and D.I. Pritchard. 2003. Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds. *British J. Dermatol.* 148: 14-23.
- Kerridge A., H. Lappin-Scott and J.R. Stevens. 2005. Antibacterial properties of larval secretions of the blowfly, *Lucilia sericata*. *Med. Veter. Entomol.* 19: 333-337.
- Kim, H.C., S.J. Kim, J.E. Yun, T.H. Jo, B.R. Choi and C.G. Park. 2007. Development of the greenbottle blowfly, *Lucilia sericata*, under different temperatures. *Korean J. Appl. Entomol.* 46: 141-145.
- Mumcuoglu, K.Y. 2001. Clinical applications for maggots in wound care. *Am. J. Clin. Dermatol.* 24: 219-227.
- Nigam Y., A. Bexfield, S. Thomas and N.A. Ratcliffe. 2006. Maggot therapy: The science and implication for CAM. Part 1. History and bacterial resistance. *eCAM* 3: 223-227.
- Park, C.G. 2006. Literature review and axenic production of the greenbottle blowfly, *Lucilia sericata*, used for diabetic ulcer treatment. *J. Agric. & Life Sci.* 40: 35-43.
- Pechter, E.A., R.A. Sherman. 1983. Maggot therapy: the medical metamorphosis. *Plastic and Reconstructive Surg.* 72: 567-570.
- SAS Institute Inc. 1998. SAS/STAT. version 6.12. SAS Institute, Cray. NC. 999 USA.
- Sherman, R.A. and F.A. Wyle. 1996. Low-cost, low-maintenance rearing of maggots in hospitals, clinics, and schools. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 54: 38-41.
- Sherman, R.A. M.J.R. Hall and S. Thomas. 2000. Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 55-81.
- Sherman, R.A. 2002. Maggot therapy for foot and leg wounds. *Intl' J. Lower Extremity Wounds* 1: 135-142.
- Sherman, R.A., H. Stevens, D. Ng and E. Iversen. 2007. Treating wounds in small animals with maggot debridement therapy: A survey of practitioners. *The Veter. J.* 173: 138-143.

(Received for publication April 1 2009;
revised June 19 2009; accepted June 21 2009)