



HAL
open science

Rôle du pharmacien hospitalier dans le bon usage des sangues médicinales

Adrien Fillatre

► **To cite this version:**

Adrien Fillatre. Rôle du pharmacien hospitalier dans le bon usage des sangues médicinales. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03633719

HAL Id: dumas-03633719

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03633719v1>

Submitted on 7 Apr 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE



UFR DE PHARMACIE

**Mémoire du diplôme d'études spécialisées de Pharmacie Hospitalière
Option Pharmacie Hospitalière**

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 8 avril 2013 tient lieu de

THESE

Pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 6 Octobre 2021

par

FILLATRE Adrien

Né le 22 Décembre 1995 à Gisors

Thèse n°

***Rôle du Pharmacien Hospitalier dans le bon usage des
sangues médicinales***

Président du jury : Professeur Gilles DUVERLIE, Professeur des Universités- Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie et Université de Picardie Jules Verne (UPJV)

Directeur de Thèse : Docteur Farida HAMDAD, Praticien Hospitalier, CHU Amiens-Picardie, CHU Nancy et Réseau d'Epidémiologie Clinique International Francophone (RECIF) - UPJV

Membres du jury :

Docteur Audrey HOUBERT, Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier de Saint-Quentin

Docteur Hélène VACHER, Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie

Docteur Céline MONGARET, MCU-PH, Centre Hospitalier Universitaire Reims

REMERCIEMENTS

A mon président de jury :

Monsieur le Professeur Gilles DUVERLIE

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et je vous exprime ma plus grande gratitude.

A ma directrice de thèse :

Madame le Docteur Farida HAMDAD

Cela fait quasiment 4 ans que nous travaillons d'arrache-pied pour améliorer la prise en charge des patients traités par des sangsues. Je ne pourrai jamais assez te remercier pour le temps, l'expertise et la persévérance dont tu as fait preuve au cours de toutes ces années. Merci pour tout.

A mes juges :

Madame le Docteur Hélène VACHER

Vous m'avez accompagné durant l'intégralité de mon internat, vous m'avez conseillé et soutenu dans toutes mes initiatives. Merci énormément pour votre aide.

Madame le Docteur Audrey HOUBERT

Merci pour ta bienveillance et d'avoir accepté d'encadrer ma thèse.

Madame le Docteur Céline MONGARET

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'apporter vos connaissances et votre expertise sur le vaste sujet qu'est l'hirudothérapie

Au Dr Gibert, Dr Tonnelier, Dr Bonnet :

Un énorme merci pour le temps et la gentillesse que vous m'avez accordé, rendant possible la réalisation de cette étude multicentrique.

Au Dr Salviat :

Un immense remerciement pour le travail que tu as accompli sur les statistiques de cette thèse, qui, sans ton aide n'aurait pas été la même.

Au Dr Quentin Floug :

Je te revois encore m'envoyer ce message il y a 4 ans, me proposant de travailler avec toi sur un cas clinique qui t'intriguait. Cette simple discussion a transformé et orienté l'ensemble de mon internat : merci mon ami.

A mes co-internes et à mes collègues :

Merci de m'avoir accompagné au cours de ces 4 ans de gardes, d'incertitude, de café et de joie.

Aux Prestigieux :

Merci mes amis pour ces fabuleux moments que nous avons vécu durant nos années de fac. J'espère que l'on en vivra encore des milliers d'autres.

A Rayan, Mathilde, Claire, Camille, Geoff et Pitch :

Un remerciement tout particulier pour vous qui étiez présents lors des meilleurs et des pires moments. Merci d'être là pour moi.

A Quentin Beauclaire :

Même si la distance nous sépare, je te considère toujours comme le frère que j'aurai voulu avoir. Hâte que nous puissions refaire des road-trips comme à la grande époque.

A ma belle-famille :

Vous êtes ma seconde famille pour moi, merci de m'avoir si bien intégré.

A mes grands-parents et Inna :

Pour l'amour, le temps et l'attention que vous m'avez donnés, ce qui a forgé l'homme que je suis aujourd'hui.

A mes parents :

Merci de m'avoir soutenu dans mes choix et de m'avoir encouragé. Je ne serai pas là sans vous.

A Elise :

Merci pour ton amour et ton soutien au quotidien. Le plus beau du reste de notre vie s'annonce. Je t'aime.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Première Partie : Généralités

A- La sangsue médicinale européenne ou <i>Hirudo medicinalis</i>.....	2
1- Classification phylogénétique	2
2- Morphologie.....	3
3- Habitat	6
a) Naturel	
b) Élevage	
4- Alimentation	8
5- Reproduction.....	9
6- Une espèce menacée	11
B- Point historique.....	12
1- De l'Antiquité au Moyen-Âge	12
2- La Renaissance	13
3- L'âge d'or.....	13
4- Le début de la fin.....	14
5- Le renouveau.....	15
6- Statut légal des sangsues	16
C- Propriétés cliniques, indications, effets indésirables et contre-indications	17
1- Propriétés cliniques	17
2- Indications.....	18
3- L'insuffisance veineuse	19
4- Effets indésirables	20
a) La douleur	
b) Le saignement	
c) L'inflammation et l'allergie	
d) La cicatrisation	
e) L'atteinte psychologique	
f) Les complications infectieuses	
g) Les autres effets indésirables	
5- Contre-indications	22

D- Circuit d'approvisionnement, de stockage et d'utilisation.....	23
1- La commande	23
2- La conservation	24
3- La dispensation.....	25
4- L'utilisation des sangsues par le service clinique	26
5- L'élimination.....	28
E- Risque infectieux et <i>Aeromonas spp</i>.....	29
1- L' agent pathogène	29
a) L'habitat	
b) La contamination	
c) La symptomatologie	
2- Fiches d'identité de la bactérie	31
3- Sensibilité aux antibiotiques, aux antiseptiques et à l'inactivation physique	32
a) Sensibilité aux antibiotiques	
b) Sensibilité aux antiseptiques	
c) Inactivation physique des <i>Aeromonas</i>	
d) Évolution de l'antibiorésistance et choix de l'antibioprophylaxie	
Deuxième Partie	
A- Cas clinique.....	35
B- Mise en place de mesures correctives.....	39
1- Amélioration des pratiques de réception et de conservation	39
a) Augmentation de la fréquence de changement de l'eau de conservation	
b) Création d'une procédure de nettoyage des sangsues	
c) Mise en place d'une traçabilité de nettoyage	
d) Mise en place d'une traçabilité à la réception	
2- Amélioration des prescriptions.....	40
a) Prescription de l'hirudothérapie	
b) Création d'une ordonnance spécifique	
c) Mise en place d'une décontamination externe	
C- Etude rétrospective de l'utilisation de l'hirudothérapie au CHU Amiens-Picardie sur une période de 9 ans : Amiens Leeches (AMLEE).....	42
D- Impact des mesures prises au sein du CHU Amiens-Picardie (Etude AMLEEv2).....	49
E - Etude multicentrique AMLEE version 3	54
Discussion	60
Bibliographie.....	62
Annexes.....	72

Liste des figures :

- Figure 1** – Différentes espèces de sangsues A : *H. verbana*, B : *H. medicinalis*, C : *H. orientalis* (13)
- Figure 2** – a- Sangsue inactive b- Sangsue active à température ambiante
- Figure 3** – a- région antérieure d'une sangsue b- région postérieure
- Figure 4** – Système digestif de l'*H. medicinalis*
- Figure 5** – Mode de déplacement des sangsues (26)
- Figure 6** – Bassin d'élevage pour sangsues médicinales au laboratoire Ricarimpex®
- Figure 7** – Bocaux contenant des sangsues destinées à la vente
- Figure 8** – Morsure d'une sangsue
- Figure 9** – Fécondation dite en tête bêche
- Figure 10** – Éclosion du cocon libérant de jeunes sangsues
- Figure 11** – Application des sangsues sur une patiente au Moyen-Âge
- Figure 12** – Facture d'une commande de sangsues du XIX^{ème} siècle
- Figure 13** – Schéma d'un bdellomètre
- Figure 14** – Trois exemples d'utilisation des sangsues a- réimplantation d'un nez, b- mal de dos, c- lambeau libre post-mastectomie
- Figure 15** – a- Avant / b- Après l'utilisation des sangsues pour pallier la congestion veineuse dans une reconstruction nasale par lambeau libre
- Figure 16** – Sangsues dans le coton avant expédition vers un centre hospitalier
- Figure 17** – Bocal de stockage des sangsues dans la PUI du CHU Amiens-Picardie
- Figure 18** - Kit de dispensation des sangsues du CHU
- Figure 19** – Application d'une sangsue pour une réimplantation digitale
- Figure 20** – Cellulite nécrosante d'un patient
- Figure 21** – *A. hydrophila* au microscope électronique
- Figure 22** – Colonies d'*A. hydrophila* sur gélose au sang après 24h d'incubation
- Figure 23** – Résultat de l'examen cytot bactériologique de l'échantillon de pus
- Figure 24** – Antibiogramme par la méthode de diffusion en gélose
- Figure 25** – Répartition des 3 groupes de patients en fonction de la survenue éventuelle d'une infection post-hirudothérapie
- Figure 26** – Kit de décontamination externe pour sangsues prêt à l'emploi au CHU Amiens-Picardie

Figure 27 – Procédure de décontamination des sangsues médicinales présent au sein du kit de décontamination

Figure 28 – Procédure de décontamination externe des sangsues, CHU Amiens-Picardie

Liste des tableaux :

Tableau 1 – Principales molécules présentes dans la salive sécrétée par la sangsue et leurs activités

Tableau 2 – Principaux antiseptiques actifs sur *Aeromonas* (111, 112)

Tableau 3 – Bactéries retrouvées dans l'eau de conservation des 4 lots de sangsues

Tableau 4 – Caractéristiques de l'étude AMLEEv1

Tableau 5 – Résistances des bactéries isolées

Tableau 6 – Données démographiques des 3 groupes de patients étudiés dans l'étude AMLEEv1

Tableau 7 – Répartition des prescriptions de l'hirudothérapie au CHU Amiens-Picardie pendant les 2 périodes de l'étude (AMLEEv2)

Tableau 8 – Principales caractéristiques de l'étude AMLEEv2 en fonction de la période de recueil

Tableau 9 – Répartition des prescriptions d'antibiotique en fonction de la période de l'étude

Tableau 10 – Conditions de conservation et de dispensation des sangsues dans les centres participants à l'étude AMLEEv3

Tableau 11 – Nombre de patients et principaux résultats des centres participants à l'étude AMLEEv3

Liste des abréviations :

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

BLSE : Bêta-Lactamases à Spectre Etendu

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} Génération

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CMF : Chirurgie Maxillo-Faciale

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CNR : Centre National de Référence

CRPV : Centre Régional de Pharmacovigilance

DASRI : Déchets d'Activités de Soins à Risques Infectieux

DRCI : Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation

EAHP: European Association of Hospital Pharmacists

EBM: Evidence Based Medicine

ECBC: Examen Cyto-Bactériologique des Crachats

FDA: Food Drug and Administration

GED : Gestion Electronique des Documents

HUG : Hôpitaux Universitaire de Genève

IPP : Identifiant Permanent du Patient

JC : Jésus Christ

KMnO4: Permanganate de potassium

MALDI-TOF: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight

NaCl : Chlorure de sodium

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

PCR : Polymerase Chain Reaction

RICAI : Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse

TTC : Toutes taxes comprises

Introduction

Au travers des âges, la sangsue fut utilisée pour de nombreuses vertus supposées. Son utilisation intensive lors du XIX^{ème} siècle, faisant de la France le plus gros consommateur d'Europe a failli entraîner son extinction (1). Son utilisation s'essouffla durant une bonne partie du XX^{ème} siècle sous l'impulsion du mouvement hygiéniste (2).

Les années 80 marquèrent un regain de popularité pour les annélides afin de traiter les congestions veineuses post-chirurgicales, grâce à leurs propriétés anticoagulantes (3). Les sangsues sont désormais considérées comme un médicament et sont commercialisées par un unique fournisseur situé dans le bassin d'Arcachon : Ricarimpex® (4).

Ces animaux hématophages nécessitent la présence d'une bactérie du genre *Aeromonas* avec laquelle elles vivent en symbiose dans leur tube digestif, pour la digestion du sang ingéré (5).

Les *Aeromonas*, bactéries ubiquitaires peuvent être responsables de diarrhées aqueuses chez l'Homme ou des infections cutanées, essentiellement, lors de la pratique de l'hirudothérapie (6, 7). Le taux de réussite de l'hirudothérapie passe alors de 70 à 30% (8).

Les anémies sont d'autres effets indésirables liées à l'hirudothérapie (9).

Ce travail de thèse a pour objectif de faire un état des lieux de l'utilisation des sangsues au CHU Amiens- Picardie et de mettre en place des actions pour augmenter le taux de réussite de l'hirudothérapie.

Dans la première partie de ce travail de thèse, une revue bibliographique détaillée a été réalisée.

Dans la deuxième partie, un cas clinique qui a suscité notre intérêt pour le sujet a été décrit.

Une étude rétrospective AMLEE Version 1 (AMiens LEEches) sur l'utilisation de l'hirudothérapie au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Amiens-Picardie pendant une période de 9 ans (2010-2018) a alors été réalisée.

Des actions correctrices ont été mises en place et une étude comparative « AMLEE Version 2 » entre la période 2010-2018 à celle 2019-2020 a été réalisée.

Une étude multicentrique nationale sur les facteurs favorisant l'infection bactérienne « AMLEE Version 3 » a été menée dans cinq centres hospitaliers et un guide des bonnes pratiques d'utilisation des sangsues a ainsi pu être rédigé.

Première Partie : Généralités

A- La sangsue médicinale européenne ou *Hirudo medicinalis*

1- Classification phylogénétique

Il existe 650 espèces différentes de sangsues dans le monde ayant une affinité pour l'eau et pour des proies diverses (10).

La seule espèce utilisée sur le territoire européen, à visée thérapeutique, est l'espèce *Hirudo medicinalis*. L'arbre phylogénétique de cette espèce est le suivant : (11, 12)

Embranchement	Annélides	Ensemble des vers annelés vivant dans un milieu aquatique ou terrestre. Présentant des anneaux traversant la longueur de son corps et le segmentant. Ils présentent trois couches de tissu, un système circulatoire fermé et une voie digestive directe
Classe	Achètes	Le corps est dépourvu de soies et possède un clitellum, partie épaissie de la paroi corporelle sécrétant un sac en forme de cocon contenant les œufs lors de la reproduction. L'ensemble des individus sont hermaphrodites.
Ordre	Gnathobdellés	Présence d'une mâchoire triple dentée au niveau du pharynx, sans trompe
Famille	Hirudineae	Corps aplati, allongé, nu, sans appendices et présentant un pharynx court et musculairement renforcé
Genre	<i>Hirudo</i>	Absence de papilles dans les glandes salivaires. La lèvre supérieure n'a pas de rainure ventrale médiane.
Espèce	<i>Hirudo medicinalis</i>	Sangsue médicinale européenne sélectionnée pour leur facilité de conservation. Elles sont d'une couleur vert foncé, avec des lignes latérales de couleur orange descendant le long de leur partie postérieure.

Plusieurs espèces de sangsues sont ou ont été utilisées dans le monde :

- *Hirudo orientalis* (Pays de l'est), *Hirudo troctina* (Afrique du Nord)
- *Hirudinaria manillensis* (Mexique), *Hirudo verbana* (très souvent confondu avec *Hirudo medicinalis*), *Macrobdella decra* (Amérique du Nord) et *Hirudinaria mallinensis* (Asie) (Figure 1)

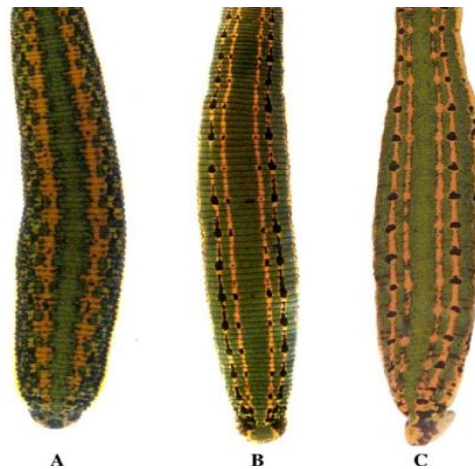


Figure 1 - Différentes espèces de sangsues A : *H.verbana*, B : *H. medicinalis*, C : *H. orientalis* (13)

2- Morphologie

H. medicinalis est une sangsue amphibie de longueur variable, dépendant de la température et de l'activité de la sangsue (14).

A température ambiante ou lors d'un repas, l'animal prend l'aspect d'un ruban plat pouvant atteindre 15cm de long sur 1,5cm de large. Son poids à jeun est de 2 à 3 grammes, il peut atteindre 15g lors d'un repas sanguin. Durant l'hiver, lorsque la température est inférieure à 8°C, cette dernière se recroqueville sur elle-même et prend alors la forme d'une olive (mesurant environ 3cm de long sur 1 cm de large) (15) (Figure 2).

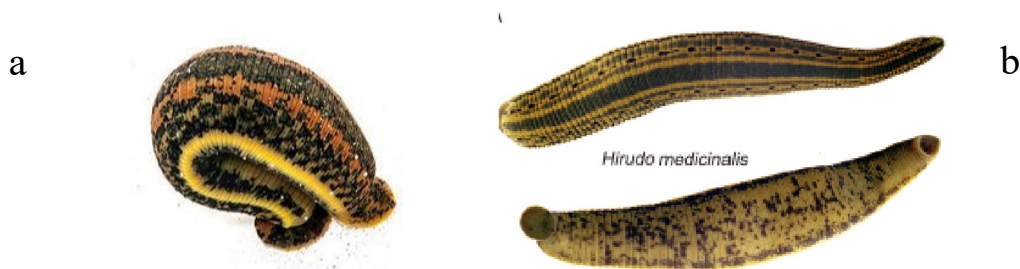


Figure 2 - a- Sangsue inactive b- Sangsue active à température ambiante

H. medicinalis possède une ventouse à chaque extrémité de son corps (Figure 3): une antérieure dite buccale et une autre postérieure dite terminale (16). Elles ont deux rôles différents :

- la ventouse buccale est perforée et permet la prise de repas sanguin. Cette ventouse est composée de 3 mâchoires chitineuses en demi-lune et dispose de 100 dents chacune. Cette disposition est à l'origine de la morsure en Y caractéristique des sangsues (17).

- la ventouse postérieure est plus grande en taille mais n'est pas perforée. Elle a pour rôle le déplacement de la sangsue et son adhérence aux parois. Pour ce faire, des glandes sécrétoires s'y trouvant produisent en continu un mucus adhésif qui en plus de la musculature interne permet à la sangsue de se déplacer.

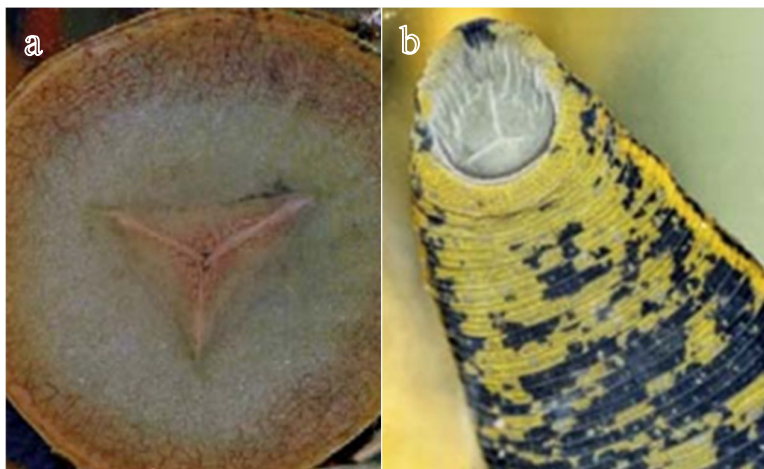


Figure 3 – a- région antérieure d'une sangsue b- région postérieure

En dépit de l'absence de vertèbres, la sangsue présente de nombreuses couches musculaires et de fibres lui permettant de se déplacer et de s'étirer de près de 10 fois sa taille (18).

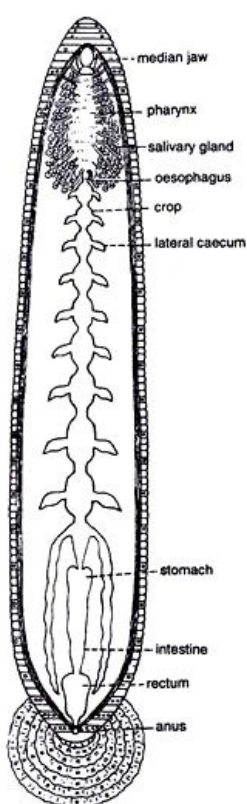
L'espace extracellulaire de la sangsue est composé du système circulatoire et d'un système nerveux primitif dépourvu de liquide céphalospinal (19). Ce système nerveux est un enchaînement de 33 ganglions composés de 400 neurones bilatéraux. Ces neurones sphériques d'une taille comprise entre 10 et 90 μM communiquent entre eux au moyen de fibre appelé « connective » (20).

La sangsue est capable de ressentir la présence de vibration, grâce à son réseau nerveux présent sur son corps (21). Elle peut aussi sentir les odeurs grâce aux chémorécepteurs

présents sur la ventouse buccale ce qui explique pourquoi la sangsue est sensible aux odeurs de chlore et d'alcool (22).

La sangsue dispose de 5 paires d'yeux présents sur la face supérieure de la ventouse permettant une vision sommaire des formes (23). Ils sont accompagnés de cils vibratiles très sensibles aux mouvements ce qui lui permet de repérer plus facilement une proie potentielle dans son environnement (24).

L'appareil digestif de l'*H. medicinalis* est composé de 3 parties (14, 25) (Figure 4):



- La première partie est composée de la ventouse antérieure débouchant sur le pharynx, particulièrement musculueux. Ce dernier par ces contractions peut entraîner une dépression dans l'appareil digestif et donc aspirer le sang lors de la succion. Il contient aussi les glandes sécrétrices des substances anticoagulantes administrées lors de la morsure.

- La seconde partie se compose d'un œsophage court et d'un estomac de grande contenance composé de 11 caecums extensibles qui permettent de stocker le sang ingéré et le jeûne pendant une longue période.

- La troisième partie postérieure se compose de l'intestin puis de l'anus.

Figure 4 – Système digestif de l'*H. medicinalis*

Le système circulatoire est composé de vaisseaux ventraux et dorsaux connectés entre eux par des vaisseaux transversaux. La sangsue est dépourvue de cœur et de poumon. La respiration est médiée par l'épiderme réalisant les échanges gazeux avec le milieu extérieur (4).

La sangsue se déplace différemment en fonction du terrain sur lequel elle se trouve :

- dans un milieu aquatique, la sangsue ondulera en contractant ses muscles longitudinaux
- dans un milieu terrestre, elle utilisera sa ventouse postérieure pour se fixer au support puis ses muscles s'étireront pour permettre à la ventouse antérieure d'atteindre l'endroit voulu. Elle sera rejointe ensuite par la ventouse postérieure (Figure 5).

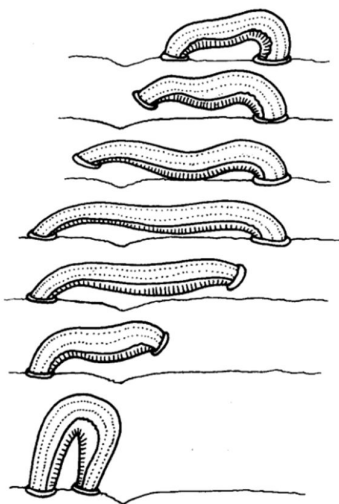


Figure 5 – Mode de déplacement des sangsues (26)

3- Habitat

a) Naturel

Les sangsues sont des parasites vivant dans l'eau douce (étangs, marais) et pouvant sortir occasionnellement sur la terre ferme (notamment pour la reproduction). Elles peuvent vivre exceptionnellement dans de la paille humide (14).

Une eau à température intermédiaire (20°C), ni trop basique ni trop acide et sablonneuse est idéale pour une installation (27).

Lors de la période hivernale, les sangsues s'enterrent dans la boue et peuvent ainsi y jeûner jusqu'au retour des beaux jours.

A l'état naturel, la sangsue médicinale est en voie de disparition, elle est surtout recensée dans le Nord de la France (28). L'assèchement des marais, l'utilisation massive de pesticides seraient en partie à l'origine de leur disparition (29).

b) Élevage

En France, Ricarimpex® localisé dans le bassin d'Arcachon est depuis 1845 l'unique laboratoire qui commercialise des sangsues à des fins médicales (4).

Historiquement, l'élevage se réalisait dans des bassins extérieurs faisant un mètre de profondeur, 10 mètres de long, 5 mètres de large (18).

Les bassins étaient aménagés avec des plantes aquatiques (Figure 6), des îlots de tourbe (pour la reproduction). L'eau utilisée est contrôlée : pH neutre, dépourvue d'agents chimiques, avec une bonne qualité bactériologique et renouvelée régulièrement.

La difficulté liée à ce mode d'élevage est de maintenir ces conditions de vie idéales pour les sangsues en faisant fi des variations climatiques extérieures.



Figure 6 – Bassin d'élevage pour sangsues médicinales au laboratoire Ricarimpex®

L'élevage en laboratoire est désormais le plus fréquent, avec 20 000 sangsues en croissance. Elles grandissent à l'abri de la lumière dans des bocalx compartimentés en fonction de l'âge (Figure 7).

De la fécondation jusqu'à leur vente, le cycle de vie des sangsues est régulé en laboratoire (18).

L'eau doit avoir une certaine qualité et est supplémentée en permanganate de potassium KMnO_4 qui permet de limiter la prolifération fongique et des algues (18).



Figure 7 – Bocaux contenant des sangsues destinées à la vente

4- Alimentation

La sangsue médicinale est un parasite hématophage, c'est-à-dire se nourrissant au dépend d'un hôte nécessaire à sa survie en suçant son sang.

Dans la nature, ses proies préférées dépendent de l'âge de la sangsue. Les plus jeunes vont se nourrir de larves de mouches, de petits poissons ou bien encore d'amphibiens. Alors qu'à l'âge adulte, elle se nourriront principalement d'amphibiens, de poissons et de mammifères parmi lesquels les bovins, les équidés ou occasionnellement les hommes (30).

La sangsue détecte ses proies en utilisant les vibrations issues de son mouvement ainsi que les variations de luminosité liées à son passage (31).

Les modalités du repas sont les mêmes que dans le cadre d'une utilisation thérapeutique (32). Après fixation sur la proie à l'aide de ses 2 ventouses, la sangsue mord et injecte le contenu de ses glandes salivaires. Le mucus lubrifie la zone, l'hirudine va bloquer la coagulation sanguine et dans le même temps, la sangsue contracte son pharynx afin d'aspirer le sang de la victime (33). La morsure de la sangsue prendra la forme d'une croix (Figure 8).



Figure 8 – Morsure d'une sangsue

Lors du repas de sang, la masse de la sangsue est multipliée par 3 à 10 fois. Ce repas dure en moyenne 30 minutes puis la sangsue se détache naturellement. Une sangsue adulte se nourrit au maximum 2 fois dans l'année et prend 100 jours pour digérer son repas (11).

La digestion du sang chez la sangsue médicinale nécessite l'action de 2 bactéries symbiotiques du tube digestif : *Aeromonas hydrophila* et *Pseudomonas hirudinis* à l'origine de la digestion des hématies (par hémolyse et protéolyse).

Au sein de Ricarimpex®, le sang de volaille est la seule alimentation des sangsues. Le sang de volaille est certifié par un laboratoire vétérinaire avant d'être utilisé (4).

Le sang de mammifères est lié à un risque important de transmission parasitaire et virale. Il est donc proscrit pour nourrir les sangsues.

Afin de stimuler l'appétit des sangsues, elles sont vendues à jeun aux hôpitaux depuis en moyenne 3 mois. Une sangsue peut survivre jusqu'à 18 mois sans se nourrir, elles sont conservées à une température de 2-8°C pour limiter la dépense d'énergie (34).

5- Reproduction

La sangsue est un animal hermaphrodite qui possède à la fois l'appareil génital mâle et femelle. L'autofécondation n'est cependant pas possible : il faut obligatoirement 2 individus pour mener à bien la fécondation. Le début du printemps grâce à l'humidité est particulièrement propice à la reproduction des sangsues (35).

La copulation de 2 sangsues se réalise tête bêche (Figure 9) par l'introduction du pénis de l'une dans le vagin de l'autre. Les spermatozoïdes vont rejoindre l'ovaire pour procéder à la fécondation (36).

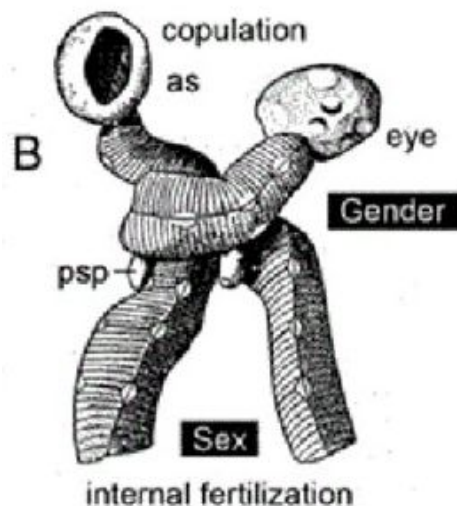


Figure 9 – Fécondation dite en tête bêche

La période de gestation dure 4 semaines. Durant cette dernière, la sangsue gravide va présenter un renflement dans la partie antérieure de son corps qui pour l'occasion passera du vert au jaune orangé. La ponte des cocons se réalise sur le rivage humide.

Les cocons (entre 1 et 3 par fécondation) peuvent contenir jusqu'à 5 à 15 sangsues.

Ces derniers de consistance assez ferme renferment un liquide nutritif permettant la croissance des jeunes sangsues. Les cocons avant éclosion ont une taille de 2 à 3cm de longueur sur 1,5cm de largeur (18).

Dans la nature, les sangsues percent une extrémité du cocon après trois semaines de maturation. Elles regagnent rapidement le milieu aquatique afin d'échapper aux prédateurs aériens (Figure 10).

L'espérance de vie d'une sangsue peut aller jusqu'à 15 ans (37).



Figure 10 – Éclosion du cocon libérant de jeunes sangsues

Les jeunes sangsues sont autonomes, elles sont considérées comme adultes après leurs premiers repas de sang (16, 18).

6- Une espèce menacée

La sangsue a été fortement exploitée par l'Homme si bien que l'espèce est désormais menacée d'extinction.

La présence de substances chimiques chlorées dans l'eau, les pesticides, la prolifération de prédateurs (principalement de larve d'espèce se nourrissant de sangsues), la dégradation de son état naturel ou la disparition des grenouilles (proies préférentielles des jeunes sangsues) sont autant de raisons pour que l'espèce *H. medicinalis* soit menacée (38).

B- Point historique

Les sangsues ont traversé les époques mais leur utilisation et leur popularité n'ont cessé de varier au cours des siècles.

1- De l'Antiquité au Moyen-Âge

L'une des premières représentations de la sangsue médicinale dans l'histoire est la fresque du tombeau de Thèbes (datant de 1600 avant JC) montrant l'application d'une sangsue sur un patient (1).

Dans l'Antiquité, des savants latins (Horace), grecs (Colophon pour le traitement des morsures vénéneuses) et romains (Themison de Laodicée pour le traitement des affections aiguës cérébrales) préconisaient leur utilisation (21).

Plus tard, Galien (129-201) éminent médecin grec vantait ses mérites « pour éliminer du corps les substances antipathiques et restaurer ainsi la balance des quatre humeurs » (1).

Dès lors, les indications potentielles se multiplient : traitement de la crise hémorroïdaire (Pline l'Ancien), de l'inflammation des yeux (Oribase) ou traitement de la manie (Aetius).

Durant le Moyen-Âge, le médecin arabe Avicenne recommande l'utilisation des sangsues dans le traitement des maladies dermatologiques (16). En France, le barbier servait à la fois de coiffeur, de dentiste mais aussi quelquefois de médecin et centralisait l'utilisation des sangsues (Figure 11).



Figure 11 – Application des sangsues sur une patiente au Moyen-Âge

2- La Renaissance

Conrad Gessner de Zurich en 1550 puis, Jérôme Négrisoli ont décrit anatomiquement la sangsue (18).

Leur usage encore marginal en Europe est commun sur d'autres continents. Le médecin Strange décrivit un rite purificateur lié à l'usage des sangsues en Australie.

Durant le XVII^{ème} et XVIII^{ème} siècle, l'usage de la sangsue recule face à la saignée, pratiquée au moyen de la lancette. L'hirudothérapie se pose alors comme la médecine du peuple (39).

3- L'âge d'or

Le XIX^{ème} siècle va marquer l'explosion en termes de popularité de l'hirudothérapie (40), avec des illustres médecins vantant son efficacité :

- Le Dr Broussais et la théorie de la médecine physiologique reposant sur l'emploi « d'antiphlogistiques » afin de pallier l'inflammation du corps lié à l'accumulation de sang (26)

- « Il faut rejeter tout ce qui débilite le malade, ne fait que nuire ..., telles sont les saignées » par Le Professeur Scarapa en 1802 dans son Traité pratique des maladies des yeux.

- « Les effets sensibles des sangsues sur l'homme malade » par l'écrivain Louis Vitet dans son Traité de la sangsue médicinale qui souhaite expérimenter.

Des personnalités telles que Balzac fut traitées par l'hirudothérapie, avant d'en parler dans son œuvre « Physiologie du mariage ».

Ce plébiscite coïncide avec la pénurie en chirurgiens dans cette période de trouble des guerres napoléoniennes. Les sangsues deviennent la seconde dépense en termes de santé en 1840 et l'engouement est tel que la France doit importer en 1832 d'Europe de l'Est plus de 57 millions de sangsues (41). Au pic de la popularité, une consommation annuelle de 100 millions de sangsues a été atteinte en 1833 soit 3 sangsues par habitants.

Les indications sont larges : du traitement des maux de tête jusqu'à celui des pneumonies, mais elles étaient aussi utilisées par les femmes bourgeoises afin de rendre la peau du visage plus étincelante et rayonnante (42).

Devant la pénurie et la nécessité d'importation, le prix des sangsues va passer de 12 francs en 1806 à 200 francs en 1836 (43).

Son coût ne cessant d'augmenter avec les années, une commission scientifique dirigée par Eugène Soubeiran est mise sur pied afin d'étudier un mode de conservation optimal des sangsues, mais aussi d'étudier la possibilité de les réutiliser (44).

Une tarification au nombre et non plus à la taille est appliquée afin de pallier les fraudes liées au gavage des sangsues avant la vente (Figure 12).

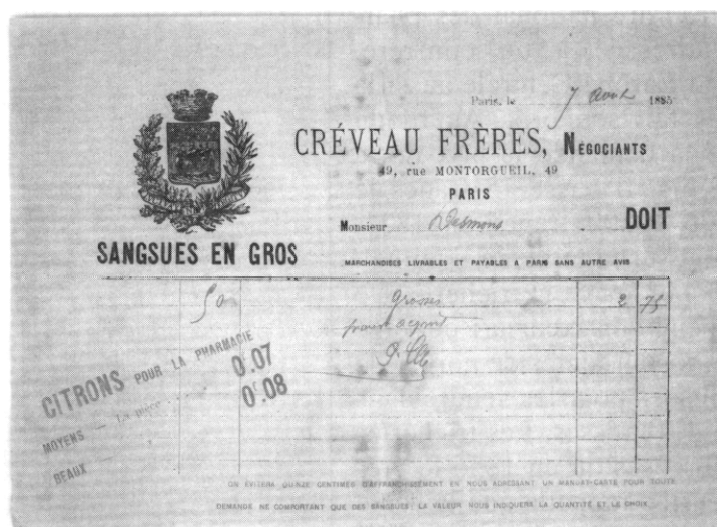


Figure 12 – Facture d'une commande de sangsues du XIX^{ème} siècle

4- Le début de la fin

Le conseil général des Hospices étudie entre 1836 et 1839, l'utilisation de bdellomètre afin de remplacer les sangsues (2). Cet appareil imaginé en 1819 par le docteur Sarlandière, permet d'accélérer ou de ralentir le débit sanguin. Cet appareil reproduit le mécanisme d'action des sangsues en créant le vide en son sein, attirant ainsi le sang sur la lésion (Figure 13).

Cette découverte s'inscrit dans un mouvement global de défiance vis-à-vis des sangsues.

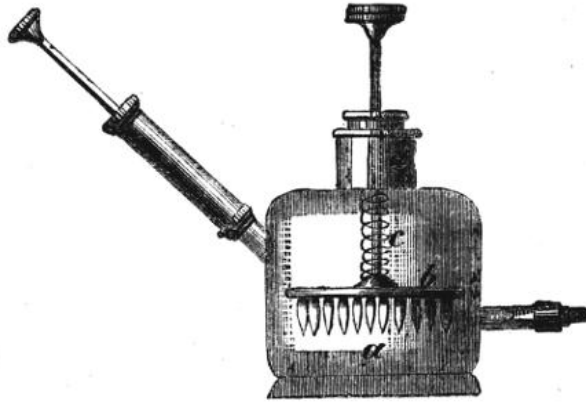


Figure 13 – Schéma d'un bdellomètre

Les décès liés aux complications infectieuses de l'hirudothérapie associés à l'essor du mouvement hygiéniste vont enterrer la pratique de l'hirudothérapie.

Koch et Pasteur avec la théorie de l'asepsie et de la stérilisation vont à l'encontre de l'utilisation des sangsues (43).

Néanmoins, la recherche sur les propriétés pharmacologiques des sécrétions de la sangsue continue. En 1884, Haycraft découvre l'hirudine, principe actif produite par la sangsue et responsable de l'activité anticoagulante de la salive (45).

Le début du XX^{ème} siècle poursuit sur la même dynamique avec un désintérêt des prescripteurs pour l'hirudothérapie. En 1938, elles ne sont plus citées par le Codex Français et ne sont plus vendues en officine.

5- Le renouveau

L'année 1972 marque la renaissance pour les sangsues avec leurs utilisations en chirurgie plastique (2). Le Pr Baudet légitime l'utilisation des sangsues dans la réimplantation digitale afin de lutter contre la stase veineuse.

Dès lors, elles sont de nouveau utilisées dans de nombreux hôpitaux aux quatre coins du monde. Par la suite, d'autres publications vont élargir les indications possibles de l'hirudothérapie dans les situations post-chirurgicales (9).

En 1981, *H. medicinalis* est placé sur la liste rouge des animaux menacés, interdisant même le ramassage des sangsues sauvages (46).

En 1982, la convention de Berne encadre au niveau européen la commercialisation des sangsues en dépit de leur statut d'espèce protégée (47). Au niveau international la convention de Washington de 1987 encadre, à un niveau global, l'élevage et le commerce des sangsues (48).

6- Statut légal des sangsues

Aux États-Unis, les sangsues sont autorisées par la FDA (Food Drug and Administration) en tant que dispositifs médicaux depuis 2004 (49).

En France, elles sont autorisées avec le statut de médicament depuis 2013, sans pour autant avoir une autorisation de mise sur le marché (AMM), ce qui en fait une exception (16).

En Allemagne, l'*H. medicinalis* mais également *H. orientalis* et *H. verbana* ont le statut de médicament depuis 2008 (50).

La liste des fournisseurs de sangsues à l'échelle mondiale est très restreinte, de par les autorisations nécessaires complexes à obtenir : (51)

- Ricarimpex basé en France et ayant les autorisations pour exporter en Europe et aux États-Unis
- BioPharm (Royaume-Uni)
- Zaug (Allemagne)
- Leeches USA
- Centre International de la sangsue médicinale (Russie)

C- Propriétés cliniques, indications, effets indésirables et contre-indications

1- Propriétés cliniques :

La salive de la sangsue est constituée de plus d'une centaine de substances ayant des propriétés complémentaires afin de rendre la morsure efficace et la plus discrète possible (Tableau 1) (52).

La morsure de la sangsue nécessite la coopération de 6 grandes familles de molécules avec des mécanismes divers.

Après la morsure, l'injection immédiate de la hyaluronidase et de la collagénase vont faciliter la pénétration tissulaire (53). Les antistases et les kininases vont bloquer l'axe kikin-kallikrein jouant un rôle important dans la nociception (54). L'Églisine C ainsi que la Bdeline vont bloquer la réaction inflammatoire au niveau des cytokines et des neutrophiles (55).

La sangsue inocule *in situ* 2 molécules permettant d'augmenter le flux sanguin. Les dérivés de l'histamine (56) vont améliorer la perméabilité vasculaire et l'acétylcholine qui va entraîner la relaxation de l'endothélium vasculaire (56).

L'effraction vasculaire liée à la morsure entraîne obligatoirement l'activation des plaquettes afin de stopper une éventuelle hémorragie. La sangsue dispose des molécules pour bloquer ce processus. La saratine inhibe la liaison des plaquettes avec le facteur Willebrand où l'apyrase active la production d'acide arachidonique (un puissant inactivant plaquettaire) (57).

L'hirudine fut le premier composé découvert. Cette molécule se lie de façon définitive à la thrombine et va donc interrompre la cascade de coagulation (58). Elle est considérée comme un candidat potentiel au remplacement de l'héparine, ce qui explique l'intérêt des industriels à maîtriser sa synthèse en laboratoire (59).

Principale(s) molécule(s) identifiée(s)	Ordre d'action	Activité
Hyaluronidase, collagénase	1	Facteur de diffusion
Antistasin, kininases	2	Analgésique
Bdelline, Egline C, Carboxypeptidase, LDTI	3	Anti-inflammatoire
Molécules histamine-like, acétylcholine	4	Vasodilatatrice
Caline, apyrase, saratine, prostaglandines	5	Inhibitrice de l'agrégation plaquettaire
Hirudine	6	Inhibitrice de la cascade de coagulation

Tableau 1 : Principales molécules présentes dans la salive sécrétée par la sangsue et leurs activités

2- Indications

A l'heure actuelle, les indications potentielles de l'hirudothérapie sont très vastes (Figure 14).

Les sangsues sont utilisées dans les médecines parallèles avec une efficacité supposée :

- Maladies cardiovasculaires : hypertension ou angor (60, 61)
- Maladies de la peau : eczéma et dermatite (57)
- Maladies inflammatoires : arthrose, polyarthrite rhumatoïde, ulcères de jambes, varices, hémorroïdes (62)
- Problèmes respiratoires : asthme et rhinopharyngite (57)

L'EBM (Evidence Based Medicine) dans ces indications est faible, contrairement à celle dans le traitement des congestions veineuses post-chirurgicales, attestant d'une efficacité démontrée (63).

L'efficacité de l'hirudothérapie a été démontrée dans :

- la récupération de lambeaux libres (64)
- la récupération de lambeaux pédiculés ; le fragment tissulaire reste attaché à ses vaisseaux nourriciers, contrairement aux lambeaux libres (65)
- la récupération de lambeaux mammaires (66)
- la réimplantation des doigts, oreilles, lèvres, nez et pénis (67-69)



Figure 14 – Trois exemples d'utilisation des sangsues a- réimplantation d'un nez, b- mal de dos, c- lambeau libre post-mastectomie

En chirurgie, il est fréquent de suturer une artère plutôt qu'une veine. Il est fréquent d'avoir une stase veineuse associée avec un mauvais retour veineux.

Les sangsues vont alors permettre de désengorger le tissu où la peau a une couleur violacée et tiède caractéristique (18).

3- L'insuffisance veineuse

L'insuffisance veineuse apparaît dans les premières heures suivant la fin de l'opération chirurgicale. Elle se caractérise par une mauvaise circulation du sang au niveau des veines et une accumulation au niveau du lambeau. Le retour capillaire est également accéléré à cause de la chirurgie et le phénomène s'accroît. La couleur du lambeau va alors passer du rose au pourpre.

Les autres signes d'une insuffisance veineuse est la fréquence élevée de changement des pansements ; qui seront tachés par du sang rouge foncé, pauvre en oxygène car veineux (63).

Il est important de reconnaître précocement l'insuffisance veineuse et de la traiter en conséquence. Cependant, l'insuffisance veineuse transitoire (6-12h post-opératoire) est très fréquente, non pathologique et le plus souvent réversible. Elle ne doit pas être traitée.

L'insuffisance artérielle est possible et se différencie de la veineuse par la couleur du sang qui est d'une couleur rouge vif. L'utilisation de l'hirudothérapie semblerait être délétère sur sa prise en charge, tout comme dans le cas d'une insuffisance mixte (veineuse et artérielle) (3).

L'hirudothérapie doit être appliquée uniquement dans la prise en charge d'une insuffisance veineuse pathologique non réversible et ne pouvant pas être prise en charge chirurgicalement (67, 70) (Figure 15).



Figure 15 – a- Avant / b- Après utilisation des sangsues pour pallier la congestion veineuse dans une reconstruction nasale par lambeau libre

4- Effets indésirables

L'hirudothérapie est une pratique traumatique physiquement et psychologiquement et pouvant entraîner la survenue d'infection pouvant être grave.

a) La douleur

La morsure peut entraîner une douleur se rapprochant de « la piqûre d'ortie ou une décharge électrique » (16). Cette douleur est de courte durée (approximativement 5 minutes) le temps que les antalgiques présents dans la salive des sangsues agissent.

b) Le saignement

La perte de sang durant l'hirudothérapie est un effet indésirable fréquent dans 50% des cas pouvant nécessiter une transfusion (9). Cette perte de sang est définie comme étant continue durant une période de 2h (71). Il existe un lien évident entre la taille du lambeau et sa congestion avec le risque de saignement majeur de ce dernier (72).

Il est recommandé de monitorer l'hémoglobine avant et après le début de l'hirudothérapie et de procéder à des transfusions si le taux de l'hémoglobine est $<8\text{g.dl}^{-1}$. En cas de saignement non résolutif, l'utilisation de pansements hémostatiques, l'injection d'acide tranexamique et la suture de la plaie peuvent être une alternative.

Dans le cas où une sangsue est utilisée toutes les 2h, la perte sanguine serait de 1 g.dl⁻¹/24h, ce qui explique la grande proportion de patients nécessitant une transfusion sanguine durant l'utilisation des sangsues (67). Cette perte sanguine additionnée à la prise d'anticoagulant (héparine, antivitamine K) peut avoir un retentissement sur l'état général du patient.

c) L'inflammation et l'allergie

La salive des sangsues (et ses nombreux composants potentiellement allergisants) peut entraîner une inflammation locale et des réactions allergiques.

La peau à proximité de la morsure peut devenir rouge, chaude et œdémateuse. De même, des démangeaisons, des prurits, de l'eczéma et des dermatites cutanées sont fréquemment rencontrés chez les patients traités par hirudothérapie (57). Les antihistaminiques oraux (comme la cétirizine) et les pommades de corticostéroïdes sont les traitements de choix. De rares cas de chocs anaphylactiques mettant en jeu le pronostic vital du patient ont déjà été décrits (73). Des tests allergiques peuvent être réalisés préalablement afin d'incriminer l'hirudine constitutive de la salive dans ces réactions (18).

d) La cicatrisation

Les cicatrices des morsures de sangsues disparaissent spontanément dans 90% des cas (9). Cependant, il est parfois nécessaire d'avoir recours à des topiques anti-inflammatoires et/ou de la chirurgie esthétique afin de faire disparaître ces cicatrices (74).

e) L'atteinte psychologique

L'impact psychologique de l'hirudothérapie ne doit pas être négligé. En effet, jusqu'à 3% des patients présentent un syndrome anxieux à l'utilisation des sangsues pouvant aller jusqu'à des malaises vagues transitoires (9).

L'usage d'anxiolytiques peut s'imposer afin de corriger cette angoisse (9).

f) Les complications infectieuses

Le tube digestif des sangsues est colonisé par une bactérie symbiotique de l'espèce *Aeromonas* pouvant entraîner des infections iatrogènes chez le patient. Cette bactérie a été retrouvée en grande quantité sur les ventouses des sangsues et dans l'eau de conservation (5, 75).

D'autres bactéries environnementales (*Pseudomonas* et *Acinetobacter*) et des entérobactéries (*Morganella morganii* et *Proteus vulgaris*) peuvent être associées (76, 77).

Ces infections peuvent survenir par contact direct avec la peau des sangsues ou par régurgitation lors de la morsure (74).

L'incidence de ces infections serait entre 2 et 20% (9), avec des présentations cliniques diverses en fonction de la zone touchée et de l'état immunitaire du patient. L'infection apparaît entre 24h à un mois après le début de l'utilisation des sangsues (74) et entraîne une chute importante du taux de survie du lambeau. En effet, selon des études, le taux de survie passe de 88% à 37 % (9) ou de 80% à 30% (8).

La prescription d'une antibioprophylaxie concomitante à l'hirudothérapie paraît indispensable pour réduire la prévalence de ces infections (8).

g) Les autres effets indésirables

Parmi les effets indésirables, les méningites, les microangiopathies thrombotiques, les septicémies, les cellulites, les pseudolymphomes cutanés ainsi que les fasciites nécrosantes ont été décrits (78–80).

Les effets indésirables doivent faire l'objet d'une déclaration. La déclaration au CRPV (Centre régional de Pharmacovigilance) est une obligation pour les professionnels de santé (81).

5- Contre-indications

Les contre-indications sont liées principalement aux effets indésirables inhérents à l'hirudothérapie.

Ainsi, les patients présentant des troubles de la coagulation sanguine (hémophilie, leucémie, traitement par héparine/anti-vitamines K) ne peuvent pas être traités à cause du risque de saignement, tout comme les patients présentant une anémie sévère non résolutive (57).

Cependant, la prise d'un traitement influant sur l'agrégation plaquettaire (Kardégic®, Clopidogrel) ne constitue pas une contre-indication au traitement (82).

La survenue d'infection iatrogénique est possible et fréquente. Les patients présentant une immunodépression (cancer, maladies hématologiques, séropositif au stade Sida) ne doivent pas être traités par l'hirudothérapie (74).

Le traitement de la femme enceinte ou allaitante est controversé. Dans tous les cas, il est préférable d'y avoir recours une fois la grossesse menée à son terme (16).

D- Circuit d'approvisionnement, de stockage et d'utilisation

1- La commande

Au CHU Amiens- Picardie, la commande d'un nouveau lot de sangsues (50 sangsues au minimum/ commande) se réalise par le service des commandes de la PUI (Pharmacie à usage intérieur). Contrairement à la majorité des médicaments et dispositifs de santé, la commande des sangsues passe encore par un système de fax et n'est pas interfacée avec le logiciel de gestion économique Magh-2 (SILPC, Isle, France).

Le coût du transport est fixe à 35,88 euros (18).

Après réception du bon de commande, le laboratoire Ricarimpex®, prépare le nombre de sangsue et les placent dans une boîte en polystyrène renforcé. L'acheminement est réalisé dans des petits sacs garnies par du coton humidifié par une eau à une température de 2- 8°C (Figure 16) (4).



Figure 16 – Sangsues dans le coton avant expédition vers un centre hospitalier

La livraison est réalisée dans les 24h par un transporteur express.

Chaque commande est accompagnée par une notice mentionnant les bonnes pratiques de conservation/entretien/destruction (Annexe 1).

En début de l'année 2018, chaque commande est également accompagnée par un antibiogramme réalisé par le fournisseur concernant la souche d'*Aeromonas* spp. colonisant le lot commandé. Ce document permet ainsi au clinicien d'adapter la prescription de l'antibioprophylaxie.

Le coût individuel d'une sangsue est de 9,02 euros TTC.

A la réception du colis, la vivacité des sangsues est contrôlée et sont retirées du coton humidifié.

Le colis est positionné à proximité d'un point d'eau et les sangsues sont placées dans un bocal en verre préalablement nettoyé et stérilisé. Une étiquette comportant le numéro de lot des sangsues est éditée.

Les sangsues sont au préalable déposées dans une passoire et nettoyées avec du savon liquide de Marseille, puis rincées.

Il est recommandé de ne pas mélanger les lots entre eux et de mettre maximum 10 sangsues par bocal de 250mL et ce pour éviter de stresser les sangsues et d'influencer négativement leur pouvoir de succion (Voir Annexe 2).

Au CHU Amiens-Picardie, 50 sangsues sont conservées par bocal de 500mL.

Le bocal est rempli au deux tiers avec une eau de source (Cristaline®) ou une eau minérale (Volvic®). L'eau de conservation doit être dénuées de chlore et contenir peu de nitrates et de calcaires (16). L'eau du robinet est à proscrire car elle contient du calcaire et des traces d'antibiotiques (pouvant être à l'origine d'une antibiorésistance des bactéries composant la flore commensale des sangsues) (83).

2- La conservation

Ricarimpex® recommande de ventiler en continu le bocal (40) d'utiliser un tissu en coton pour fermer le bocal.

Au CHU d'Amiens-Picardie, des compresses non stériles double épaisseurs positionnées sur le bocal permet d'oxygéner l'eau et d'empêcher les sangsues de s'échapper (Figure 17).

La température de conservation recommandée est comprise entre $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$. A cette température, la durée maximale de conservation est de 1 an (84).

A la PUI Amiens-Picardie, la température y est monitorée en permanence par un logiciel de métrologie.



Figure 17 – Bocal de stockage des sangsues dans la PUI du CHU Amiens-Picardie

3- La dispensation

Les principaux services prescripteurs au CHU sont la chirurgie maxillo-faciale (CMF), la chirurgie plastique et l'orthopédie.

Une ordonnance nominative (Nom/ Prénom/ Date de naissance/ IPP et signature du médecin) associée au nombre de sangsues désirées est faxée à la pharmacie.

Un kit de dispensation (passoire, pot blanc opaque d'une contenance de 50mL, gants en latex et épaisseur) est prévu afin de faciliter la dispensation (Figure 18).

Après validation de la conformité de l'ordonnance, la dispensation est réalisée par le préparateur ou l'interne en pharmacie.



Figure 18 - Kit de dispensation des sangsues du CHU

La manipulation des sangsues se fait à proximité d'un point d'eau. Dans un premier temps, le nombre de sangsues souhaité est prélevé au moyen de l'épuisette puis déposé dans la passoire préalablement déposée dans l'évier. La vitalité des sangsues est vérifiée et les sangsues mortes sont éliminées.

Les sangsues sont rincées avec de l'eau minérale et sont déposées dans un pot rempli à moitié d'eau minérale.

Le pot est, préalablement, identifié (date de dispensation, le numéro de lot et le nombre de sangsues) avant de procéder à la dispensation dans le service.

L'ordonnance nominative est conservée dans le classeur prévu à cet effet. Le nombre de sangsues délivrées, la date de dispensation, les initiales de la personne ayant dispensé ainsi que le numéro de lot des sangsues sont tracés.

Dans le service, les sangsues sont conservées à température ambiante, et ceci jusqu'à utilisation.

4- L'utilisation des sangsues par le service clinique

Avant la prescription de l'hirudothérapie, le clinicien prépare au préalable le patient surtout lorsque la zone concernée est le visage ou les parties intimes (scrotum, poitrine) (86). La peau doit au préalable être nettoyée au moyen de savon doux à pH neutre (de type l'ANIOS®) et d'eau. Plusieurs produits topiques sont à éviter (57, 83) :

- l'alcool qui favorise la régurgitation avec une augmentation du risque infectieux
- le chlore qui diminue la fixation de la sangsue
- les produits anesthésiants qui diffusent à la surface de la peau. Une période de *wash-out* équivalent à 5 fois le temps de demi-vie du médicament sont à respecter (exemple : sévoflurane a une demi-vie de 15h, l'application des premières sangsues doit survenir 75 heures après la fin de l'anesthésie). Ces recommandations ne sont en pratique, pas suivies (86). Les produits cosmétiques ou les parfums sont à proscrire à proximité de la zone d'intérêt (16).

Un champ stérile est déposé sur la zone d'intérêt. L'infirmière munie d'une paire de gants et d'une pince et la saisie par la tête et la dépose sur la zone d'intérêt (Figure 19).

Le nombre de sangsues à appliquer par jour dépend de plusieurs paramètres : l'indication, la gravité de la congestion veineuse et la taille du lambeau.

Les sangsues à jeun s'accrochent dans la minute qui suit l'application. Une friction de la peau pour favoriser la vasodilatation peut être nécessaire pour provoquer la morsure de la sangsue (83). De même, le lavage de la peau à l'aide d'une solution de glucose améliorerait la fixation de la sangsue (18).

L'utilisation d'une aiguille stérile peut s'imposer en dernier recours (57).



Figure 19 – Application d'une sangsue pour une réimplantation digitale

Si la sangsue ne s'accroche pas, elle est détruite et remplacée par une autre.

Après fixation, la sangsue reste en place pendant une période de 20 à 60 minutes avant de se détacher spontanément. La taille de cette dernière double voire triple lors de son repas sanguin (74).

Durant le repas, ne pas tenter de décrocher la sangsue. La douleur, le risque de phlegmons sur la peau ainsi que les risques septiques liés à la régurgitation de la sangsue (médié par une réaction de stress important) sont les principaux risques (16).

L'application est répétée toutes les 2h à 12h et plusieurs sangsues peuvent être appliquées simultanément (67).

Ces applications sont entrecoupées de période de repos (plusieurs heures) avec utilisation de pansement compressif afin de potentialiser l'action des sangsues.

La durée de traitement est aléatoire, mais varie en fonction du praticien et de l'indication. Elle est comprise entre 2 à 10 jours et dépend d'une appréciation de la couleur du lambeau, de la recharge capillaire et de la couleur du saignement (74).

Une fois l'hirudothérapie terminée, la peau peut à nouveau être nettoyée avec du savon doux et de l'eau.

5- L'élimination

Les sangsues sont à usage unique et sont détruites dans le pot dispensé par la pharmacie, rempli d'eau de Javel ou de Dakin. Le pot fermé doit ensuite être jeté dans un DASRI (Déchets d'Activités de Soins à Risques Infectieux) (18).

E- Risque infectieux et *Aeromonas* spp.

Les bactéries du genre *Aeromonas* sont le symbiote majoritaire au sein du système digestif de la sangsue (87).

Les sangsues produisent peu d'enzymes lytiques; elles font appel à l'hémolysine, produite par les *Aeromonas* pour dégrader le sang. Cette symbiose est lente à se mettre en place chez la sangsue nouvellement née (entre 6 mois et 1 an) (87).

1- L'agent pathogène

Le genre *Aeromonas* appartient à la famille des Gammaprotéobactéries, qui est subdivisée en 2 groupes principaux :

- le groupe psychrophile dépourvu de mobilité, dont la température de croissance est de 22 -25°C et infecte principalement les reptiles et les serpents. Ce groupe est représenté par *A.salmonicida* (88).

- le groupe mésophile qui est mobile et dont la température de croissance est de 35 - 37°C et peut infecter l'Homme (*A.hydrophila*, *A.veronii* et *A.caviae*) (89).

a) L'habitat

Les *Aeromonas* sont des bactéries ubiquitaires, retrouvées dans l'environnement aquatique (égouts, lacs, rivières) (6), dans les fruits et légumes, dans la viande, les produits laitiers et les sols humides.

Les eaux potables sont contaminées dans 27% des cas par cette bactérie (90) et le risque infectieux est faible (7,3 cas / milliards d'exposition).

b) La contamination

L'homme, d'autres mammifères (ours), les oiseaux, les reptiles et les poissons sont des hôtes potentiels de la bactérie (91). L'infection survient le plus souvent par voie féco-orale lors de l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (6). La dose infectieuse nécessaire à la contamination est très élevée (>10¹⁰ micro-organismes) (92).

Des contaminations résultant de morsures d'hôtes infectés ont été décrites (reptiles, sangsues etc) (92).

Chez l'Homme, *Aeromonas* est considéré comme pathogène lorsque la bactérie est retrouvée dans un site stérile. C'est le cas notamment de l'infection lors de l'hirudothérapie (93).

c) La symptomatologie

Les infections à *Aeromonas* ont une symptomatologie diversifiée dépendant du mode de contamination et de l'état immunitaire du patient (88).

Trois espèces sont particulièrement impliquées dans les infections chez l'Homme : *A. cavia*, *A. hydrophila* et *A. veronii* (94).

Chez le sujet immunocompétent, l'infection à *Aeromonas* prend une symptomatologie de gastroentérite faisant suite à l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (95).

La symptomatologie diffère en fonction de l'espèce incriminée (7) :

- diarrhée aqueuse, sécrétoire avec une fièvre modérée pour l'espèce *A. hydrophila*
- diarrhée mucosanglante pour l'espèce *A. veronii*

Les infections cutanées sont fréquentes, il s'agit le plus souvent d'une surinfection d'une plaie suite à l'hirudothérapie (96) ou d'une fasciite nécrosante (Figure 20). Ces dernières touchent volontiers les individus de sexe masculin en bonne santé et ayant présenté un traumatisme avec une exposition hydrique ou tellurique (97). L'infection est le plus souvent polymicrobienne (*Staphylococcus aureus* ou entérobactéries) (98, 99).



Figure 20 – Cellulite nécrosante d'un patient

Chez le sujet immunodéprimé, une infection cutanée peut être à l'origine d'une septicémie associée à des douleurs abdominales et une diarrhée. Les septicémies des sujets immunodéprimés sont de pronostic sombre (25 à 50% de mortalité) (100).

Dans de rares cas, *Aeromonas* peut être à l'origine d'infections respiratoires, de méningites, d'infections urinaires ou oculaires (79, 88).

2- Fiches d'identité de la bactérie

Aeromonas sont des bacilles à Gram négatif de 0,3 et 1 µm de large sur 1 à 3 µm de long (Figure 21). Bactérie mobile grâce à un flagelle polaire, elle produit des entérotoxines thermolabiles proche des hémolysines. (6)



Figure 21 – *A. hydrophila* au microscope électronique

La bactérie n'a pas d'exigence nutritive particulière. La croissance est possible sur milieux non sélectifs à une température de 28°C et sur milieu sélectif (Drigalski).

Sur gélose de sang, les colonies sont Beta-hémolytiques, lisses et de couleurs grises (98) (Figure 22).

Ce sont des bactérie oxydase, catalase et indole positifs (6). L'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF constitue, à l'heure actuelle, la méthode d'identification de référence (101).



Figure 22 – Colonies d'*A. hydrophila* sur gélose au sang après 24h d'incubation

3- Sensibilité aux antibiotiques, aux antiseptiques et à l'inactivation physique

a) Sensibilité aux antibiotiques

Aeromonas est sensible aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), aux carbapénèmes (sauf l'ertapénème), aux aminosides (sauf streptomycine), aux fluoroquinolones et au sulfaméthoxazole-triméthoprim (102, 103).

L'ensemble des espèces du genre *Aeromonas* (sauf *A. trota*) sont résistantes aux aminopénicillines, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la ticarcilline et aux céphalosporines de 1^{ère} et de 2^{ème} génération (104).

Ces résistances naturelles sont associées à la production d'une ou de plusieurs β -lactamases inductibles d'origine chromosomique (105) :

- Une oxacillinase présente chez la majorité des espèces du genre *Aeromonas* (sauf *A. trota*) et qui est à l'origine de la résistance à l'amoxicilline, à la ticarcilline et à l'association amoxicilline + acide clavulanique.

- Une céphalosporinase induisant la résistance à la céfalotine. Cette résistance est retrouvée chez les espèces *A. caviae* et *A. hydrophila*.

Sur la base de la sensibilité des *Aeromonas*, certains auteurs recommandent l'utilisation de faible concentration d'antibiotique (fluoroquinolones et céphalosporines) dans l'eau de conservation des sangsues.

L'ajout de 20 $\mu\text{g/mL}$ de ciprofloxacine et 50 $\mu\text{g/mL}$ de céfotaxime ont permis l'élimination du symbiote jusqu'à 7 jours après l'utilisation de ces molécules (106).

D'autres auteurs ont démontré d'une part, que de faibles concentrations d'antibiotique sont à l'origine d'une pression de sélection et favoriseraient l'apparition des résistances acquises chez les *Aeromonas* spp. (107). D'autre part, les bactéries sont indispensables à la digestion du sang ce qui explique que cette pratique n'est pas recommandée.

b) Sensibilité aux antiseptiques

Les bactéries du genre *Aeromonas* sont très sensibles à la plupart des antiseptiques : halogénés iodés (Bétadine®), halogénés chlorés (eau de Javel/Dakin®) et au biguanide chloré (chlorhexidine) (108).

L'utilisation des antiseptiques entraîne un faible risque de résistance, médié principalement par le détachement du biofilm bactérien (109, 110).

Plusieurs antiseptiques sont actifs sur cette bactérie et ont l'avantage de diminuer le portage symbiotique de la sangsue tout en conservant son pouvoir de succion (Tableau 2).

Antiseptiques	Délai d'action	Activité sur les champignons et les virus	Effet Rémanent ?	Effets indésirables
Halogénés iodés (Bétadine® 10%)	1 minute	Oui	Oui pendant 3h	Eczéma de contact
Halogénés chlorés (Dakin® 0,5%)	1 minute	Oui	Non	Sensation de brûlure
Chlorhexidine 0,2%	5 minutes	Non	Oui pendant 1 à 4h	Eczéma et urticaire

Tableau 2 – Principaux antiseptiques actifs sur *Aeromonas* (111, 112)

L'activité des antiseptiques est maximale avec une température élevée, un temps de contact prolongé et une forte concentration (112).

La chlorhexidine a un délai d'action plus long et présente une forte activité rémanente permettant une « stérilisation » externe des sangsues sur une période plus longue.

L'activité rémanente est le temps pendant lequel l'antiseptique est encore efficace sans avoir besoin de renouveler l'application (112).

La Bétadine® n'a pas été testée sur la sangsue et son efficacité est inconnue.

Il a été démontré qu'une concentration de 12,5ppm de Dakin® appliquée pendant 10 min permettait de faire disparaître les *Aeromonas* de la bouche des sangsues. L'étude a aussi montré une perte de succion pour 2 des 8 sangsues étudiées (113).

La chlorhexidine appliquée pendant 10 à 15 secondes est tout aussi efficace et n'impacte pas la capacité de succion. Au-delà, elle devient neurotoxique pour la sangsue et peut altérer son efficacité (114).

c- Inactivation physique des *Aeromonas*

Il y a peu de données dans la littérature concernant des méthodes d'inactivation physique de cette espèce bactérienne.

Cependant, il a été démontré qu'*A. hydrophila* était inactivée après (115,116):

- une exposition à une température >62°C pendant plusieurs minutes
- une stérilisation à la chaleur humide (121°C pendant 15 min) ou sèche (160°C pendant 1h)
- un bombardement aux ultrasons sous pression élevée (200KPa) à une température de 40°C

d- Évolution de l'antibiorésistance et choix de l'antibioprophylaxie

Des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été décrites dans la littérature avec une résistance associée aux fluoroquinolones, au cotrimoxazole (117) ainsi qu'une carbapénèmase entraînant une résistance à l'ensemble des carbapénèmes.

L'hirudothérapie est une pratique non harmonisée avec des disparités d'utilisation et de prévention des infections diverses en fonction des pays et des hôpitaux.

Une analyse de la littérature a été réalisée suivie par des propositions afin d'harmoniser la pratique de l'hirudothérapie (67). La nécessité d'une antibioprophylaxie a été réaffirmé, avec un consensus sur l'utilisation des fluoroquinolones, le cotrimoxazole et/ ou céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (118).

Des cas d'*Aeromonas* BLSE (75, 119) associés à des résistances aux fluoroquinolones et cotrimoxazole (120) ont été récemment décrit dans la littérature.

En 2009, une étude prospective nationale portant sur 78 infections à *Aeromonas* spp. tirait la sonnette d'alarme avec 5,6% des bactéries isolées résistantes au ciprofloxacine, 8,3% au cotrimoxazole et 1,4% à la ceftazidime (98).

Deuxième Partie : Travail Personnel

A- Cas clinique

Le début de notre intérêt pour l'hirudothérapie a pour origine un cas clinique. Mme V., 58 ans admise en décembre 2017 dans le service de Chirurgie Plastique afin de subir une reconstruction mammaire unilatérale post-mastectomie.

L'intervention chirurgicale s'est déroulée sans complication, mais la phase post-opératoire a été marquée par la survenue d'une congestion veineuse au niveau du lambeau de reconstruction mammaire.

Cette complication a été à l'origine de la prescription de sangsues médicinales.

Trente sangsues ont été utilisées pendant 5 jours avec une évolution favorable et une bonne coloration du lambeau. Une antibioprophylaxie à base d'une association triméthoprim / sulfaméthoxazole (80 mg / 400 mg x 2/j) et d'ofloxacine (200 mg x 2/j) par voie orale a été utilisée durant toute la période de l'hirudothérapie.

Au 6^{ème} jour, la patiente a présenté une anémie avec une hémoglobine à 8,5 g/dL ayant entraîné une transfusion de deux culots globulaires érythrocytaires. La patiente est rentrée à son domicile après 7 jours d'hospitalisation.

Un mois plus tard, Mme V. s'est présentée aux urgences avec une nécrose partielle du lambeau et une présence de suppuration au niveau de la cicatrice opératoire. Le bilan inflammatoire était perturbé (protéine C-réactive à 151 mg/L et une hyperleucocytose à 30.10^3 leucocytes / mm³).

La patiente a été réopérée en urgence avec un débridement chirurgical ainsi qu'une seconde reconstruction mammaire par lambeau (provenant du muscle grand dorsal). Trois échantillons per-opératoires ont été prélevés et envoyés au laboratoire de bactériologie.

L'examen bactériologique a montré de nombreux polynucléaires neutrophiles et d'assez nombreux bacilles à Gram négatif, à l'examen microscopique. La mise en culture des échantillons a permis d'isoler *A. hydrophila* en culture pure après 24h d'incubation. L'identification précise a été obtenue par Spectrométrie de masse (MALDI-TOF Bruker ®) avec un bon score (2,3).

Un antibiogramme par la méthode de diffusion en gélose de la souche a été réalisé selon les recommandations de la société française de microbiologie (CA-SFM/EUCAST 2016). Une

résistance de l'*A. hydrophila* aux deux antibiotiques utilisés en antibioprofylaxie (ciprofloxacine & triméthoprime + sulfamides) a été détectée (Figure 23).

Commentaire de la demande :

EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES PLAIES

Nature: Plaie

Polynucléaires	Nombreux(SES)
Hématies	Assez nombreux(SES)
Bacilles Gram négatif	Assez nombreux(SES)

CULTURE

Résultat culture	-
Identification du germe	Nombreux(SES) <i>Aeromonas hydrophila</i>
TICARCILLINE	R
TICARCILLINE + AC. CLAVULANIQUE	I
CEFOTAXIME	R
CEFTASIDIME	S
CEFEPIME	I
IMIPENEME	S
MEROPENEME	S
GENTAMICINE	S
TOBRAMYCINE	R
AMIKACINE	S
LEVOFLOXACINE	R
CIPROFLOXACINE	R
TETRACYCLINE	S
TRIMETHOPRIME + SULFAMIDES	R
Fin de l'examen	OUI
Statut Examen	Terminé

Figure 23 – Résultat de l'examen cytot bactériologique de l'échantillon de pus

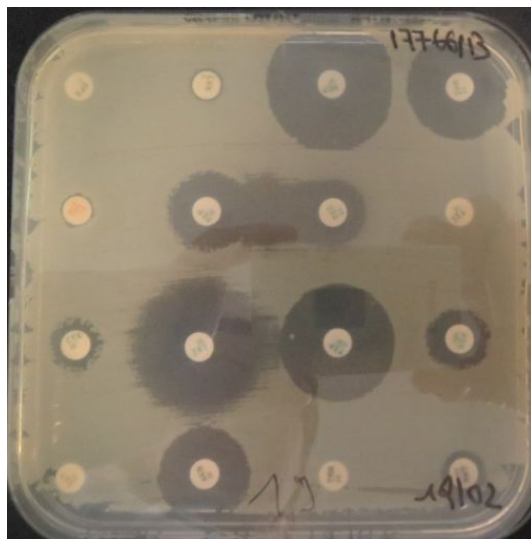


Figure 24 – Antibiogramme par la méthode de diffusion en gélose

Une synergie entre les céphalosporines de troisième génération et l'association ticarcilline + acide clavulanique a été observée laissant supposer que la souche était productrice d'une β -lactamase à spectre étendue (BLSE) (Figure 24).

Une contamination par les sangsues a été suspectée.

L'eau de conservation des 4 lots de sangsues disponible (17622/B, 17685/B, 17762/B, 17766/B) à la pharmacie (dont celui des sangsues délivrées à Mme V.) a été prélevée pour une analyse bactériologique dont les résultats sont résumés dans le Tableau 3.

L'ensemble des 4 lots étaient contaminés avec de *A. veronii* et d'entérobactéries principalement *Citrobacter freundii* et *Morganella morganii*.

Bactéries retrouvées	Nombre d'espèce isolée	Phénotypes de résistance de β -lactamines	Résistance cotrimoxazole (%)	Résistance fluoroquinolones (%)
<i>C. freundii</i>	1	Céphalosporinase naturelle de bas niveau	0	0
<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>	3	Pénicillinase naturelle de bas niveau	0	0
<i>M. morganii</i>	3	Céphalosporinase naturelle de bas niveau	33,3	0
<i>A. Ichtiostmia</i>	1	Pénicillinase naturelle de bas niveau	0	0

Tableau 3 – Bactéries retrouvées dans l'eau de conservation des 4 lots de sangsues

Le lot 17766/B potentiellement à l'origine de l'infection iatrogène de Mme V. présente de très nombreuses colonies d'*A. hydrophila*, *M. morgani* et *C. freundii*. Le profil de résistance aux antibiotiques de l'*A. hydrophila* était identique à celui de la souche de la patiente.

Une analyse moléculaire d'*A. hydrophila* isolées chez la patiente et dans l'eau de conservation des sangsues a été réalisée par le Centre National de Référence de Besançon, confirmant la sécrétion de deux β -Lactamases TEM-1 et CTX-M-3 ce qui nous a conduit à confirmer que c'était l'hirudothérapie qui a été à l'origine de l'infection de la patiente.

La patiente hospitalisée a bénéficié d'une antibiothérapie à base de gentamicine (305mg/j pendant 2 jours) et ceftazidime (6g/j pendant 10 jours). Son état clinique s'est rapidement amélioré ainsi que son bilan inflammatoire.

Ce cas clinique a entraîné :

- Une déclaration de pharmacovigilance au CRPV
- La rédaction d'un Case Report publié dans la revue « Clinical Microbiology and Infection » (Annexe 3)
- Une communication orale lors de la 19^{ème} journée de pharmacovigilance du CRPV d'Amiens-Picardie 2019 (Annexe 4)

B- Mise en place de mesures correctives

Dès la survenue du cas clinique, la pharmacie a mis en place plusieurs mesures correctives afin d'améliorer le circuit de la sangsue médicinale en se basant sur les données de la littérature notamment pour le délai du changement de l'eau de conservation.

Une enquête multicentrique portant sur les modalités de conservation des sangsues dans les CHU a, en effet, permis de mettre en évidence des disparités entre les PUI (121).

1- Amélioration des pratiques de réception et de conservation

a) Augmentation de la fréquence de changement de l'eau de conservation

Au sein de la PUI du CHU Amiens-Picardie, l'eau de conservation des sangsues était renouvelée de façon hebdomadaire (tous les vendredis), avec une eau minérale de la marque Cristalline®. L'eau au moment du renouvellement était trouble et le corps de sangsues reposait parfois au fond du bocal.

Il a été décidé de passer à un changement plus fréquent de l'eau de conservation (trois fois par semaine).

Au moment de ce changement, les bocaux en verre étaient stérilisés.

b) Création d'une procédure de nettoyage des sangsues

Avant la survenue du cas clinique, la pharmacie ne disposait pas de procédure de nettoyage des sangsues. Une procédure a été rédigée afin d'uniformiser les pratiques inter-opérateurs (Annexe 2).

Cette procédure (CHUFT2540) reprend les recommandations de la notice de Ricarimpex® (utilisation d'une eau minérale, nettoyage du bocal).

c) Mise en place d'une traçabilité de nettoyage

La nouvelle procédure mentionne la mise en place concomitante d'un formulaire de traçabilité de nettoyage (date et heure du nettoyage, lot de sangsues concerné, nombre de bocaux nettoyés, nécessité d'utiliser de l'eau minérale et les paraphes du magasinier ayant réalisé le nettoyage) (Annexe 5).

d) Mise en place d'une traçabilité à la réception

Un formulaire de traçabilité de réception des nouveaux lots de sangsues a, également, été mise en place.

Cette traçabilité permet de déterminer la durée de conservation des sangsues et de prévoir l'utilisation en priorité des sangsues ayant la date de réception la plus ancienne et de faciliter un éventuel retrait de lot.

2- Amélioration des prescriptions

a) Prescription de l'hirudothérapie

Le principal objectif de cette action était l'analyse des prescriptions et la surveillance de la dispensation des sangsues et au besoin de contacter le prescripteur en cas d'absence d'une antibioprophylaxie ou d'une antibioprophylaxie inadéquate.

Durant la période de mai 2019 à décembre 2020, 2 antibioprophylaxies ont été conseillées aux prescripteurs et 2 ont été modifiées car non conformes aux recommandations (ciprofloxacine +/- cotrimoxazole vs amoxicilline / ac. clavulanique).

b) Création d'une ordonnance spécifique

En octobre 2020, une ordonnance spécifique d'utilisation des sangsues médicinales a été mise en place au CHU Amiens- Picardie (Annexe 6). Le but étant d'améliorer les pratiques et de pérenniser l'analyse des prescriptions.

Les objectifs de cette ordonnance étaient multiples :

1° Tracer les patients traités par hirudothérapie

2° Définir les indications et le nombre de sangsues utilisées/ jour

3° Inciter le prescripteur à utiliser une antibioprophylaxie conforme aux recommandations internationales (fluoroquinolones, cotrimoxazole ou une association des 2 molécules). En l'absence d'une antibioprophylaxie, la délivrance n'est possible qu'en cas de régularisation par le prescripteur.

c) Mise en place d'une décontamination externe

La décontamination externe des sangsues avant application sur la zone d'intérêt est l'une des méthodes permettant de diminuer le risque infectieux (113).

Cette pratique est très peu utilisée dans les centres hospitaliers français, comme l'a soulevé une enquête nationale (121). En effet, seuls neuf participants sur 23 établissements pratiquent la décontamination externe sans préciser la nature de l'antiseptique utilisé et les modalités pratiques de réalisation (durée de contact, nombre de rinçage).

Au CHU Amiens-Picardie, une combinaison des recommandations des HUG (Hôpitaux Universitaires de Genève) et de la littérature nous ont conduit à rédiger un protocole pratique ne nécessitant pas beaucoup de dispositifs médicaux et facilement utilisable en routine (122).

Un « kit de décontamination » avec l'ensemble du matériel nécessaire a été composé et délivré en même temps que toute dispensation de sangsues (Annexe 7).

C- Etude rétrospective de l'utilisation de l'hirudothérapie au CHU Amiens-Picardie sur une période de 9 ans : Amiens Leeches (AMLEE)

Le cas clinique précédent nous a permis une remise en question de nos pratiques et a montré l'importance de l'infection à *Aeromonas* spp. sur la probabilité de survie d'un lambeau. Nous avons réalisé une étude rétrospective portant sur les patients traités au sein de l'établissement a été réalisée ainsi qu'une évaluation de la balance bénéfice/risque de l'hirudothérapie.

Cette étude « AMLEE » (AMiens LEEches) porte sur l'ensemble des patients traités par l'hirudothérapie sur une période de 9 ans (2010 - 2018).

Cette première étude rétrospective a été réalisée avant la mise en place des mesures correctrices.

Les objectifs de cette étude rétrospective étant les suivants :

- 1- Etude démographique et clinique des patients traités par hirudothérapie
- 2- Détermination de la prévalence d'*Aeromonas* spp. post-hirudothérapie et l'impact sur la survie du lambeau
- 3- Détermination de la prévalence des autres bactéries et leur impact sur la survie du lambeau

Cette étude a fait l'objet d'une déclaration à la DRCI du CHU Amiens-Picardie. Après avoir statué sur la conformité de notre étude d'après les modalités d'application prévues en Hors Loi Jardé, nous avons obtenu le numéro Clinical Trials NCT04676581.

Méthodes :

Un recueil des données des patients a été réalisé à la pharmacie du CHU : caractéristiques démographiques des patients (sexe, âge), indication à l'hirudothérapie, nombre de sangsues utilisées, durée, service prescripteur, présence éventuelle de comorbidités, et d'antibioprophylaxie.

La date, la nature du prélèvement, et les données bactériologiques (identification de l'espèce et sensibilité aux antibiotiques) des patients infectés ont, également été recueillies.

Trois groupes de patients ont été définis : patients non infectés, patients infectés par *Aeromonas* spp. et patients infectés par une/des bactérie(s) n'appartenant pas au genre *Aeromonas* (Figure 25).

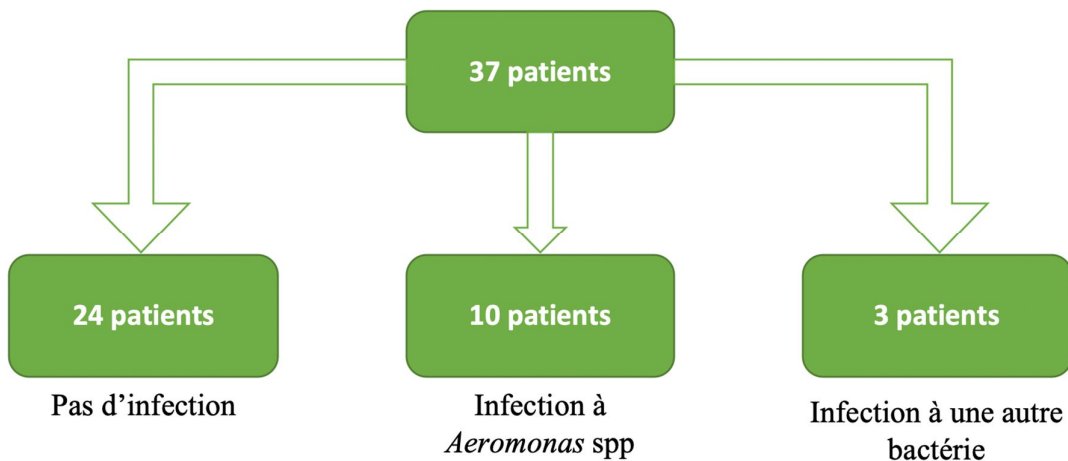


Figure 25 – Répartition des 3 groupes de patients en fonction de la survenue éventuelle d'une infection post-hirudothérapie

L'impact de l'infection a été analysé (ré-opération, allongement de la durée d'hospitalisation), ainsi que l'antibiothérapie curative utilisée.

Une analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT (Addinsoft, Paris, France), et la *p-value* pour la comparaison des fréquences relatives a été estimée à l'aide d'un test Khi2. Un seuil $p < 0,05$ a été considéré comme significatif.

Résultats :

Pendant la période de l'étude, 37 patients ont bénéficié de l'hirudothérapie (Tableau 4). Les principaux services prescripteurs étaient : chirurgie orthopédique (38%), chirurgie plastique (32%), chirurgie maxillo-faciale (27%) et les soins intensifs (3%).

La moyenne d'âge des patients était de 47 ans (12-84 ans) avec Sex-ratio M/F= 1,47.

Les indications de l'hirudothérapie étaient, principalement, des réimplantations de doigts (n=12) et des reconstructions mammaires post-mastectomie (n=5).

Services	Nombre de patients	Moyenne du nombre de sangsues utilisées par patient	Moyenne de la durée du traitement en jours	Moyenne du nombre de sangsues/patient/jour	Taux de réussite de l'hirudothérapie (%)	Taux d'infection (%)
Chirurgie Orthopédique	14	25 (8-126)	5,87 (2-12)	4,25	57,1	28,6
Chirurgie plastique	12	40 (10-105)	4,9 (2-7)	8,16	58,3	50
Chirurgie maxillo-faciale	10	36,2 (10-90)	3,1 (1-5)	11,67	70	20
Soins intensifs	1	35	4	8,75	100	100
Total	37	37 (8-126)	4 (1-12)	9,25	62	35.1

Tableau 4 – Caractéristiques de l'étude AMLEEv1

Durant la période de l'étude, aucune décontamination externe des sangsues n'a pas été pratiquée.

Trente-deux patients sur 37 (86,4%) avaient reçu une antibioprofylaxie. L'association amoxicilline + acide clavulanique a été utilisée pour 12 patients, le cotrimoxazole pour 6 patients, les fluoroquinolones pour 3 patients et l'association cotrimoxazole + fluoroquinolones pour 11 patients.

Le taux de succès global de l'hirudothérapie était de 62 % (23 patients). Ce succès est défini par le maintien du lambeau et l'absence de reprise chirurgicale.

Treize patients avaient présenté une infection à la suite de l'hirudothérapie : 10 à *Aeromonas* spp. (76,9%) et 3 avec d'autres bactéries (*Proteus vulgaris* et/ou *M. morgani*). Le délai moyen de survenue des infections était de 15 jours.

Une analyse bactériologique des échantillons des patients infectés a été réalisée. Les cultures étaient positives pour 20 échantillons. Un total de 27 espèces bactériennes a été isolé et identifié : *A. hydrophila* (n= 6), *A. veronii* (n= 2), *Aeromonas* spp. (n= 2), *A. sobria* (n= 1), *P. vulgaris* (n= 5), *M. morgani* (n= 3), *S. aureus* (n= 4), *Enterococcus faecalis* (n= 2), *Pseudomonas aeruginosa* (n= 2), *Serratia marscesens* (n= 2).

Parmi les patients infectés par *Aeromonas* spp., 7 ont présenté une co-infection avec *A. veronii*, 3 avec *P. vulgaris*, 3 avec *M. morgani*, 3 avec *S. aureus* et 2 avec *E. faecalis*.

Les souches d'*Aeromonas* spp. isolées étaient toutes résistantes à l'association amoxicilline + acide clavulanique (n=11), 36,4% des souches étaient résistantes aux fluoroquinolones (n=4), 27,3% au cotrimoxazole (n=3) et 18,2% au céfotaxime (n=2) (Tableau 5).

Bactéries isolées	Nombre isolées	Sensibilité		
		C3G	FQ	SXT
Bactérie Gram négative isolée				
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	1	S	S	NT
	2	R	R	R
	2	S	S	S
	1	S	R	R
	1	S	R	NT
<i>Aeromonas veronii</i>	2	S	S	S
<i>Aeromonas sobria</i>	1	S	S	NT
<i>Aeromonas spp.</i>	1	S	S	NT
	1	S	S	S
<i>Proteus vulgaris</i>	2	S	S	S
	4	S	R	R
	1	S	R	I
	1	S	R	S
<i>Proteus mirabilis</i>	1	S	S	S
<i>Morganella morganii</i>	3	S	S	R
	2	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i>	1	S	S	S
<i>Providencia rettgeri</i>	1	S	R	R
<i>Providencia stuartii</i>	1	S	S	S
<i>Serratia marcescens</i>	1	S	S	S
<i>E.Coli</i>	1	S	S	S
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	S	S	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	S	S	NT
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	S	S	S
<i>Hafnia alvei</i>	1	S	S	S
Bactérie à Gram positive				
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	NT	NT	NT
<i>Streptococcus intermedius</i>	1	NT	S	S
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	S	S	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	S	S	S

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} génération, FQ : Fluoroquinolone, SXT : Sulfaméthoxazole/Triméthoprime
S : Sensible, R : Résistant, NT : Non Testé

Tableau 5 - Résistances des bactéries isolées

L'analyse statistique (Tableau 6) n'a pas montré de différence significative entre les 3 groupes de patients, concernant l'âge ($p=0,65$), la prescription d'une antibioprophylaxie ($p=0,38$) ou l'existence d'une immunodépression préexistante ($p=0,96$).

L'infection à *Aeromonas* spp. n'a pas été à l'origine d'une augmentation significative du risque de survenue d'une anémie ($p=0,48$), ni d'un allongement de la durée d'hospitalisation ($p=0,13$). Cependant cette étude a montré une relation significative entre l'infection à *Aeromonas* et l'échec de l'hirudothérapie ($p=0,005$).

	Pas d'infection (n=24)	Infection à <i>Aeromonas</i> (N=10)	Infection à une autre bactérie (N=3)	p-value
Age, années	49,56 +/- 4,09	44.1 +/- 4.722	46 +/- 4,395	0,65
Durée de l'hirudothérapie, jours	4,28 +/- 1,66	5.5 +/- 0.671	4.6 +/- 0.678	0,42
Prescription d'une antibioprophylaxie	22 (91,6%)	8 (80%)	2 (66,6%)	0.38
Anémie	14 (58,3%)	8 (80%)	2 (66,6%)	0,48
Transfusion requis ?	7 (50%)	5 (62.5%)	1 (50%)	0,33
Succès de l'hirudothérapie	19 (79,1%)	2 (20%)	2 (66,6%)	0.005
Durée de l'hospitalisation, jours	13,25 +/- 3,42	14,8 +/- 3.235	10,3 +/- 2,17	0,13
Immunodépression (Cancer, HIV...)	10 (41,7%)	4 (40%)	1 (33%)	0.96

Tableau 6 – Données démographiques des 3 groupes de patients étudiés dans l'étude AMLEEv1

Conclusion

La prévalence des infections à *Aeromonas* spp. est élevée dans notre étude (35%). L'infection post-hirudothérapie a entraîné une diminution du taux de survie du lambeau à 40% comme cela a déjà été décrit (78). Notre étude a montré que l'infection à *Aeromonas* était à l'origine de cet échec.

Cette étude a entraîné :

- Une amélioration des pratiques de conservation des sangsues (augmentation de la fréquence de changement de l'eau, achat de 4 bocaux en verre supplémentaire, création d'une procédure de nettoyage validée, mise en place d'une traçabilité à la réception et lors du nettoyage).
- Une amélioration de la prescription et vérification systématique de l'antibioprophylaxie et de sa conformité avec mise en place d'une ordonnance spécifique.
- La mise en place de la décontamination externe des sangsues avant utilisation, avec création d'un kit d'utilisation et mise à disposition d'une procédure écrite et en vidéo (Annexe 7).

Les résultats de cette étude a fait objet de :

- Publication sous forme d'un poster à l'EAHP (European Association of Hospital Pharmacists), 2020 à Stockholm (Annexe 8)
- Une communication orale lors de la 40^{ème} journée de la RICAI, 2020 (Voir Annexe 9)
- Soumission d'un article dans une revue internationale

D- Impact des mesures prises au sein du CHU Amiens-Picardie (Etude AMLEEv2)

En Décembre 2020 soit, 2 ans après la mise en place des premières mesures correctives, nous avons réalisé une nouvelle étude sur l'impact des mesures prises sur l'incidence des infections à *Aeromonas* spp. et sur le taux d'échec de l'hirudothérapie. L'étude AMLEE fut étendue à la période 2019-2020 dans une seconde version.

Une étude comparative de la période 2010-2018 (dépourvu d'actions pharmaceutiques) et de celle 2019-2020 (application des nouvelles mesures) a été réalisée.

Les objectifs de cette étude étaient de :

- Déterminer l'impact des actions mises en place sur la survenue des infections et sur le succès de l'hirudothérapie.

- Observer les changements de prescription de l'antibioprophylaxie concomitante à l'hirudothérapie.

Méthodes :

Etude monocentrique rétrospective portant sur les patients traités par l'hirudothérapie au CHU Amiens-Picardie pendant une période de 11 ans : Janvier 2010 - Décembre 2020.

Deux groupes de patients ont été formés en fonction la date du traitement par sangsue :

- Groupe de la période 2010- 2018 correspondants à ceux de l'étude initiale AMLEE, où aucune action pharmaceutique n'avait été entreprise.

- Groupe de patients de la période entre 2019 et 2020 après une mise en place des actions correctrices.

Une analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT (Addinsoft, Paris, France), et la *p-value* pour la comparaison des fréquences relatives a été estimée à l'aide d'un test exact de Fisher et un test « t » de Student.

Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

Résultats :

Durant la période de l'étude (2010-2020), 58 patients ont été inclus dont 37 de la période initiale (2010-2018) et 21 pour la seconde (2019-2020). L'utilisation de l'hirudothérapie a augmenté de plus de 100%. Cette augmentation est liée à l'activité du service de chirurgie plastique (Tableau 7).

Les résultats ont montré une amélioration du taux de succès de l'hirudothérapie (90% vs 62%) et la diminution du taux des patients infectés (35.1% vs 9.5%) (Tableau 7).

Services	Première période 2010-2018			Seconde période 2019-2020		
	Nombre de patients	Taux de réussite de l'hirudothérapie (%)	Taux des patients infectés (%)	Nombre de patients	Taux de réussite de l'hirudothérapie (%)	Taux des patients infectés (%)
Chirurgie Orthopédique	14	57,1	28,6	6	83	0
Chirurgie plastique	12	58,3	50	8	100	0
Chirurgie maxillo-faciale	10	70	20	5	80	20
Chirurgie pédiatrique	0			2	100	50
Soins intensifs	1	100	100	0		
Total	37	62	35.1	21	90	9.5

Tableau 7 – Répartition des prescriptions de l'hirudothérapie par service pendant les 2 périodes de l'étude (AMLEEv2)

Une comparaison des 2 groupes de patient a été réalisée. Au cours de la deuxième période, le nombre de patients de sexe masculin était plus important (Sex-ratio H/F=3,2 vs 1,46). Cependant, cette différence n'est pas significative ($p=0,25$) (Tableau 8). L'âge moyen des 2 groupes de patients était comparable avec une moyenne globale de 47 ans ($p=0,86$).

Le nombre moyen de sangsues utilisé était plus faible pendant la deuxième période (24,8 vs 36,72) mais cette différence n'est pas significative ($p=0,13$). La durée de traitement était de 4 jours ($p=0,7$).

L'antibioprophylaxie a été prescrite chez 71% des patients de la deuxième période *versus* 86% pour la première période ($p=0,18$). Cependant les prescriptions n'étaient pas contrôlées régulièrement pendant la seconde période ce qui peut constituer un biais.

L'antibioprophylaxie était par contre conforme avec les recommandations pendant la seconde période (54% vs 57%, $p=1$).

Le taux de survenue d'une anémie a baissé pendant la seconde période. En effet, 38% des patients de la deuxième période avaient une anémie *versus* 64% pour le premier groupe ($p=0,06$), mais cette diminution n'est pas statistiquement significative.

La mise en place des actions a permis de diminuer de 25% la survenue d'infection ($p=0,05$) pendant la seconde période, avec un taux de succès de l'hirudothérapie de 90% *versus* 62% pour les patients de la première période ($p=0,03$).

La durée d'hospitalisation des patients a été plus courte pendant la seconde période, même si cette différence n'est pas significative et dépend notamment du type de chirurgie réalisé (13,2 *versus* 10, $p=0,17$).

La corrélation entre l'infection bactérienne post-hirudothérapie et le succès démontré dans la première étude AMLEE, a été confirmée dans cette deuxième étude rétrospective.

	Patients traités par hirudothérapie entre 2010 et 2018 (N=37)	Patients traités par hirudothérapie entre 2019/20 (n=21)	<i>p-value</i>
Sexe ratio (M/F)	1.46	3.2	0.25
Moyenne d'âge (+/- écart-type)	47.56 +/-16	46.52+/-18.8	0.86
Nombre moyen de sangsues utilisées (+/- écart-type)	36.72 +/- 29.7	24.8 +/- 28.1	0.13
Durée moyenne de l'hirudothérapie en jours (+/- écart-type)	4.59 +/- 2.57	4.2 +/- 2.27	0.7
Prescription d'une antibioprophylaxie (%)	32 (86%)	15 (71%)	0.18
Prescription d'un ou plusieurs antibiotiques recommandés par les guidelines (%)	20 (54%)	12 (57%)	1
Anémie (%)	24 (64%)	8 (38%)	0.06
Transfusion (%)	12 (50%)	5 (62%)	0.69
Infection (%)	13 (35.1%)	2 (9.5%)	0.05
Succès de l'hirudothérapie (%)	23 (62%)	19 (90%)	0.03
Durée de séjour à l'hôpital en jours (+/- écart-type)	13.2+/-10.9	10+/-8.6	0.17

Tableau 8 - Principales caractéristiques de l'étude AMLEEv2 en fonction de la période de recueil

La prescription de l'amoxicilline et de l'augmentin® a diminué suite aux actions mises en place. Le taux de prescription est passé de 35% à 19%. Une augmentation notable, mais statistiquement non significative des prescriptions de fluoroquinolones et de cotrimoxazole, et l'association des deux molécules a été notée (Tableau 9).

	Patients traités par hirudothérapie entre 2010 et 2018 (N=37)	Patients traités par hirudothérapie entre 2019/20 (n=21)	<i>p</i>-value
Pas d'antibiothérapie (%)	5 (14%)	6 (29%)	0.18
Amoxicilline (%)	1 (3%)	0	
Amoxicilline + Acide Clavulanique (%)	13 (35%)	4 (19%)	0.23
Fluoroquinolone (%)	12 (32%)	10 (48%)	0.27
Bactrim (%)	16 (43%)	11 (52%)	0.58

Tableau 9 – Répartition des prescriptions d'antibiotique en fonction de la période de l'étude

Conclusion

L'étude AMLEEv2 a permis de montrer l'efficacité des actions qui ont été mises en place au sein de la PUI d'Amiens. Le taux d'infection est divisé par quatre ce qui a conduit à une meilleure survie des lambeaux greffés.

En l'absence d'une base de données robuste avec des variables différentes, il n'a pas été possible de déterminer les actions correctrices ayant eu le plus d'impact sur l'amélioration du pronostic des lambeaux. Ce qui a conditionné notre volonté, de réaliser une étude nationale afin de pouvoir mener ce type d'investigation.

E - Etude multicentrique AMLEE version 3

Les objectifs de cette étude étaient ceux définis dans l'étude AMLEE :

-Confirmation du lien entre l'infection et l'échec de l'hirudothérapie sur une plus grande population.

-Définir les pratiques de conservation et de d'utilisation optimales afin de diminuer le risque d'infection et de l'échec thérapeutique.

-Détermination au niveau national de la prévalence des infections à *Aeromonas* spp. au cours de l'hirudothérapie et évolution de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées.

Méthodes :

L'étude AMLEE version 3, est une étude multicentrique, rétrospective sur une période de 11 ans (2010-2020) non interventionnelle et hors loi Jardé (123). Plusieurs centres hospitaliers ont été contactés. Seuls 4 ont répondu favorablement (Centre Hospitalier de Saint-Quentin, CH de Troyes, CHU de Grenoble et CHU de Reims).

Les centres nous ont transmis leurs données anonymisées via un serveur sécurisé Sharepoint et consultables uniquement par les professionnels participant à l'étude.

Une analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel R® (R Core Team, 2014). Une régression linéaire univariée puis multivariée ont été réalisées en fonction du taux de succès de l'hirudothérapie.

Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme significative (au risque $\alpha = 0,05$).

Résultats

Dans le cadre de l'étude et afin de pouvoir réaliser une analyse multivariée sur les résultats obtenus, les mesures de conservation et d'application des sangsues ont été recueillis pour les 5 centres participants (Tableau 10).

Centre hospitalier	Fréquence de changement de l'eau de conservation	Température de conservation	Analyse bactériologique de l'eau de conservation	Contrôle pharmaceutique de l'antibioprophylaxie	Réalisation d'une décontamination externe
Amiens 2010-2018	1 fois par semaine	2-8°C	Non	Non	Non
	2019-2020 3 fois par semaine	2-8°C	Non	Oui	Oui
Saint-Quentin	2 fois par mois	T° ambiante	Non	Non	Non
Troyes	2 fois par semaine	2-8°C	Non	Oui	Non
Reims	2 fois par semaine	2-8°C	Oui, une fois par mois (si + 1000UFC/ml destruction du lot)	Non	Non
Grenoble 2010-2017	1 fois par mois	T° ambiante	Non	Non	Non
	2018-2021 1 fois par semaine	2-8°C	Non	Oui	Oui

Tableau 10 – Conditions de conservation et de dispensation des sangsues dans les centres participants à l'étude AMLEEv3

A l'issue de la phase de recueil, une cohorte de 127 patients a été obtenue et les principaux résultats provenant des 5 centres de l'étude ont été colligés dans le Tableau 11.

Centre hospitalier	Nombre de patients	Nombre moyen de sangsues	Prescription d'une antibioprophylaxie cohérente avec les recommandations (%)	Réussite de l'hirudothérapie (%)	Anémie (%)	Présence d'une infection (%)	Dont genre <i>Aeromonas</i>
Amiens 2010-2018	37	36.7	20 (54%)	23 (62%)	24 (64%)	13 (35%)	10
	2019-2020	21	24.8	12 (57%)	19 (90%)	8 (38%)	2 (9.5%)
Saint-Quentin	14	32.5	0 (0%)	4 (29%)	4 (29%)	8 (57%)	2
Troyes	3	4.3	2 (67%)	2 (67%)	1 (33%)	1 (33%)	0
Reims	22	9	5 (23%)	15 (68%)	17 (77%)	5 (23%)	1
Grenoble 2010-2017	20	42	6 (30%)	9 (45%)	17 (85%)	5 (25%)	1
	2018-2021	10	50.3	6 (60%)	5 (50%)	8 (80%)	4 (40%)

Tableau 11 –Nombre de patients et principaux résultats des centres participant à l'étude AMLEEv3

Le taux global de succès de l'hirudothérapie était de 60.6%. Au total, 38 patients ont présenté une infection dont 15 à *Aeromonas* et l'hirudothérapie a été efficace pour 11 d'entre-eux (29%).

A l'inverse, pour les patients n'ayant pas eu d'infection (n= 89), l'hirudothérapie a été efficace dans 73% des cas (n= 65). Le taux de succès est significativement plus élevé chez les patients non infectés ($p=1.10^{-6}$).

Au sein de la cohorte, 59.8% des patients (n=76) n'avaient pas bénéficié d'une antibioprophylaxie conforme aux recommandations.

Plusieurs points ont été soulevés lors de cette étude :

- Le CHU Amiens-Picardie présente le plus grand nombre d'inclusion notamment grâce à l'activité du service de Chirurgie plastique.

- Après avoir appliqué des mesures correctrices, les CHU Amiens- Picardie et Grenoble ont permis d'améliorer le taux de survie du lambeau (90% et 50% respectivement).

- Le Centre Hospitalier de Saint-Quentin, a présenté un nombre important d'infections et par conséquent d'échecs de l'hirudothérapie. Des analyses bactériologiques n'ont pas été réalisées malgré le contexte clinique (plaie purulente) et biologique (CRP élevée et hyperleucocytose).

- Les CHU de Reims et Grenoble présentent des taux d'anémies importants liés, probablement, à la nature des interventions chirurgicales (pour le premier) et au nombre de sangsues utilisées pour le second (77% et 80%, respectivement).

La régression logistique univariée a permis de déterminer les facteurs associés au succès de l'hirudothérapie (Annexe 10). En effet, plusieurs facteurs de conservation des sangsues ont entraîné une amélioration du taux de survie du lambeau :

- L'augmentation de la fréquence de renouvellement de l'eau de conservation des sangsues a entraîné une amélioration du taux de réussite de l'hirudothérapie. En effet, la *p-value* est de 0.06 lorsqu'un changement d'eau est réalisé une fois par semaine, il passe à 0.002 lorsque le changement est réalisé 3 fois par semaine.

- Une température de conservation des sangsues à 2-8°C est un facteur prédictif du succès de l'hirudothérapie ($p = 0.018$)

- Une analyse de l'eau de conservation ($p = 0.383$) n'a pas entraîné une différence statistiquement significative de succès contrairement aux études précédentes. Ce résultat peut s'expliquer par 2 raisons : un échantillon de patients restreint (uniquement cantonné au CHU de Reims) et la présence d'autres paramètres influençant négativement la survie du lambeau (comme l'absence de contrôle pharmaceutique de l'antibioprophylaxie).

Parmi les facteurs liés aux patients, plusieurs points ont été soulevés :

- Aucun lien entre le sexe ($p = 0.148$), l'âge à l'inclusion ($p = 0.805$), la présence éventuelle d'une immunodépression ($p = 0.401$) et le succès de l'hirudothérapie n'a été retrouvé.

- L'utilisation de sangsues au niveau du thorax ($p = 0.023$) est à l'origine d'un bon taux de succès de l'hirudothérapie, mais cette pratique est utilisée essentiellement aux CHU Amiens- Picardie et Reims ce qui peut constituer un biais.

La présence de ces covariables (les centres présentant des mauvaises conditions de conservation pratiquent le plus souvent des petites chirurgies de réimplantation des doigts, par exemple) amènent à nuancer cette affirmation, qui doit être confirmée par une analyse multivariée.

- La durée de l'hirudothérapie ($p = 0.283$) et le nombre de sangsues utilisées ($p = 0.163$) n'ont pas d'impact sur le taux de succès.

- La survenue d'une anémie ($p = 0.787$) n'a pas d'impact sur le taux de succès

- La durée du séjour ($p = 0.022$) est corrélée au succès de l'hirudothérapie. En effet, les patients en échec thérapeutique étaient réopérés : ce qui augmente la durée de séjour.

Deux actions ont permis une amélioration du taux de succès de l'utilisation des sangsues ; la prescription d'une antibioprofylaxie contrôlée et adaptée ($p = 0.173$) et la décontamination externe ($p = 0.098$) sans que cela soit statistiquement significatif ($\alpha = 0,05$).

La survenue d'une infection à *Aeromonas* ($p = 0.003$) ou à une autre bactérie ($p = 0.015$) est statistiquement liée à un échec de l'hirudothérapie.

Les résultats de cette étude multicentrique ont montré que toute infection bactérienne quelle qu'elle soit est responsable de l'échec de l'hirudothérapie, contrairement aux résultats obtenus dans l'étude AMLEE version 1 où seules les infections à *Aeromonas* étaient à l'origine d'un taux d'échec important.

Le Centre Hospitalier de Saint-Quentin présente un taux d'échec plus important que celui de la première période (2010-2018) du CHU Amiens- Picardie ($p = 0.038$). L'absence totale de procédure de conservation des sangsues est, probablement, à l'origine de ces résultats.

Une régression logistique multivariée a été réalisée. Elle a pour intérêt d'éliminer les covariables significatives en analyse univariée car liées entre elles, ainsi cette analyse retient que ce sont les variables indépendantes qui sont associées au succès de l'hirudothérapie (Annexe 11).

Deux facteurs sur les sept qui ont été choisis comme étant les plus pertinents, ont présenté un lien significatif avec l'échec de l'hirudothérapie : la durée de séjour ($p = 0.05$) et la survenue d'une infection bactérienne ($p = 0.002$).

Les autres facteurs analysés : le site anatomique traité ($p = 0.081$), l'utilisation d'une antibioprophylaxie adaptée ($p = 0.536$), le changement de l'eau de conservation ($p = 0.389$), la température de conservation ($p = 0.25$) et la réalisation d'une décontamination externe ($p = 0.131$) n'ont pas montré d'impact significatif sur le taux de succès de l'hirudothérapie. Ces résultats sont probablement liés au faible effectif de l'étude.

Conclusion

L'étude AMLEE version 3 a permis de réaffirmer l'importance de l'infection bactérienne dans le processus d'échec de l'hirudothérapie.

L'analyse multivariée montre que la conservation à basse température et un changement fréquent de l'eau sont les 2 principaux facteurs à maîtriser afin de limiter le risque infectieux. La décontamination externe des sangsues, la prescription d'une antibioprophylaxie adaptée et l'analyse de l'eau de conservation ne sont pas apparues comme apportant un bénéfice substantiel pour les patients. Une étude avec une cohorte plus importante aurait probablement permis de démontrer un lien.

Cette étude a servi de base pour la mise en place des bonnes pratiques de conservation et d'utilisation des sangsues médicinales (Annexe 12) et la rédaction d'un article qui est en cours de finition.

Discussion

L'hirudothérapie est une pratique ancestrale, qui est utilisée depuis de nombreuses années dans des indications post-chirurgicales congestives (124). Elle pose néanmoins un risque infectieux non négligeable qui peut avoir un impact sur le taux de survie du lambeau (9).

Les conditions de conservation des sangsues ainsi que la prescription d'une antibioprophylaxie adaptée à la bactérie en cause sont les 2 principaux facteurs à maîtriser afin de contenir le risque infectieux (121). La PUI a un rôle majeur dans la gestion de l'hirudothérapie en centralisant la conservation et la traçabilité des sangsues médicinales et également dans la maîtrise de l'antibioprophylaxie prescrite (125).

Une étude française publiée en 2018 a montré que seuls 40% des CHU avaient recours à une antibioprophylaxie associée (121). En France comme dans d'autres pays, le risque infectieux semble sous-estimé par les prescripteurs (118). Le choix de l'antibiotique utilisé est important. En effet, les bactéries du genre *Aeromonas* étant naturellement résistantes à l'association amoxicilline + acide Clavulanique (98), les molécules à privilégier sont les fluoroquinolones et le cotrimoxazole (118).

Une utilisation des antibiotiques afin de stériliser l'eau de conservation a été suggérée. Cette idée a été abandonnée en raison d'un taux de mortalité élevé des sangsues et de l'apparition des souches bactériennes résistantes (106, 125).

Une désinfection externe extemporanée des sangsues est un moyen efficace et simple pour diminuer le risque infectieux (113). Cette pratique reste encore marginale en France, où seulement 40% des CHU l'utilisent (121).

Au CHU Amiens-Picardie, nous avons appliqué plusieurs mesures afin d'améliorer et de sécuriser le circuit de l'hirudothérapie, notamment l'augmentation de la fréquence de changement de l'eau de conservation.

La deuxième version de l'étude AMLEE a ainsi permis de déterminer que ces actions ont permis de diminuer significativement le risque infectieux et d'améliorer le taux de réussite de l'hirudothérapie.

L'étude multicentrique (AMLEE version 3) a mis en évidence d'importantes hétérogénéités des pratiques de conservation et d'utilisation des sangsues au sein des centres hospitaliers français.

La température de conservation et la fréquence de changement de l'eau sont apparues (en analyse univariée) comme ayant un impact clinique important et doivent être appliquées afin d'optimiser l'efficacité de l'hirudothérapie.

L'Annexe 12 résume les bonnes pratiques de conservation et d'utilisation des sangsues et a pour vocation à être affichée et appliquée dans les pharmacies à usage intérieur.

De plus amples investigations devront porter sur l'intérêt de la décontamination externe et d'un protocole de prescription d'une antibioprophylaxie conforme aux recommandations internationales.

Bibliographie

1. **Whitaker IS, Rao J, Izadi D, Butler PE.** Historical Article: *Hirudo medicinalis*: ancient origins of, and trends in the use of medicinal leeches throughout history. *Br J Oral Maxillofac Surg.* **2004** Apr 1;42(2):133–7.
2. **Romieux Y.** La sangsue à travers les âges : Nathalie Guigne, *La Sangsue : du bocal à l'hirudine.* *Rev Hist Pharm* 88e Année N 327 **2000**. Available from: https://www.persee.fr/doc/pharm_0035-2349_2000_num_88_327_5135_t1_0416_0000_2
3. **Schlaudraff KU, Bezzola T, Montandon D, Pepper MS, Pittet B.** Mixed Arterio-Venous Insufficiency in Random Skin Flaps in the Rat: Is the Application of Medicinal Leeches Beneficial? *J Surg Res.* **2008** Nov 1;150(1):85–91.
4. **Ricarimpex.** Sangsues médicinales. 2021. Available from: <https://sangsue-medicinale.com/les-sangsues/biologie/>
5. **Mercer NS, Beere DM, Bornemisza AJ, Thomas P.** Medical leeches as sources of wound infection. *Br Med J Clin Res Ed.* **1987** Apr 11;294(6577):937–937.
6. **Horneman AJ.** *Aeromonas.* 9th ed. Washington DC: P. R. Murray, E. J. Baron, M. L. Landry, J. H. Jorgensen & M. A. Pfaller; **2007.** pp 715-722. (*Manuel of Clinical Microbiology*).
7. **Agger WA, McCormick JD, Gurwith MJ.** Clinical and microbiological features of *Aeromonas hydrophila*-associated diarrhea. *J Clin Microbiol.* **1985** Jun;21(6):909–13.
8. **de Chalain T.** Exploring the Use of the Medicinal Leech: A Clinical Risk-Benefit Analysis. *J Reconstr Microsurg.* **1996** Apr;12(03):165–72.
9. **Whitaker I, Oboumarzouk O, Rozen W, Naderi N, Balasubramanian S, Azzopardi E, et al.** The efficacy of medicinal leeches in plastic and reconstructive surgery: A systematic review of 277 reported clinical cases. *Microsurgery.* **2012** Mar 1;32:240–50.
10. **Danjou C.** Utilisation des parasites en thérapeutique. [Université de Pharmacie de Lille 2]: Lille 2; **2017.**
11. **Sawyer RT.** *Leech Biology and Behaviour*, vol. 2. Clarendon Press; **1986.** 419–793 p.
12. **Trontelj P, Utevsky SY.** Phylogeny and phylogeography of medicinal leeches (genus *Hirudo*): Fast dispersal and shallow genetic structure. *Mol Phylogenet Evol.* **2012** May 1;63(2):475–85.
13. **Utevsky S, Kovalenko N, Doroshenko K, Petrauskiene L, Klymenko V.** Chromosome numbers for three species of medicinal leeches (*Hirudo* spp.). *Syst Parasitol.* **2009** Oct 1;74:95–102.

14. **Noel P.** La sangsue médicinale *Hirudo medicinalis* Linnaeus 1758. Inventaire national du patrimoine naturel. Muséum national d'Histoire naturelle. **2015**
15. **Elisac H.** La sangsue médicinale, elle suce le sang mais ça fait du bien. *Pause Santé*. **2011** ;34–5.
16. **Kaehler Schweizer Dominique.** Thérapie par les sangsues : secrets et bienfaits de l'hirudothérapie la renaissance d'une thérapie ancestrale dans la médecine moderne. Genève-Bernex: Jouvence éditions; **2008**.
17. **Seiverling EV, Khalsa A, Ahrns HT.** Pruritis and palpable purpura from leeches in the Australian Rainforest. *IDCases*. **2014** Jan 1;1(2):9–11.
18. **Duval C.** *Hirudo medicinalis* : de sa physiologie à l'hirudothérapie. Rouen; **2013**.
19. **Wilkinson JM, Coggeshall RE.** The connective tissue coverings of leech peripheral nerves: Anatomical evidence for the absence of cerebrospinal fluid in the leech. *J Comp Neurol*. **1976** Dec 1;170(3):381–9.
20. **Zipser B.** Preparation of Monoclonal Antibodies and their Advantages in Identifying Specific Neurons. In: Fedoroff S, editor. *Advances in Cellular Neurobiology*. Elsevier; **1984**. p. 271–305.
21. **Guibourt NJ-BG.** Histoire naturelle des drogues simples: Ou, cours d'histoire naturelle professé à l'École de Pharmacie de Paris. Cambridge University Press; **2014**.
22. **Pavans de Ceccatty M.** *Traité de Zoologie (Anatomie, Systématique, Biologie)*, publié sous la direction de M. Pierre-P. Grasse. — Tome V (fascicules I et II) : Annélides, Myzostomides, Sipunculien, Echiuriens, Priapulien, Endoproctes, Phoronidiens : Bryozoaires, Brachiopodes, Chétognathes, Pogonophores, Mollusques, Paris. *Publ Société Linn Lyon*. **1960**;278–80.
23. **Halton CM.** Those amazing leeches. Minneapolis, Minn; **1989**. 111–118 p.
24. **Bernard GD.** Invertebrate Vision. *Science*. **1984** Aug 24;225(4664):827.
25. **Maltz MA, Bomar L, Lapierre P, Morrison HG, McClure EA, Sogin ML et al.** Metagenomic analysis of the medicinal leech gut microbiota. *Front Microbiol*. **2014** Apr 17;5:151–151.
26. **Harley CM, Rossi M, Cienfuegos J, Wagenaar D.** Discontinuous locomotion and prey sensing in the leech. *J Exp Biol*. **2013**;216(10):1890–7.
27. **Van Haaren T, Hop H, Soes M, Tempelman D.** The freshwater leeches (Hirudinea) of The Netherlands. *Lauterbornia*. **2004** Dec 30;52:113–31.
28. **Utevsky S, Zgamaister M, Trontelj P.** IUCN Red List of Threatened Species: *Hirudo medicinalis*. IUCN Red List of Threatened Species. **2013**.

29. **Desiles E.** Des sangsues et des hommes. L'Astrado : revisto bilengo de prouvenço : revue bilingue de provence, Toulon : Astrado prouvençalo. **2016**;p.54-76.
30. **Singh AP.** Medicinal leech therapy (Hirudotherapy) : A brief overview. Complement Ther Clin Pract. **2010** Nov 1;16:213–5.
31. **Hildebrandt J-P, Lemke S.** Small bite, large impact—saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. Naturwissenschaften. **2011** Dec 1;98(12):995–1008.
32. **Abdualkader AM, Ghawi AM, Alaama M, Awang M, Merzouk A.** Leech therapeutic applications. Indian J Pharm Sci. **2013** Mar;75(2):127–37.
33. **Conley K, Jamal Z, Juergens AL.** Leech Bite. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; **2020**.
34. **Whitaker IS, Cheung CK, Chahal C a. A, Karoo ROS, Gulati A, Foo ITH.** By what mechanism do leeches help to salvage ischaemic tissues? A review. Br J Oral Maxillofac Surg. **2005** Apr;43(2):155–60.
35. **Campbell M.** Life Cycle of Leeches. Sciencing. **2018**. Available from: <https://sciencing.com/life-cycle-leeches-6739035.html>
36. **Kutschera U.** Sex versus Gender in Sea Urchins and Leeches Two Centuries after Lamarck 1816. J Mar Sci Res Dev. **2016** Jan 1;6.
37. **Olsen Lars Henrik.** Les petits animaux des lacs et rivières : les invertébrés, les poissons, les amphibiens / L. H. Olsen, J. Sunesen, B. V. Pedersen ; [traduction de Marie Anne Tattevin]. Lausanne Paris: Delachaux et Niestlé; **2000**.
38. **Silverstein K.** *Hirudo Medicinalis*. Animal Diversity Web. **2014**. Available from: https://animaldiversity.org/accounts/Hirudo_medicinalis/
39. **Djiva SF, Prognon P.** Présentation et place de la sangsue médicinale (*Hirudo medicinalis*) au sein de la médecine moderne. **2009**. Available from: <https://books.google.fr/books?id=sJeXXwAACAAJ>
40. **Ricarimpex - Historique.** Available from: <https://sangsue-medicinale.com/les-sangsues/historique/>
41. **Poinsotte V, Maugendre P, Chast F, Brassier N.** De la sangsue à l'hirudine : une thérapeutique qui n'en démord pas. Utilisation à Paris du XVIIIe au XXe siècle. Rev Hist Pharm 84e Année N 312 **1996**
42. **Moore J.** Bloodletting : An Ancient Practice. *Hirudo medicinalis* - The slimy blood sucker that can save limbs and lives !. Available from: http://bioweb.uwlax.edu/bio203/2011/harris_mic2/medicinaluse.html

43. **Malassis S.** Les sangsues. **2012.** Available from: <https://docplayer.fr/21015274-Les-sangsues-malassis-sylvain.html>
44. **Renner C.** Des sangsues, des tailles et des prix. *Rev Hist Pharm* 94e Année N 349 **2006.** Available from: https://www.persee.fr/doc/pharm_0035-2349_2006_num_94_349_5951
45. **Mckenzie A, Goerig M.** Haycraft's discovery of hirudin and other early work on anticoagulants. *J Anesth Hist.* **2018** Jan 1;4:90.
46. **Liste rouge des espèces animales menacées en France.** Available from: http://www-lagis.univ-lille1.fr/~vieren/ecologie/by_thema/biodiversite/frl96.htm
47. **Convention de Berne, 1979.** Available from: <http://droitnature.free.fr/Shtml/ConvBerne.shtml>
48. **Le Comité pour les animaux et le Comité pour les plantes | CITES.** Available from: https://cites.org/fra/disc/ac_pc.php
49. **Leeches Approved as Medical Devices.** *Pharmacy Times.* **2005.** Available from: <https://www.pharmacytimes.com/publications/issue/2005/2005-11/2005-11-5004>
50. **Utevsky S, Zgarnajster M, Atemasov A, Zinenko O, Utevska O, Utevsky A, et al.** Distribution and status of medicinal leeches (genus *Hirudo*) in the Western Palaearctic: anthropogenic, ecological, or historical effects? *Aquat Conserv Mar Freshw Ecosyst.* **2010** Mar 1;20:198–210.
51. **La sangsue, précieux auxiliaire de la chirurgie moderne.** *La Presse.* **2009.** Available from: <https://www.lapresse.ca/vivre/sante/nouvelles/200909/30/01-906850-la-sangsue-precieux-auxiliaire-de-la-chirurgie-moderne.php>
52. **Sig AK, Guney M, Uskudar Guclu A, Ozmen E.** Medicinal leech therapy-an overall perspective. *Integr Med Res.* 2017/08/10 ed. **2017** Dec;6(4):337–43.
53. **Zaidi DS, Jameel S, Zaman F, Jilani S, Sultana A, Khan S.** A Systematic Overview of the Medicinal Importance of Sanguivorous Leeches. *Altern Med Rev J Clin Ther.* **2011** Mar 1;16:59–65.
54. **Nutt EM, Jain D, Lenny AB, Schaffer L, Siegl PK, Dunwiddie CT.** Purification and characterization of recombinant antistasin: A leech-derived inhibitor of coagulation factor Xa. *Arch Biochem Biophys.* **1991** Feb 15;285(1):37–44.
55. **Moser M, Auerswald E, Mentele R, Eckerskorn C, Fritz H, Fink E.** Bdelastasin, a serine protease inhibitor of the antistasin family from the medical leech (*Hirudo medicinalis*). *Eur J Biochem.* **1998** Apr 1;253(1):212–20.
56. **Kumar Das B.** An Overview on Hirudotherapy/leech therapy. *Indian Res J Pharm Sci.* **2014** Jul 1;1:33–45.

57. **Abdullah S, Dar L, Wani A, Tewari A.** Hirudotherapy Leech therapy: Applications and Indications in Surgery. *Arch Clin Exp Surg ACES.* **2012** Jan 3;1:172–80.
58. **Clarke CEW.** Medical Therapeutics Derived from Leeches (Phy. Annelida; Cl. Hirudinea). *MacEwan Univ Stud EJournal.* **2016** Nov 25;3(1). Available from: <https://journals.macewan.ca/muse/article/view/297>
59. **Radzio R, Kück U.** Efficient synthesis of the blood-coagulation inhibitor hirudin in the filamentous fungus *Acremonium chrysogenum*. *Appl Microbiol Biotechnol.* **1997** Jul 1;48(1):58–65.
60. **Weinfeld AB, Yuksel E, Boutros S, Gura DH, Akyurek M, Friedman JD.** Clinical and scientific considerations in leech therapy for the management of acute venous congestion: an updated review. *Ann Plast Surg.* **2000** Aug;45(2):207–12.
61. **Eldor A, Orevi M, Rigbi M.** The role of the leech in medical therapeutics. *Blood Rev.* **1996** Dec 1;10(4):201–9.
62. **Gileva O.** Modern hirudotherapy : Experimental background and clinical efficacy. **2010** . Los Angeles. Available from: http://www.bterfoundation.org/icb/abstract-book_icb-2010.pdf
63. **Chepeha DB, Nussenbaum B, Bradford CR, Teknos TN.** Leech Therapy for Patients With Surgically Unsalvageable Venous Obstruction After Revascularized Free Tissue Transfer. *Arch Otolaryngol Neck Surg.* **2002** Aug 1;128(8):960–5.
64. **Rajic A, Deleyiannis F.** Determining the Duration of Leech Therapy in the Treatment of Acute Venous Congestion in Prefabricated Free Flaps. *Plast Reconstr Surg.* **2015** Dec 1;137:1.
65. **Gideroglu K, Yildirim S, Akan M, Akoz T.** Immediate use of medicinal leeches to salvage venous congested reverse pedicled neurocutaneous flaps. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* **2003** Jan 1;37(5):277–82.
66. **Pannucci CJ, Nelson JA, Chung CU, Fischer JP, Kanchwala SK, Kovach SJ, et al.** Medicinal leeches for surgically uncorrectable venous congestion after free flap breast reconstruction. *Microsurgery.* **2014** Oct 1;34(7):522–6.
67. **Herlin C, Bertheuil N, Bekara F, Boissiere F, Sinna R, Chaput B.** Leech therapy in flap salvage: Systematic review and practical recommendations. *Ann Chir Plast Esthét.* **2016** Jul 1;62.
68. **Streit L, Dvořák Z, Novák O, Stiborová S, Veselý J.** The Use of Medicinal Leeches in Fingertip Replantation without Venous Anastomosis - Case Report of a 4-year-old Patient. *Acta Chir Plast.* **2014** Dec 8;56:23–6.

69. **Cho BH, Ahn HB.** Microsurgical Replantation of a Partial Ear, With Leech Therapy: *Ann Plast Surg.* **1999** Oct;43(4):427–9.
70. **Morineau O.** Utilisation des sangsues dans la chirurgie de la face et du cou. Angers; **2002.** Available from: <http://nantesorl.free.fr/Theses/memoireOMO.pdf>
71. **Pourrahimi M, Abdi M, Ghods R.** Complications of leech therapy. *Avicenna J Phytomedicine.* **2019** Nov 24;10.
72. **Nguyen MQ, Crosby MA, Skoracki RJ, Hanasono MM.** Outcomes of flap salvage with medicinal leech therapy. *Microsurgery.* **2012** Jul 1;32(5):351–7.
73. **Telo W, Pancioli E.** Clinical observations on two rare cases of local hypersensitivity to application of leeches. *Il Policlin Sezione Prat.* **1954** Dec 13;61(50):1674–9.
74. **Mumcuoglu KY.** Recommendations for the Use of Leeches in Reconstructive Plastic Surgery. Sherman R, editor. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2014** Feb 6;2014:205929.
75. **Floug Q, Sinna R, Fillatre A, Plésiat P, Hamdad F.** A case of leech-associated infection involving an extended-spectrum β -lactamase-producing and extensively drug-resistant *Aeromonas hydrophila*. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* **2019** Mar;25(3):394–5.
76. **Whitaker I, Maltz M, Siddall M, Graf J.** Characterization of the Digestive Tract Microbiota of *Hirudo orientalis* (Medicinal Leech) and Antibiotic Resistance Profile. *Plast Reconstr Surg.* **2014** Mar 1;133:408e–18e.
77. **Eroglu C, Hokelek M, Guneren E, Esen S, Pekbay A, Uysal O.** Bacterial Flora of *Hirudo medicinalis* and Their Antibiotic Sensitivities in the Middle Black Sea Region, Turkey. *Ann Plast Surg.* **2001** Aug 1;47:70–3.
78. **Etemadi J.** Thrombotic microangiopathy as a complication of medicinal leech therapy. *South Med J.* **2008**
79. **Levine S, Frangos S, Hanna B, Colen K, Levine J.** *Aeromonas* Septicemia After Medicinal Leech Use Following Replantation of Severed Digits. *Am J Crit Care Off Publ Am Assoc Crit-Care Nurses.* **2009** Nov 1;19:469–71.
80. **Parras F, Díaz MD, Reina J, Moreno S, Guerrero C, Bouza E.** Meningitis Due to *Aeromonas* Species: Case Report and Review. *Clin Infect Dis.* **1993** Dec 1;17(6):1058–60.
81. **Centre régional de pharmacovigilance de France comté.** Formulaire de déclaration d'un effet indésirable.

- 82. Whitaker IS, Josty IC, Hawkins S, Azzopardi E, Naderi N, Graf J, et al.** Medicinal leeches and the microsurgeon: A four-year study, clinical series and risk benefit review. *Microsurgery*. **2011** May 1;31(4):281–7.
- 83. Chenu C.** L'hirudothérapie en médecine et chirurgie modernes. [Lyon]: Université Claude Bernard; **2012**. Available from: <http://www.sudoc.fr/168469952>
- 84. Bennett-Marsden M, Ng A.** Hirudotherapy: A guide to using leeches to drain blood from tissue. *Clin Pharm*. **2014** Apr 1;6:69–70.
- 85. Lazarou EE et al.** The Psychological Effects of Leech Therapy After Penile Auto-Amputation. *J Psychiatr Pract*. **2006**;12(2). Available from: https://journals.lww.com/practicalpsychiatry/Fulltext/2006/03000/The_Psychological_Effects_of_Leech_Therapy_After.9.aspx
- 86. Behne M et al.** Recovery and Pharmacokinetic Parameters of Desflurane, Sevoflurane, and Isoflurane in Patients Undergoing Urologic Procedures. *Surv Anesthesiol*. **2000** Oct 1;44:274.
- 87. Graf J.** Symbiosis of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* and *Hirudo medicinalis*, the medicinal leech: a novel model for digestive tract associations. *Infect Immun*. **1999** Jan;67(1):1–7.
- 88. Prat S.** *Hirudo medicinalis* : intérêts pharmaceutiques de l'Antiquité à nos jours. Limoges; **2013**. Available from: <https://aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/cb0e2e8f-0004-4597-8e23-0787efb93e21/blobholder:0/P20133310.pdf>
- 89. Parker JL, Shaw JG.** *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease. *J Infect*. **2011** Feb 1;62(2):109–18.
- 90. Tomás JM.** The main *Aeromonas* pathogenic factors. *ISRN Microbiol*. **2012** Sep 4;2012:256261–256261.
- 91. Rusin PA, Rose JB, Haas CN, Gerba CP.** Risk Assessment of Opportunistic Bacterial Pathogens in Drinking Water. In: Ware GW, editor. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews*. New York, NY: Springer New York; **1997**. p. 57–83. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1964-4_2
- 92. Glünder G, Siegmann O.** Occurrence of *aeromonas hydrophila* in wild birds. *Avian Pathol*. **1989** Oct 1;18(4):685–95.
- 93. Janda JM, Abbott SL.** The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clin Microbiol Rev*. **2010**;23(1):35–73.

94. **Sartor C, Limouzin-Perotti F, Legré R, Casanova D, Bongrand M-C, Sambuc R, et al.** Nosocomial Infections with *Aeromonas hydrophila* from Leeches. *Clin Infect Dis.* **2002** Jul 1;35(1):e1–5.
95. **Janda JM.** Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. *Clin Microbiol Rev.* **1991** Oct;4(4):397–410.
96. **Fernández-Bravo A, Figueras MJ.** An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms.* **2020** Jan 17;8(1):129.
97. **Verriere B, Sabatier B, Carbonnelle E, Mainardi J L, Prognon P, Whitaker I, et al.** Medicinal leech therapy and *Aeromonas* spp. infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **2016** Jun 1;35(6):1001–6.
98. **Lamy B, Kodjo A, Laurent F.** Prospective Nationwide Study of *Aeromonas* Infections in France. *J Clin Microbiol.* **2009** Apr;47(4):1234–7.
99. **B. Lamy.** *Aeromonas* et aéromonoses en médecine humaine. *Biol Médicale.* **2012**; Available from: [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211-9698\(12\)57775-7](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211-9698(12)57775-7)
100. **Janda JM, Guthertz LS, Kokka RP, Shimada T.** *Aeromonas* Species in Septicemia: Laboratory Characteristics and Clinical Observations. *Clin Infect Dis.* **1994** Jul 1;19(1):77–83.
101. **Benagli C, Demarta A, Caminada A, Ziegler D, Petrini O, Tonolla M.** A rapid MALDI-TOF MS identification database at genospecies level for clinical and environmental *Aeromonas* strains. *PloS One.* 2012/10/31 ed. **2012**;7(10):e48441–e48441.
102. **Ko W-C, Chiang S-R, Lee H-C, Tang H-J, Wang Y-Y, Chuang Y-C.** In vitro and in vivo activities of fluoroquinolones against *Aeromonas hydrophila*. *Antimicrob Agents Chemother.* **2003** Jul;47(7):2217–22.
103. **Overman TL.** Antimicrobial susceptibility of *Aeromonas hydrophila*. *Antimicrob Agents Chemother.* **1980** Apr;17(4):612–4.
104. **Lamy B, Laurent F, Kodjo A, Roger F, Jumas-Bilak E, Marchandin H.** Which antibiotics and breakpoints should be used for *Aeromonas* susceptibility testing? Considerations from a comparison of agar dilution and disk diffusion methods using Enterobacteriaceae breakpoints. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* **2012** Feb 27;31:2369–77.
105. **Fosse T, Giraud-Morin C, Madinier I.** Phénotypes de résistance aux β -lactamines dans le genre *Aeromonas*. Mini-Symp - Colloq Sur Lipides Peau - Lyon - Mars **2002. 2003** Jul 1;51(5):290–6.

- 106. Litwinowicz A, Blaszkowska J.** Preventing Infective Complications following Leech Therapy: Elimination of Symbiotic *Aeromonas* spp. from the Intestine of *Hirudo verbana* Using Antibiotic Feeding. *Surg Infect.* **2014** Dec 1;15(6):757–62.
- 107. Beka L, Fullmer MS, Colston SM, Nelson MC, Talagrand-Reboul E, Walker P, et al.** Low-Level Antimicrobials in the Medicinal Leech Select for Resistant Pathogens That Spread to Patients. Ruby EG, editor. *mBio.* **2018** Sep 5;9(4):e01328-18.
- 108. Massa S, Armuzzi R, Tosques M, Canganella F, Trovatielli LD.** Susceptibility to chlorine of *Aeromonas hydrophila* strains. *J Appl Microbiol.* **1999** Jan 1;86(1):169–73.
- 109. Zhang J, Li W, Chen J, Wang F, Qi W, Li Y.** Impact of disinfectant on bacterial antibiotic resistance transfer between biofilm and tap water in a simulated distribution network. *Environ Pollut.* **2019** Mar 1;246:131–40.
- 110. Kampf G.** Biocidal Agents Used for Disinfection Can Enhance Antibiotic Resistance in Gram-Negative Species. *Antibiot Basel Switz.* **2018** Dec 14;7(4):110.
- 111. Beclin E.** Utilisation des antiseptiques en EMS. 8ème journée de formation et d’information pour la prévention du risque infectieux en EMS; **2016**; Hopital de Béthune.
- 112. Maillard J-Y, Russell, Hugo & Ayliffe’s:** Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization, 5th Edition. **2012.** p. 108–20.
- 113. Aydin A, Nazik H, Kuvat SV, Gurler N, Ongen B, Tuncer S, et al.** External decontamination of wild leeches with hypochloric acid. *BMC Infect Dis.* **2004** Aug 25;4(1):28.
- 114. Haycox CL, Odland PB, Coltrera MD, Raugi GJ.** Indications and complications of medicinal leech therapy. *J Am Acad Dermatol.* **1995** Dec 1;33(6):1053–5.
- 115. Erickson M, Ortega Y.** Inactivation of Protozoan Parasites in Food, Water, and Environmental Systems. *J Food Prot.* **2006** Dec 1;69:2786–808.
- 116. Pagán R, Mañas P, Raso J, Condon S.** Bacterial Resistance to Ultrasonic Waves under Pressure at Nonlethal (Manosonication) and Lethal (Manothermosonication) Temperatures. *Appl Environ Microbiol.* **1999** Feb 1;65:297–300.
- 117. Marchandín H, Godreuil S, Darbas H, Jean-Pierre H, Jumas-Bilak E, Chanal C, et al.** Extended-spectrum beta-lactamase TEM-24 in an *Aeromonas* clinical strain: acquisition from the prevalent *Enterobacter aerogenes* clone in France. *Antimicrob Agents Chemother.* **2003** Dec;47(12):3994–5.
- 118. Whitaker IS, Kamyra C, Azzopardi EA, Graf J, Kon M, Lineaweaver WC.** Preventing infective complications following leech therapy: Is practice keeping pace with current research? *Microsurgery.* **2009** Nov 1;29(8):619–25.

- 119. Barraud O, Robert A, Laval L, Ruimy R, Morquin D, Boyer L, et al.** It takes two to tango: two *Aeromonas* isolates combine virulence and multidrug resistance in flap infection following leech therapy. *Clin Microbiol Infect.* **2020** Jan 9;26.
- 120. Patel KM, Svestka M, Sinkin J, Ruff P IV.** Ciprofloxacin-resistant *Aeromonas hydrophila* infection following leech therapy: A case report and review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* **2013** Jan 1;66(1):e20–2.
- 121. Grau D, Masson R, Villiet M, Lamy B.** Leech management before application on patient: A nationwide survey of practices in French university hospitals. *Antimicrob Resist Infect Control.* **2018** Dec 1;7.
- 122. Burdet G.** Application de sangsues à usage médical ou hirudothérapie. **2019** Jun; Hopitaux de Genève (HUG). Available from: <https://www.hug.ch/procedures-de-soins/application-sangsues-usage-medical-ou>
- 123. INSERM.** Comprendre la recherche clinique. Available from: <https://www.inserm.fr/recherche-inserm/recherche-clinique/comprendre-recherche-clinique>
- 124. Valauri F.** The use of medicinal leeches in microsurgery. *Blood Coagul Fibrinolysis* **1991** ;2:185-7
- 125. Sartor C. et al.** Nosocomial infections with *Aeromonas Hydrophila* from leeches. *Clin Infect Dis Off Publ Dis Soc Am.* **2002** ;35(1) :E1-5

Annexes

Annexe 1 : Document fourni par le fournisseur Ricarimpex® lors de la réception de sangsues

Sangsues médicinales : *Hirudo medicinalis*

Mode d'action : morsure et succion assurant la ponction de sang et la libération de substances dans le système sanguin et tissulaire.

Présentation du produit : Animal vivant de 1 à 2 g pour application intradermique de 30 à 60 minutes.

Veillez lire attentivement l'intégralité de cette notice avant d'utiliser ce médicament. Il est important de conserver cette notice car vous pourriez avoir besoin de la relire.

Si vous avez d'autres questions ou besoin de conseils, vous pouvez demander plus d'informations à votre médecin ou votre pharmacien.

En cas d'effets secondaires inhabituels dans leur forme ou leur intensité, vous devez les signaler immédiatement à votre médecin. De même, si vous remarquez des effets indésirables non mentionnés dans cette notice, veuillez en informer votre médecin ou votre pharmacien.

Pour garantir la sécurité du produit, il est important de respecter les conseils de conservation et d'utilisation indiqués.

Indications thérapeutiques

Les sangsues sont indiquées en microchirurgie et en chirurgie plastique dès qu'il y a constat d'une stase ou congestion veineuse : réimplantation de doigts, d'oreille, de membres, autogreffe de cuir cheveu, reconstructions mammaires, transplantations tissulaires... Elles sont également préconisées dans les états congestifs traumatiques : hématomes, suites opératoires.

Mode d'action

Par leur effet de succion, les sangsues stimulent l'irrigation des cellules menacées de nécrose en maintenant l'oxygénation du tissu. Elles favorisent aussi la restauration de l'anastomose des capillaires et accélèrent le processus de décongestion des hématomes et le désengorgement des greffons. En assurant le drainage et en remplaçant le retour veineux partiellement ou totalement, elles permettent qu'une néo vascularisation veineuse se mette en place.

Durée du traitement et quantité

La fréquence et la durée du traitement par les sangsues sont fixées par le praticien. Toutefois à titre indicatif, en pratique chirurgicale, le traitement dure généralement entre 3 et 7 jours, durée permettant généralement qu'une restauration du système veineux soit constatée.

- Maladies infectieuses à un stade aigu ou avec fièvre
- Traitement concomitant avec des immunosuppresseurs ou personnes immunodéficientes
- Diathèse allergique, allergie connue à une des substances de la salive de sangsue
- Déficit de cicatrisation, chéloïdes

Par précaution, la pose de sangsues n'est pas recommandée chez les femmes enceintes et allaitantes.

Effets indésirables

Les plus fréquents

- Sensations désagréables ou douloureuses localisées au point de pose
- Démangeaisons localisées dans les heures ou les jours qui suivent la pose
- Gonflement des ganglions lymphatiques
- Coloration rouge-violacée de la morsure

Fréquents

- Inflammation locale avec un gonflement au point de morsure souvent accompagnée de démangeaisons
- Symptômes allergiques locaux
- Gonflement en périphérie du point de morsure pouvant durer plusieurs jours
- Saignement prolongé au niveau de la plaie

Rares

- Infection primaire à *Aeromonas hydrophila*, symbiote de la sangsue ou infection secondaire due à la pénétration de pathogènes au niveau de la plaie

Conservation des sangsues

- Déballez les sangsues dès leur réception. Conservez la documentation fournie : notice, bon de livraison et numéro de lot fourni par Ricarimpex permettant d'assurer la traçabilité du produit vendu.
- Utilisez un bocal en verre ou en plastique alimentaire stérile ou à défaut désinfecté à chaque nouvelle réception de lot. Les contenants doivent être rincés pour éliminer toutes traces de résidus de produits de nettoyage. Il est nécessaire de fermer chaque contenant avec un couvercle étanche ou de le couvrir à

l'aide d'un tissu de coton, fermement maintenu par des élastiques. Ne jamais faire de perforations dans le couvercle, les sangsues pourraient s'échapper.

Mesures préventives à l'usage des sangsues

Les sangsues utilisées doivent être en « bon état » : pas de signes de blessures ou de constrictions du corps, pas de plaies, de pustules, de bouche déformée ou de présence de traces de sang. Les produits présentant ces défauts doivent être éliminés.

Il est nécessaire d'assurer un rinçage très régulier des sangsues : changement complet de l'eau de stockage tous les 2 jours.

Les sangsues doivent impérativement être rincées dans de l'eau minérale à 2 reprises avant leur utilisation.

La nécessité de mise en place d'une antibioprophylaxie adaptée, est décidée par le praticien. Elle est fortement recommandée en particulier sur les patients présentant une immunodéficience (Liste d'antibiotiques ci-jointe).

Protocole d'application

La tête de la sangsue est reconnaissable par ses mouvements permanents de recherche, partie la plus fine, alors que la partie postérieure, présentant la grosse ventouse, n'est utilisée que pour la fixation.

1- Nettoyer soigneusement la peau du patient à l'aide de savon neutre et d'eau puis rincer les zones nettoyées.

2- Différentes méthodes peuvent être préconisées pour l'application : Le port de gants est recommandé pour la manipulation des sangsues. Afin de ne pas blesser les animaux, l'usage de pinces à bouts ronds est également préconisé.

Méthode 1 : Positionner la sangsue dans un tube (par exemple tube d'une seringue en plastique) et renverser la face ouverte du tube contre la peau. Une fois la sangsue fixée, retirer le tube.

Méthode 2 : Placer une compresse perforée afin de laisser la zone à traiter accessible puis positionner et maintenir la tête de la sangsue, dans la zone, jusqu'à ce que la sangsue soit fixée.

3- La sangsue se fixe généralement rapidement. Cependant, si elle refuse de mordre, il est possible de piquer légèrement la zone avec une aiguille pour faire perler un peu de sang afin d'inciter la sangsue à mordre. Sinon, utiliser une autre sangsue.

Une réticence persistante d'une sangsue à mordre peut signifier un apport pauvre en sang artériel au niveau des tissus à traiter ou des conditions de stress pour l'animal.

4- Une fois fixée, la sangsue reste généralement en place jusqu'à la fin de son repas. Pour rassurer le patient contre un éventuel déplacement durant la pose, il est possible de faire un pansement très lâche au-dessus de la sangsue lorsque celle-ci est fixée pour éviter tout risque de décoller et masquer l'animal de la vue du patient. Il est important de ne pas comprimer la sangsue. Une surveillance régulière de l'équipe médicale durant la pose est conseillée, en particulier lors d'application à proximité d'orifices.

La pose dure entre 30 à 45 minutes : il est indispensable d'attendre que la sangsue se détache naturellement. En effet, les retraits forcés peuvent conduire à la régurgitation de la sangsue au site de la morsure et augmenter les risques de contamination par les bactéries présentes dans le tractus digestif.

5- Les sangsues sont à usage unique. Une fois utilisées, les sangsues doivent être détruites : placer les dans un bain d'eau de javal concentrée afin de les tuer rapidement. La filière d'élimination est celle des Déchets d'Activités de Soins à Risque Infectieux (DASRI) ou des déchets ménagers.

6- Le saignement engendré par la pose de sangsue peut durer de 6 à 24h, le volume sanguin perdu est estimé à 30 à 50 ml par sangsue. Durant cette phase, il est nécessaire de mettre en place un bandage adapté au flux sanguin (le bandage compressif est déconseillé).

7- Il est important de surveiller les sites de morsure jusqu'à la cicatrisation complète. Le praticien doit en effet s'assurer quotidiennement de l'absence d'infection au niveau des plaies.

8- Afin d'éviter une infection des plaies, souvent due aux démaigeaisons et aux grattages au site de la pose par le patient, un pansement renouvelé quotidiennement peut être mis en place. Si nécessaire, la prescription de traitements pour soulager les démaigeaisons ou l'inflammation locale peut-être mise en place par le praticien.

Contre-indications

- Troubles de la coagulation sanguine (hémophilie)
- Traitement concomitant avec des substances anticoagulantes
- Anémie
- Gastrites érosives, saignements gastro-intestinaux ou ulcères de l'estomac présentant des saignements
- Tendance aux saignements

A noter : Les sangsues sont sensibles aux facteurs environnants : odeurs fortes, conditions orageuses, lumières artificielles intenses... qui peuvent modifier leur comportement. L'agitation des sangsues est souvent signe d'inconfort.

Pour toute question ou problème de conservation, contacter les services de Ricarimpex (E-mail, téléphone du lundi au vendredi de 9h à 17h).

Annexe 2 : Procédure de l'entretien des sangsues du CHU Amiens-Picardie

2. Entretien des sangsues

- Un magasinier de la réception de la pharmacie réalise l'entretien dans le local ménage les lundis, mercredis et vendredis.

Si l'entretien des sangsues tombe un jour férié, l'entretien sera réalisé la veille du jour férié.

- Le magasinier remplit systématiquement le formulaire « entretien des sangsues » – [CHUFO0619](#)

Sur cette fiche, il faut tracer :

- la date d'entretien
- le numéro de lot des sangsues
- la réalisation du remplissage avec de l'eau minérale par une croix
- le nombre de bocal montés en laverie de la pharmacotechnie
- le nom de l'agent

Des exemplaires de ces fiches se trouvent dans le classeur « Entretien des sangsues et des bocal » situé dans le kit sangsues du frigo 2.

Opérations à effectuer :

- Utiliser un pot en verre propre,
- Mettre des gants vinyle non stériles,
- Remplir à moitié le pot avec de l'eau rangé dans le frigo 2 (impérativement de type Cristalline, Volvic ou Evian),
- Placer les sangsues dans une grande passoire,
- Rincer plusieurs fois les sangsues à l'eau du robinet,
- Placer les sangsues ensuite dans le pot en verre propre en utilisant 1 pot par numéro de lot,
- Fermer le pot hermétiquement avec des compresses non stériles bien serrées par des élastiques,
- Reporter l'étiquette de traçabilité mentionnant le numéro de lot sur le nouveau pot,
- Placer le pot en verre dans le Frigo 2,
- Laver le pot qui a été utilisé au détergent (de type produit à vaisselle),
- Le rincer abondamment à l'eau du robinet,
- Le sécher,
- Le poser à l'envers dans une caisse identifiée « pots sales »,
- Monter les pots à laver dans la laverie du laboratoire de contrôle au niveau rez de jardin (PHA072) et récupérer une caisse avec les bocal propres, identifiée « pots propres ».

Cas des sangsues trouvées mortes ou présence de sang dans le bocal :

- Eliminer les sangsues mortes dans du Dakin, puis les placer dans une DASRI
- Changer l'eau et le bocal
- Faire la sortie sur l'UF 2001



Letter to the Editor

A case of leech-associated infection involving an extended-spectrum β -lactamase-producing and extensively drug-resistant *Aeromonas hydrophila*

Q. Floug¹, R. Sinna², A. Fillatre³, P. Plésiat⁴, F. Hamdad^{1,*}¹ Department of Clinical Bacteriology, Amiens-Picardie University Hospital, France² Department of Plastic Surgery, Amiens-Picardie University Hospital, France³ Department of Pharmacy, Amiens-Picardie University Hospital, France⁴ Department of Clinical Bacteriology, University Hospital Besançon, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 October 2018

Received in revised form

26 October 2018

Accepted 3 November 2018

Available online 22 November 2018

Editor: L. Leibovici

To the Editor,

Venous congestion in transplanted or reimplanted tissues remains a common and challenging complication in reconstructive surgery. Medicinal leeches have consequently been increasingly used for salvage of compromised pedicle flaps and microvascular free-tissue transfers [1]. Local application of leeches is effective to reduce postoperative venous congestion of the flap and to restore normal blood flow. After being used for many years, *Hirudo medicinalis* received official FDA approval as a medical device in 2004.

However, leech therapy is associated with a number of risks, including significant blood loss requiring transfusion and infections. Leeches maintain a symbiotic relationship with *Aeromonas* species in order to digest blood in their gut. These bacteria appear to be the commonest cause of leech-associated infection, which, in some cases, can result in extensive soft tissue destruction and myonecrosis [2]. Transmission of the pathogens occurs either by direct inoculation from the leech's mouthparts or via contamination of the wound with the water in which the leeches were stored.

Infections can occur 1 to 30 days post application of leeches and are associated with a dramatic decrease in flap salvage rates (88–30%) [2]. For these reasons, prophylactic antibiotics are widely recommended throughout the course of leech therapy [3]. Third-generation cephalosporins, fluoroquinolones, and cotrimoxazole have been administered, but fluoroquinolones have somewhat more limited applications because of resistance issues in *Aeromonas* species [3].

Herein, we describe a case of delayed breast reconstruction because of leech-borne infection involving an extensively drug-resistant strain of *Aeromonas hydrophila* producing an extended-spectrum β -lactamase (ESBL).

On 22 December 2017, a 58-year-old woman was admitted to the Amiens University Hospital plastic and reconstructive surgery department for immediate unilateral breast reconstruction following mastectomy with a deep inferior epigastric artery perforator flap and silicone implant. A total of 25 leeches were applied onto the flap while dual prophylaxis with oral trimethoprim/sulfamethoxazole (80 mg/400 mg) and ofloxacin (200 mg) for 5 days was initiated on the first postoperative day because of partial congestion of the flap. Hirudotherapy was effective and the appearance of the flap rapidly improved. However, anaemia (haemoglobin, 8.5 g/dL) was detected on day 6, requiring transfusion of two units of packed red blood cells.

One month later, the patient presented partial flap necrosis associated with non-union of the mastectomy scar. Surgical revision with removal of the implant and flap, and reconstruction using an extended latissimus dorsi flap were then performed.

The laboratory work-up showed elevated C-reactive protein of 151 mg/L and a white blood cell count of 30.10^3 neutrophils/mm³. Surgical debridement was performed because of the presence of flap necrosis and pus. Three intraoperative bacteriological specimens (peri-prosthetic collection, wound, drainage fluid) were sent to the clinical bacteriology for examination.

Microscopic examination of these specimens showed a large number of white blood cells and numerous Gram-negative bacilli. Aerobic cultures on blood agar plates under aerobic conditions at

* Corresponding author: F. Hamdad, Department of Clinical Bacteriology, Amiens-Picardie University Hospital, 80054, Amiens Cedex 1, France.
E-mail address: Hamdad.Fa.fida@chu-amiens.fr (F. Hamdad).

35°C grew colonies of *A. hydrophila*, which were identified at the species level by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry with a significant score of 2.3.

The strain was found to be resistant to ticarcillin, ticarcillin/clavulanate, piperacillin, piperacillin/tazobactam, cefotaxime, cefepime, and aztreonam, but susceptible to ceftazidime (MIC = 1 mg/L), imipenem (0.38 mg/L), and meropenem (0.5 mg/L). A double-disc synergy test between third-generation cephalosporin and amoxicillin–clavulanic acid yielded a positive result, suggesting ESBL production. The bacterial strain was also resistant to ciprofloxacin (8.0 mg/L) and trimethoprim/sulfamethoxazole (32 mg/L) used for prophylaxis. IV therapy with ceftazidime 2 g and gentamicin 80 mg daily was subsequently initiated, resulting in clinical improvement.

Further investigations by PCR amplification and sequencing revealed the presence of two β -lactamase genes in the strain, one encoding narrow-spectrum penicillinase TEM-1 and the other coding for ESBL CTX-M-3.

Culture of a sample of the water in which the leeches were stored was then performed, revealing colonies of *A. hydrophila*, and one of them corresponding to *A. hydrophila* displayed the same resistance phenotype and produced acquired β -lactamases TEM-1 and CTX-M-3, thereby strongly supporting the notion that the patient had been infected by *A. hydrophila*-contaminated leeches. The mineral water used to fill the aquarium was also cultured and was sterile.

Aeromonas species are responsible for hirudotherapy-associated infections in 24–20% of treated patients, especially those with poorly vascularized flaps [4,5]. The benefit–risk balance should therefore be assessed before considering leech therapy, as infections are associated with prolonged hospital stay and failure of

reconstruction [2]. Pre-treatment external decontamination of these ectoparasites is recommended with 0.02% chlorhexidine solution for 10–15 s [5]. Antibiotic treatment of leeches has also been proposed to eradicate potential pathogens present in their gut. However, in the era of increasing antibiotic resistance, leeches can be vectors of bacteria harbouring genes of resistance to major antibiotics. Such infections may require revision of prophylactic protocols, such as microbiological assessment of the safety of leeches and detection of bacterial resistance to major antibiotics.

Transparency declaration

We declare no competing interests. No external funding was received.

References

- [1] Gideanglu K, Yildirim S, Akan M, Aköz T. Immediate use of medicinal leeches to salvage venous congested reverse pedicled neurocutaneous flaps. *Scand J Plast Reconstruct Surg Hand Surg* 2008;37:277–82.
- [2] Whitaker IS, Oubourzouk O, Rosen WM, Nadesi N, Babsubramanian SP, Azzopadi EA, et al. The efficacy of medicinal leeches in plastic and reconstructive surgery: a systematic review of 277 reported clinical cases. *Microsurgery* 2012;32:240–50.
- [3] Byassi AR, Torres J, Rowshan HH. Medicinal leech therapy on head and neck patients: a review of literature and proposed protocol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013;115:e167–72.
- [4] Herlin C, Bertheuil N, Bekara E, Boissière F, Sinna R, Chaput B. Leech therapy in flap salvage: systematic review and practical recommendations. *Ann Chir Plast Esthet* 2017;62:e1–13.
- [5] Unwinowicz A, Blaszkowska J. Preventing infective complications following leech therapy: elimination of symbiotic *Aeromonas* spp. from the intestine of *Hirudo verbana* using antibiotic feeding. *Surg Infect* 2014;15:757–62.

**Annexe 4 : Présentation orale du cas cliniques lors de la 19^{ème} journée de Pharmacovigilance
du CHU Amiens-Picardie**



**Case report d'une infection iatrogène à *Aeromonas hydrophila*
sécrétant une β -lactamase à spectre étendue par utilisation
médicinale de sangsues**

Fillatre A¹, Floug Q², Sinna R³, Plésiat P⁴, Hamdad F²

1 : Pharmacie à usage interne, CHU AMIENS Picardie
2 : Service de bactériologie, CHU AMIENS Picardie
3 : Service de chirurgie plastique, CHU AMIENS Picardie
4 : Service de bactériologie, Hôpital de Besançon

1

Annexe 5 : Formulaire de traçabilité des changements d'eau de conservation des sangsues du CHU Amiens-Picardie

	FORMULAIRE D'ENTRETIEN DES SANGSUES
	Pharmacie à Usage Intérieur
	FLUX DES PRODUITS DE SANTE
	RECEPTION

Date d'entretien	N° de lot sangsues	Remplissage des bouchons avec de l'eau minérale ou de source *	Nombre de bouchons montés pour lavage	Nom de l'agent

* : à cocher pour tracer l'utilisation d'eau minérale

Annexe 6 : Ordonnance de dispensation nominative des sangsues médicinales du CHU
Amiens-Picardie

	ORDONNANCE DE SANGSUES MEDICINALES	
		Date d'application : 23 novembre 2020

Etiquette patient

PRESCRIPTION	Date :		Heure :		
	UF demandeur :	<input type="checkbox"/> Orthopédie-traumatologie <input type="checkbox"/> 6404 <input type="checkbox"/> 6405 <input type="checkbox"/> 6406	<input type="checkbox"/> Chir Plastique <input type="checkbox"/> 6460	<input type="checkbox"/> CMF <input type="checkbox"/> 6459	<input type="checkbox"/> Autre (préciser)
	Nombre de sangsues prescrits pour 24h :		Nombre de sangsues demandées :		
	Indication :				
	Antibioprophylaxie (obligatoire) :				
	<input type="checkbox"/> Ciprofloxacine Posologie :	<input type="checkbox"/> Ofloxacine Posologie :	<input type="checkbox"/> Bactrim® Posologie :	<input type="checkbox"/> Autre (préciser) Posologie :	
	Nom du médecin :		Signature du médecin :		

DISPENSATION	Date et heure	Nombre de sangsues	Numéro de lot	Nom du dispensateur
Kit de décontamination délivré : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Fiche « Mode opératoire de décontamination » délivré : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Sortie informatique sur Gildas effectuée (code 897214) : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <i>NB : Ne pas oublier de rincer les sangsues au moment de la dispensation.</i>				

Annexe 7 : Réalisation de la décontamination externe des sangsues médicales du CHU Amiens-Picardie

Le kit est composé de (Figure 26) :

- Compresse stérile de 20cm x 20 cm
- D'une dosette de 10 ml de Chlorure de sodium (NaCl) 0,9%
- D'un flacon de 100 ml de Chlorhexidine 0,2%
- D'une bouteille de 100ml de Hypochlorite de Sodium (Dakin)
- D'une pince stérile
- D'un champ stérile
- De 3 cupules d'une contenance de 20 ml
- D'un petit DASRI (Déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés)
- D'une fiche résumée et imagée de la procédure de décontamination (Figure 27)

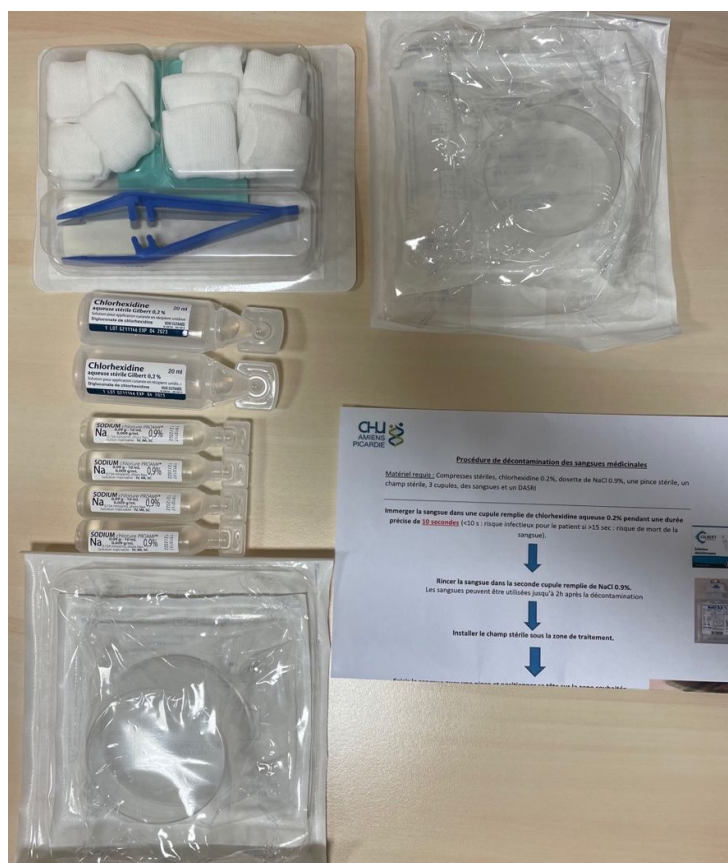


Figure 26 – Kit de décontamination externe pour sangsues prêt à l'emploi au CHU Amiens-Picardie

Procédure de décontamination des sangsues médicinales

Matériels requis : Compresse stérile, Chlorhexidine 0.2%, dosette de NaCl 0.9%, une pince stérile, un champ stérile, 3 cupules, des sangsues et un DASRI

Immerger la sangsue dans une cupule remplie de Chlorhexidine 0.2% pendant une durée précise de **10 secondes** (<10 sec : risque infectieux pour le patient si >15 sec : risque de décès de la sangsue).



Rincer la sangsue dans la seconde cupule remplie de NaCl 0.9%. Les sangsues peuvent être utilisées jusqu'à 2h après la décontamination



Installer le champ stérile sous la zone de traitement

Saisir la sangsue grâce à une pince et positionner sa tête sur la zone souhaitée (L'utilisation d'une solution de glucose à 5% améliore la fixation de la sangsue)

Remarques : Si les sangsues ne s'accrochent pas, elles sont à détruire.

Signaler à la pharmacie le nombre de sangsues mortes à l'arrivée dans le service ou détruites par le service car non efficaces



Laisser en place jusqu'à ce qu'elles se détachent naturellement. Nettoyage du site par une compresse imbibée de NaCl 0.9%.



Saisir la sangsue grâce à la pince, la plonger dans une solution d'eau de Javel/Dakin pour la destruction puis éliminer dans un DASRI



21/10/2020

Figure 27 – Procédure de décontamination des sangsues médicinales présent au sein du kit de décontamination

Les différentes étapes de la procédure de décontamination externe des sangsues médicinales :

1° Trois cupules sont remplies respectivement avec la solution de chlorhexidine 0,2%, la solution de NaCl 0,9% et de solution de Dakin.

2° Les sangsues dispensées par la Pharmacie sont saisies à l'aide d'une pince puis plongées dans la première cupule remplie de chlorhexidine 0,2%.

Le temps de contact est précisément de 10 secondes.

En dessous, l'efficacité de la décontamination n'est pas totale et au-dessus il y a un risque non négligeable de mort de la sangsue ou une altération de son pouvoir de succion.

3° La sangsue est plongée dans la seconde cupule de NaCl 0,9%. Cette décontamination externe est valable pendant 2h.

4° Un champ chirurgical stérile est découpé et placé de façon à ce que l'ouverture épouse la zone d'intérêt.

5° La sangsue est placée sur la zone d'intérêt. Le temps de pose peut varier d'une sangsue à une autre, mais elle est en moyenne de 20 min (73).

6° Une fois gorgée de sang, la sangsue se détache naturellement. Il faut nettoyer le site à l'aide d'une compresse imbibée de NaCl 0.9%.

7° Plonger la sangsue dans la solution de Dakin pour la détruire puis l'éliminer dans un DASRI.

Une vidéo est mise à la disposition des services cliniques : <https://youtu.be/rXrrZ0h5wjU> et dans la GED (Gestion électronique des documents de l'Hôpital Amiens-Picardie (Figure 28).



Figure 28 – Procédure de décontamination externe des sangsues, CHU Amiens-Picardie

Annexe 8 : Posters des résultats préliminaires de l'étude monocentrique AMLEE pour le congrès européen de Pharmacie Hospitalière EAHP 2020

Abstracts

presentations in the department was implemented: Amoxil (amoxicillin, measuring spoon) and Azimax (azithromycin, dose weight pipette).

Results A total of 77 mothers were included in the study. More than 75% (n=58) showed poor understanding of the intake method when we tried to have them repeat the dosing and administration schedule compared with the medical prescriptions they had. For 75.55% of the 45 mothers with a prescription containing Amoxil, the oral suspension, once reconstituted, was stored at room temperature when it required refrigeration (2–8°C). The response for the preservation of the two drugs after opening the vials was until expiration in 92.20% (n=71), while actually it is 7 days for Amoxil and 5 days for Azimax. Seventy-two interviewees thought that it was possible to exchange graduated pipettes. The Amoxil and Azimax reconstitutions were incorrect in 66.66% (30/45) and 81.25% (26/32) of cases, respectively, with the risk of overdose for Azimax (15/26) and underdosage for Amoxil (19/30). The preparation of the dose was incorrect in 60% of cases when using the dosing spoon with Amoxil and in 84.37% of cases when using the dosing pipette with Azimax.

Conclusion and relevance This study highlights the significant number of errors made by mothers during reconstitution and preparation of drugs, which requires the hospital pharmacist's involvement in educating families on the use of liquid oral forms.

REFERENCES AND/OR ACKNOWLEDGEMENTS

No conflict of interest.

5PSQ-081 THE BENEFITS-RISKS BALANCE OF LEECH THERAPY IN ONE HOSPITAL: A RETROSPECTIVE STUDY

¹A. Filâtre*, ²J. Floug, ³K. Hadji, ⁴R. Sima, ¹M. Bahout, ²F. Rousseau, ²N. Lemaire, ²F. Hamoud, ¹Amiens-Picardie University Hospital, Department of Pharmacy, Amiens, France; ²Amiens-Picardie University Hospital, Department of Clinical Bacteriology, Amiens, France; ³Amiens-Picardie University Hospital, Department of Plastic Surgery, Amiens, France

10.1136/ehjpharm-2020-ehpconf.398

Background and importance Venous congestion in transplanted or re-implanted tissues remains a common and challenging complication in reconstructive surgery. Medicinal leeches have been increasingly used for salvage of compromised pedicle flaps and microvascular free tissue transfers. However, leech therapy is associated with a number of risks, including significant blood loss requiring transfusion and infections, as leeches maintain a symbiotic relationship with *Aeromonas* species, which are residents of their gut, in order to digest blood. This bacterial species appears to be the commonest cause of leech related infection and can result in extensive soft tissue infection.¹

Aim and objectives The aim of this study was to assess the benefits-risks of leech therapy. Indeed, in the era of increasing antibiotic resistance, leeches can be vectors of bacteria, harbouring resistance to major antibiotics. Thus we conducted a retrospective study on all patients who received leech therapy in our hospital, from 2010 to 2018.

Material and methods The purchase, maintenance and distribution of leeches in our hospital is centralised in the pharmacy from which the data on the numbers of leeches delivered to the clinical units, names of the patients and the number of leeches used per patient were obtained. We also performed a retrospective survey to assess the conditions of maintenance

and delivery of the leeches in the pharmacy and in the clinical units that used the most leeches.

Results Over 8 years, 42 patients were treated with an average of 34 leeches (5–126) over 2.5 days (1–12). The mean age of the patients was 48 years (34–93). There was a slight male predominance. Leeches were most commonly used by the plastic and reconstructive surgery unit. The success rate of leech therapy was 71.4%. However, 57% of patients developed anaemia, and 16.7% revealed *A. hydrophila* infections. All isolates were ticarcillin resistant, three were also fluoroquinolone resistant with one involving an extended spectrum β -lactamase producing one.

Conclusion and relevance In the era of increasing antibiotic resistance and before use of medicinal leeches, prior screening of resistance by a local pharmaceutical team seems logical and necessary.

REFERENCES AND/OR ACKNOWLEDGEMENTS

1. Whitaker S, et al. The efficacy of medicinal leeches in plastic and reconstructive surgery: a systematic review of 277 reported clinical cases. *Microsurgery* 2012;32:240e50.

No conflict of interest.

5PSQ-082 EVALUATING AN ELECTRONIC CLINICAL DECISION SUPPORT SYSTEM FOR DRUG-DRUG INTERACTIONS IN A LARGE ACUTE TEACHING HOSPITAL

N. Sako*, B. Carr, G. Melanophy, M. Herman, C. Gavin. St James's Hospital-Dublin-16, Ph.D. Dublin, Ireland

10.1136/ehjpharm-2020-ehpconf.399

Background and importance Drug-drug interactions (DDIs) are common and can result in preventable harm. Clinical decision support systems (CDSS) embedded within electronic prescribing software (eg DDI alerting tools) may improve clinical decision making. Studies have shown that prescribers override up to 96% of CDSS alerts and have questioned the usefulness of alerting systems.

Aim and objectives The study's objective was to evaluate the characteristics and override rates of DDI alerts following a recent implementation of a hospital wide electronic prescribing systems incorporating a DDI CDSS which was set to flag 'major contraindicated' drug combinations only.

Material and methods A retrospective analysis of DDI alerts generated by Cerner electronic prescribing software over a 6 week period in a haematology-oncology inpatient cohort was completed. A parallel review of DDIs highlighted by clinical pharmacists in the same patient cohort was undertaken and the results were compared.

Results There were 310 electronic DDI alerts generated. Of these, 58 alerts were redundant as they referred to duplicates within the same prescribing episode (n=22) or were not triggered by current medications (n=36). The remaining 252 alerts involved 38 individual medicines and 44 medication pairs. Antiemetic medications accounted for over 50% of alerts and QTc interval prolongation was the most frequently alerted drug interaction adverse outcome. In 44 instances (17%) either the original prescription or the interacting medicine was changed by the prescriber following the DDI alert, reflecting an override rate of 83% (n=208).

A total of 37 DDI alerts were flagged by clinical pharmacists in the study. There were 42 individual medicines and 37 medication pairs involved. In 5 instances (14%), a change was

Annexe 9 : Communication orale francophone des résultats d'AMLEE à l'occasion de la 40^{ème} édition de la RICAI (réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse) en Décembre 2020



**Hirudothérapie et infection au CHU Amiens- Picardie : étude retrospective
sur une période de 9 ans (2010- 2018)**

A. Fillatre, Q. Floug, N. Assaf, R. Sinna, K. Hedhli, N. Lemaitre, H. Vacher, F. Hamdad



Annexe 10 : Résultats du modèle de régression logistique univarié issus de l'étude

	OR brut	IC 95%	p
<i>Sexe</i>	1,75	[0,83–3,78]	0,148
<i>Âge à l'inclusion</i>	1,00	[0,98–1,02]	0,805
<i>Immunodépression</i>	1,42	[0,63–3,31]	0,401
<i>Nombre de sangsues</i>	0,99	[0,98–1,00]	0,163
<i>Durée du traitement</i>	0,92	[0,79–1,07]	0,283
<i>Durée du séjour</i>	0,95	[0,91–0,99]	0,022
<i>Région traitée</i>			
Membres inf	1,74	[0,67–4,59]	0,257
Membres sup	2,03	[0,53–8,75]	0,314
Thorax	4,34	[1,32–17,31]	0,023
Visage	1,59	[0,53–4,91]	0,407
<i>Antibiothérapie adaptée</i>	1,68	[0,80–3,59]	0,173
<i>Changement de l'eau de conservation</i>			
1 x / semaine	2,38	[0,97–6,00]	0,060
3 x / semaine	9,69	[2,65–47,47]	0,002
<i>T° de conservation</i>	0,23	[0,06–0,73]	0,018
<i>Analyse de l'eau de conservation</i>	1,55	[0,60–4,34]	0,383
<i>Décontamination externe</i>	0,42	[0,14–1,17]	0,098
<i>Anémie</i>	1,11	[0,53–2,29]	0,787
<i>Infection à Aeromonas</i>	0,13	[0,03–0,45]	0,003
<i>Infection par autre bactérie</i>	0,33	[0,13–0,80]	0,015

Annexe 11 : Résultats du modèle de régression logistique multivariée issus de l'étude

	Univarié			Multivarié		
	OR brut	IC 95%	p	OR ajusté	IC 95%	p
<i>Région traitée</i>	2,28	[1,07–4,91]	0,034	2,41	[0,90–6,60]	0,081
<i>Antibiothérapie adaptée</i>	1,68	[0,80–3,59]	0,173	0,75	[0,30–1,85]	0,536
<i>Changement de l'eau de conservation</i>	3,39	[1,52–7,85]	0,003	1,77	[0,47–6,48]	0,389
<i>T° de conservation</i>	0,23	[0,06–0,73]	0,018	0,35	[0,05–2,04]	0,250
<i>Décontamination externe</i>	0,42	[0,14–1,17]	0,098	0,35	[0,08–1,40]	0,131
<i>Durée du séjour</i>	0,95	[0,91–0,99]	0,022	0,95	[0,91–1,00]	0,050
<i>Infection bactérienne</i>	0,24	[0,10–0,55]	0,001	0,20	[0,07–0,55]	0,002

Annexe 12 : Guide des bonnes pratiques de conservation et d'utilisation des sangsues médicinales dans les centres hospitaliers Français

Guide des bonnes pratiques de conservation et d'utilisation des sangsues médicinales dans les centres hospitaliers Français

v

Algorithme d'utilisation



Conservation

- Utilisation d'eau en bouteille (Volvic, Cristalline)
- Conservation au réfrigérateur (2-8°C)
- Changement de l'eau de conservation 3x/semaine
- Maximum 10 sangsues par bocal de 250ml
- Traçabilité de la réception et du nettoyage
- +/- Réalisation d'une analyse de l'eau de conservation mensuelle

Utilisation clinique

- Antibiotrophylaxie adaptée **obligatoire** durant toute l'hirudothérapie (Fluoroquinolones +/- Bactrim)
- Réalisation d'une décontamination externe de contact (10 sec) des sangsues ; valable jusqu'à 2h avant application
- Suivi de l'état du lambeau à J15/J30 pour prévenir la survenue d'infections à *Aeromonas*

Après utilisation

- Élimination des sangsues utilisées ou ne s'attachant pas dans de l'eau de Javel ou du Dakin

FILLATRE Adrien
Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie
Université de Picardie Jules Verne
Année universitaire 2020/2021

Rôle du Pharmacie Hospitalier dans le bon usage des Sangsues médicinales

Mots-clés : Sangsues, Hirudothérapie, infections, *Aeromonas*, antibiorésistance, décontamination et étude multicentrique

Résumé :

Les sangsues sont des hématophages utilisées en médecine en raison de leurs propriétés, anticoagulantes et anti-inflammatoires. Elles sont actuellement indiquées en cas de congestion veineuse post-chirurgicale faisant suite à la réimplantation d'un membre ou à la greffe d'un lambeau. Les *Aeromonas* sont des bactéries symbiotiques du tube digestif des sangsues, leur permettant de digérer le sang ingéré. Ces bactéries peuvent néanmoins être transmises à l'hôte lors de la morsure et provoquer une infection cutanée pouvant compromettre la réussite de l'hirudothérapie.

En 2018, un cas clinique d'infection à *A. hydrophila* sécrétant une β -lactamase à spectre étendu liée aux sangsues a été à l'origine d'une remise en question des pratiques au CHU Amiens- Picardie. De nombreuses mesures ont été mises en place comme l'augmentation de la fréquence de changement de l'eau de conservation, une décontamination préalable à la chlorhexidine des sangsues avant application ou le contrôle de la prescription d'une antibioprophylaxie adaptée

Une étude rétrospective observationnelle AMLEE (AMiens LEEches) a été menée sur une période de 9 ans (2010- 2018) et a montré que 27% des patients traités par des sangsues ont été infectés par *Aeromonas*. Un lien entre l'infection à *Aeromonas* et l'échec de la reconstruction par lambeau a été démontré ($p = 0.006$).

Une étude comparative avant et après la mise en place des mesures correctives (AMLEE_{v2}) a été menée et a montré que ces mesures ont diminué significativement le risque infectieux (9% vs 35%, $p = 0.05$) et ont amélioré le taux de réussite de l'hirudothérapie (90% vs 62%, $p = 0.03$).

Une étude multicentrique nationale (AMLEE_{v3}) d'une cohorte de 127 patients, répartis sur 5 centres dont les pratiques sont hétérogènes, a permis de déterminer que la température de conservation et la fréquence de changement de l'eau dans les pharmacies sont les éléments ayant le plus d'impact sur le risque infectieux et par conséquent sur la réussite de l'hirudothérapie.

Jury :

Président du jury : Pr Gilles DUVERLIE
Directeur de Thèse : Dr Farida HAMDAD
Assesseurs : Dr Audrey HOUBERT
Dr Hélène VACHER
Dr Céline MONGARET