



Résistance des souches bactériennes colonisant les sangsues d'usage médical

**Sophie Baranovsky^{1,2}, Emilie Talagrand-Reboul³, Maxime Villiet⁴, Pierre Renaudin⁴, Mokhtar Berchi^{1,2},
Delphine Grau^{1,2}, David Morquin⁵, Sara Romano-Bertrand^{1,2} et Estelle Jumas-Bilak^{1,2}**

¹ Département d'Hygiène Hospitalière, CHU Montpellier, 80 avenue Augustin Fliche 34295 Montpellier Cedex5

²UMR 5569 Equipe « Pathogènes Hydriques Santé Environnements », HydroSciences, Montpellier, Unité de Bactériologie, UFR Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault BP 14491 34093 Montpellier Cedex 5

³ Laboratoire de bactériologie, Plateau technique de microbiologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, 1 rue Koeberlé, 67000 Strasbourg

⁴Département Pharmacie Clinique, Dispensation et Economie de la santé, CHU Montpellier, 80 avenue Augustin Fliche 34295 Montpellier Cedex5

⁵Département des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Montpellier, 80 avenue Augustin Fliche 34295 Montpellier Cedex5

Introduction

=> Usage médical des sangsues

Intérêt médical

⇒ Traitement adjuvant de la chirurgie réparatrice et reconstructive

⇒ Sangsues hématophages

⇒ Action décongestionnante mécanique de succion (Singh 2010)

⇒ Substances dans leurs sécrétions (Singh 2010) (Whitaker et al. 2005)

⇒ Analgésiques

⇒ Anti-inflammatoires

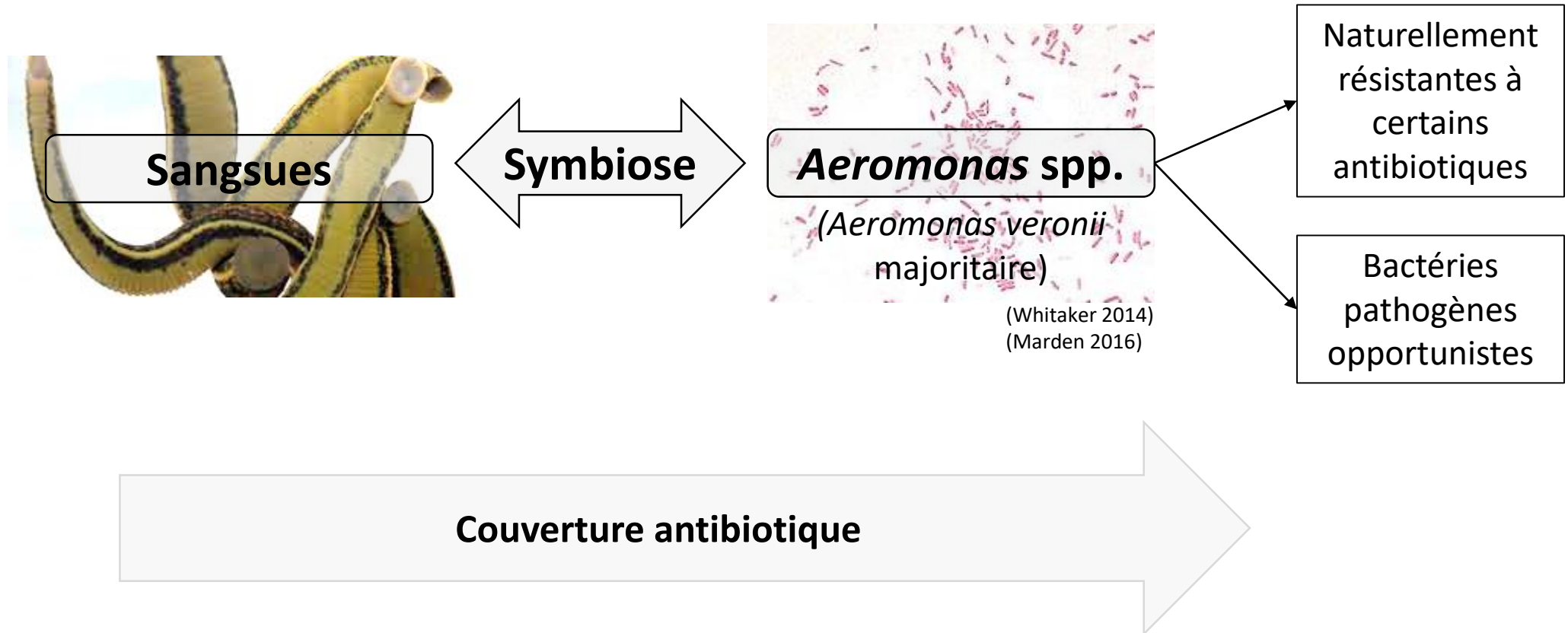
⇒ Anticoagulantes

⇒ Antimicrobiennes



Introduction

=> *Aeromonas* spp. et sangsues



Introduction

=>Hirudothérapie et antibioprophylaxie



En France => Pas de recommandation nationale

Grau et al. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* (2018) 7:19
<https://doi.org/10.1186/s13756-018-0311-7>

Antimicrobial Resistance
and Infection Control

RESEARCH

Open Access



Leech management before application on patient: a nationwide survey of practices in French university hospitals

Delphine Grau^{1,2*}, Raphaël Masson³, Maxime Villiet¹, Brigitte Lamy^{4,5,6} and French Hospitals Group

23 CHU ont répondu au questionnaire

- 9 centres décontaminent les sangsues avant utilisation
 - chlorhexidine (n=7)
 - gentamicine(n=2)
- 5 centres ATBprophylaxie systématique aux patients
 - fluoroquinolone (n=2)
 - triméthoprime/sulfaméthoxazole (n=2)
 - amoxicilline/acide clavulanique (n=1)

Introduction

=> Hirudothérapie et antibioprophyllaxie



En France

RICARIMPEX SAS
Sangsues médicales



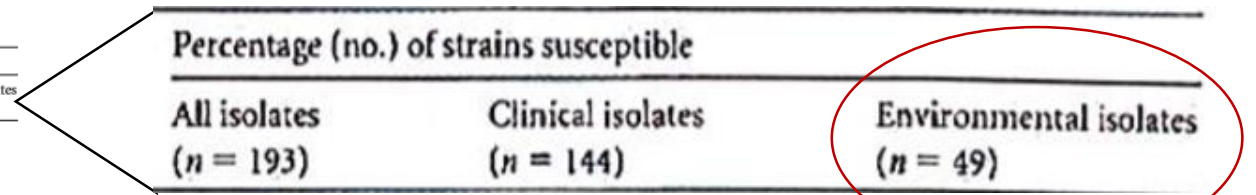
Tableau de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Aeromonas* (193 souches)

TABLE 1 Antimicrobial susceptibilities of 193 *Aeromonas* species

Antimicrobial agent	MIC breakpoint(s) (µg/ml)	Percentage (no.) of strains susceptible		
		All isolates (n = 193)	Clinical isolates (n = 144)	Environmental isolates (n = 49)
Amoxicillin (AMX)	8	1.6 (3)	0.7 (1)	4.0 (2)
Amoxicillin-clavulanate (AMC)	8/4	16.5 (32)	6.25 (9)	46.9 (23)
Norfloxacin (NOR)	4	100	100	100
Ciprofloxacin (CIP)	1	100	100	100
Nitrofurantoin (NIT)	32	99.5 (192)	99.3 (143)	100
Trimethoprim (TMP)	8	92.7 (179)	91 (131)	97.9 (48)
Cephalothin (CEF)	8	27.4 (53)	20.8 (30)	46.9 (23)
Meropenem (MEM)	0.25	100	100	100
	1	100	100	100
	4	100	100	100
Gentamicin (GEN)	4	99.5 (192)	99.3 (143)	100
Tobramycin (TOB)	4	95.3 (184)	93.8 (135)	100
Amikacin (AMK)	16	100	100	100
Ceftriaxone (CRO)	1	96.9 (187)	95.8 (138)	100
Ceftazidime (CAZ)	0.5	97.4 (188)	96.5 (139)	100
	4	99.5 (192)	99.3 (143)	100
Aztreonam (ATM)	4	99.5 (192)	99.3 (143)	100
Ticarcillin-clavulanate (TIM)	16/2	91.2 (176)	88.9 (128)	97.9 (48)
	64/2	95.9 (185)	95.1 (137)	97.9 (48)
Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)	2/38	98.9 (191)	98.6 (142)	100
Cefepime (FEP)	0.5	98.9 (191)	98.6 (142)	100
	8	100	100	100
Nalidixic acid (NAL)	16	96.9 (187)	97.9 (141)	93.8 (46)
Cefoxitin (FOX)	8	65.2 (126)	65.9 (95)	63.2 (31)
Piperacillin-tazobactam (TZP)	16/4	97.4 (188)	96.5 (139)	100
	64/4	98.9 (191)	98.6 (142)	100
Moxifloxacin (MXF)	1	98.9 (191)	99.3 (143)	97.9 (48)
Tetracycline (TET)	4	94.3 (182)	95.1 (137)	81.6 (40)
Cefazolin (CFZ)	2	20.7 (40)	8.2 (9)*	10.2 (5)
Doxycycline (DOX)	S, ≤4; I, 8; R, ≥16	97.9 (189)	97.2 (140)	100
Tigecycline (TGC)	S, ≤2; I, 4; R, ≥8	100	100	100
Colistin (CST)	S, <2	44.5 (86)	39.5 (57)	59.1 (29)

* One hundred nine strains tested.

(Aravena-Román 2011)



Aucune souche isolée des sangsues

Introduction

=>Hirudothérapie et antibioprophylaxie



A Montpellier

=> Décontamination des sangsues avant utilisation à la chlorhexidine +
ATBprophylaxie

→ Avant 2012 => Monoprophylaxie

ciprofloxacin (CIP)



→ En 2012 => ISO avec une souche *Aeromonas hydrophila* CIP résistante

→ Aujourd'hui => Biprophylaxie + contrôle pharmaceutique de la prescription ATB

ciprofloxacin (CIP)



triméthoprime/sulfaméthoxazole (SXT)



Introduction

=> *Cas clinique*

En juin 2017, patient de 25 ans

→ Hirudothérapie de 9 j, pour de la **microchirurgie reconstructrice** après greffe osseuse

→ **Biprophylaxie quotidienne**

→ ciprofloxacine (CIP)



→ triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT)



ISO à *Aeromonas hydrophila* CIP/SXT résistante

→ 29 jours après le début de l'ATB prophylaxie





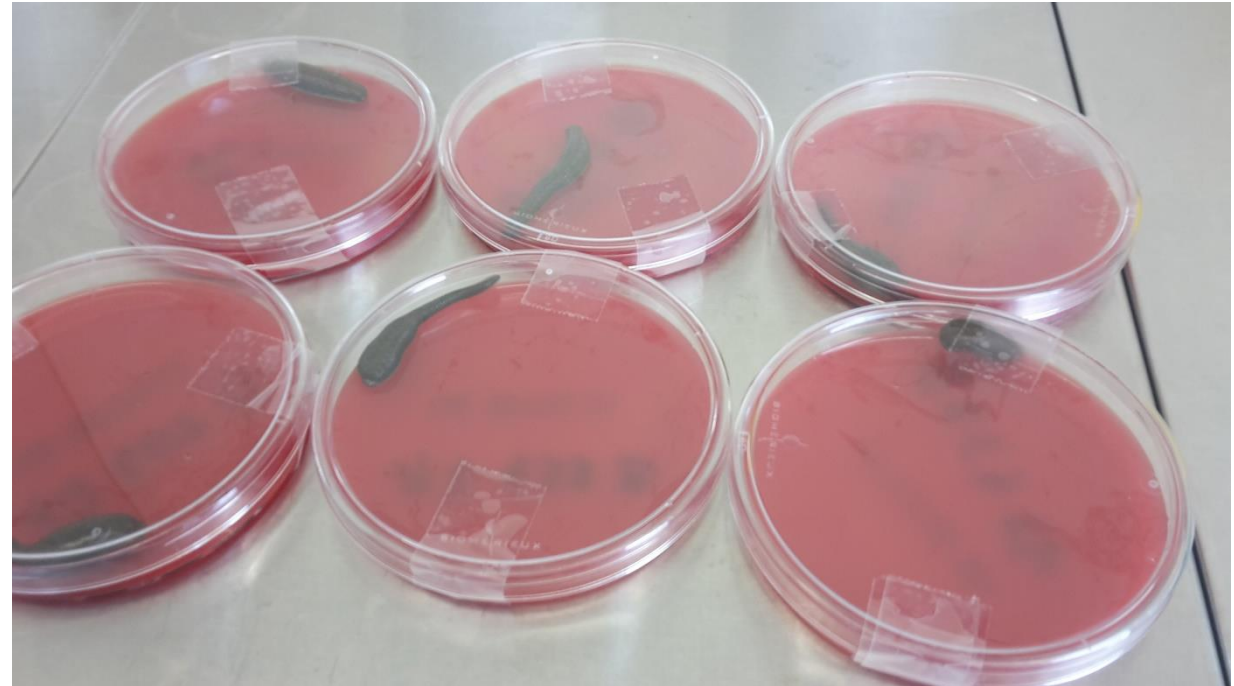
Objectifs

- ✓ Démontrer l'origine de l'ISO
- ✓ Analyser les populations bactériennes résistantes dans les régurgitations de sangsues hématophages
- ✓ Evaluer l'eau de stockage des sangsues comme indicateur de surveillance microbiologique: reflet des bactéries régurgitées?

Matériel et méthodes

=> Origine de l'ISO ?

=> Analyse des bactéries régurgitées

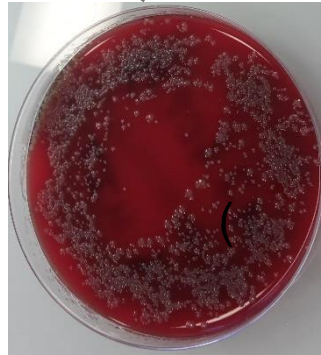
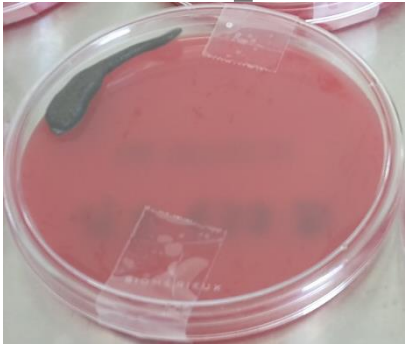


Matériel et méthodes

=> Origine de l'ISO ?

=> Analyse des bactéries régurgitées

24H à 37°C



Identification

MALDI-TOF



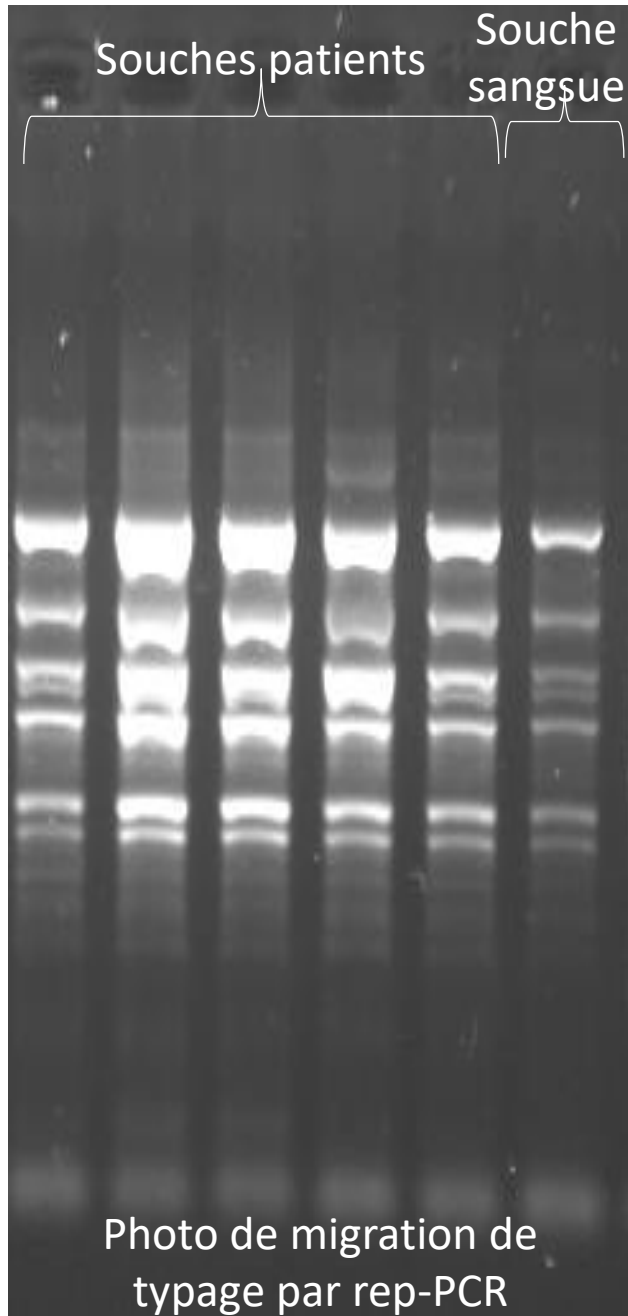
Antibiogramme

Typage par rep-PCR

+ Séquençage des gènes *gyrB* et *radA* pour *Aeromonas* sp.

Résultats

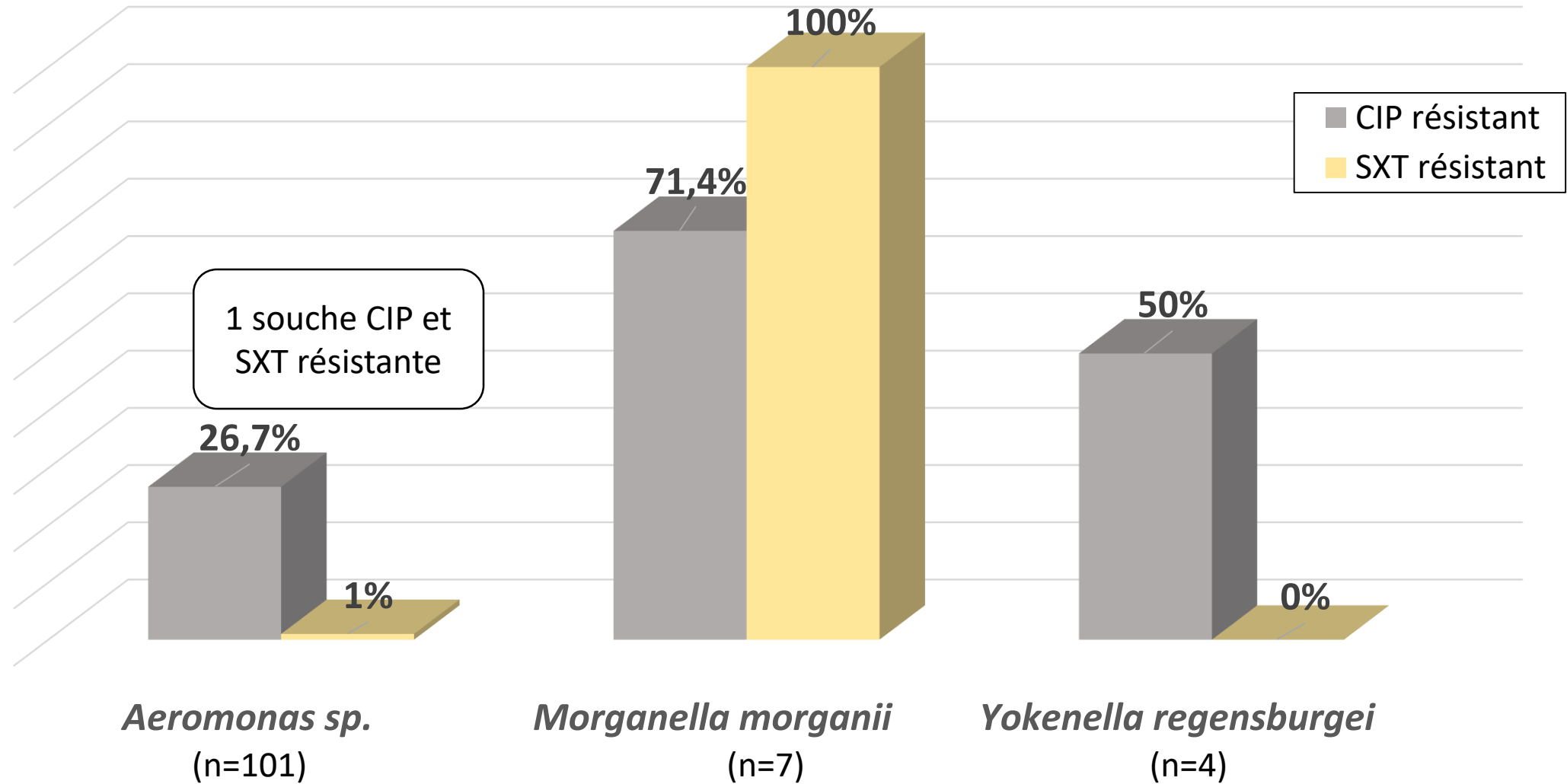
=> Origine de l'ISO ?



- ✓ Comparaison des souches patients CIP et SXT résistante et de la souche *A. hydrophila* CIP et SXT résistante isolée des régurgitations de sangsues
 - ✓ Souches clonales
 - ✓ Transmission de la souche de sangsue au patient
- **L'origine exogène d'infection associée aux soins transmise par les sangsues démontrée**

Résultats

=>Analyse des bactéries régurgitées



% bactéries résistantes/total de bactéries par espèces identifiées dans les régurgitations de 24 sangsues



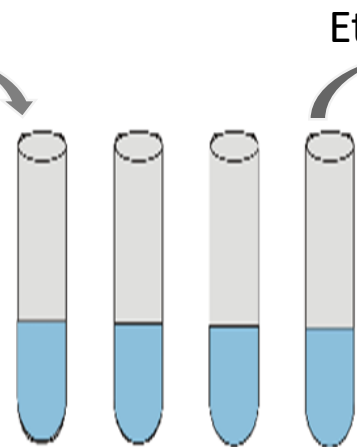
Objectifs

- ✓ **L'origine exogène d'IAS transmise par les sangsues démontrée**
- ✓ **Populations bactériennes résistantes dans les régurgitations de sangsues**

- Mieux maîtriser ce risque
 - Indicateur de surveillance microbiologique
 - L'eau de stockage des sangsues=reflet des bactéries régurgitées?

Matériel et méthodes

⇒ L'eau de stockage des sangsues,
reflet des bactéries régurgitées?



Dilution de l'eau

⇒ 1/10^{ème}

⇒ 1/100^{ème}

⇒ 1/1000^{ème}

Etaler 100 µL



TSA

TSA +
SXT
4mg/L

TSA +
SXT
2mg/L

TSA +
CIP
0,5mg/L

TSA + CIP
0,25mg/l

⇒ Dénombrement

⇒ Identification bactérienne

Résultats

⇒ L'eau de stockage des sangsues, reflet des bactéries régurgitées?

⇒ Analyse de l'eau

⇒ Majorité de *Pseudomonas* sp.

⇒ 2×10^7 à 5×10^8 UFC/L

⇒ CIP R et SXT R

⇒ *Arthrobacter* sp.

⇒ 0 à 4×10^7 UFC/L

⇒ SXT R

⇒ *Acidovorax facilis*

⇒ 0 à 2×10^6 UFC/L

⇒ SXT R



⇒ Non reflet des bactéries régurgitées par les sangsues

Discussion

Cas d'infection à *Aeromonas* spp. après hirudothérapie

***In vivo* selection of a multidrug-resistant *Aeromonas salmonicida* during medicinal leech therapy**

E. Ruppé¹, A. Cherkaoui², N. Wagner³, G. C. La Scala⁴, J.-Y. Beaulieu⁵, M. Girard¹, J. Frey⁶, V. Lazarevic¹ and J. Schrenzel^{1,2}

AEROMONAS SEPTICEMIA AFTER MEDICINAL LEECH USE FOLLOWING REPLANTATION OF SEVERED DIGITS

By Steven M. Levine, MD, Spiros G. Frangos, MD, Bruce Hanna, PhD, Kari Colen, MD, and Jamie P. Levine, MD

Cas d'infection à *Aeromonas hydrophila* CIP résistant déjà décrit



Transmission of *Aeromonas hydrophila* by leeches

Catherine Sarrac, Charline Rouzet, Olivier Guisard, Pierre-Gabriel Fournier

Leaves 2013, 7(1): 1686

Ciprofloxacin-resistant *Aeromonas hydrophila* infection following leech therapy: A case report and review of the literature

Ketan M. Patel^{*}, Michael Svestka, Jeremy Sinkin, Paul Ruff IV

Discussion

**Risque ISO à
entérobactéries à
ne pas négliger**

**Cas d'infection à *A. hydrophila* et
M. morganii, avec une ATB
prophylaxie avec de la CIP**



CASE REPORT

**Ciprofloxacin-Resistant *Aeromonas hydrophila* Cellulitis following
Leech Therapy**

Carmen L. Giltner,^a April M. Bobenchik,^a Daniel Z. Uslan,^b Jaime G. Deville,^c Romney M. Humphries^a

SCIENTIFIC ARTICLE

**Ciprofloxacin-Resistant *Aeromonas* Infection
Following Leech Therapy for Digit Replantation:
Report of 2 Cases**

Nickolas A. van Alphen, MD, Alexandra Gonzalez, MS, Maureen C. McKenna, MD,
Theresa K. McKenna, MD, Brian T. Carlsen, MD, Steven L. Moran, MD

Discussion



⇒ **Eau aurait pu être un bon indicateur**

⇒ Facilité de prélèvement et d'analyse

⇒ Analyse déjà réalisée

⇒ (Wilmer 2013)

→ Identification d'*Aeromonas* sp. et de *Pseudomonas* sp.



⇒ **Non reflet des bactéries régurgitées
par les sangsues**

Discussion

Afin de prévenir le risque d'infection

⇒ Actuellement:

⇒ Précautions lors de l'utilisation (Grau et al. 2018)

⇒ Décontamination des sangsues avant utilisation

⇒ Antibioprophylaxie CIP et SXT

⇒ Surveillance des cas d'infection

⇒ Information et vigilance des cliniciens et laboratoires

⇒ *Aeromonas* spp. + entérobactéries

⇒ Pour aller plus loin:

⇒ Contrôle microbiologique des bactéries régurgitées par les sangsues médicinales avant emploi

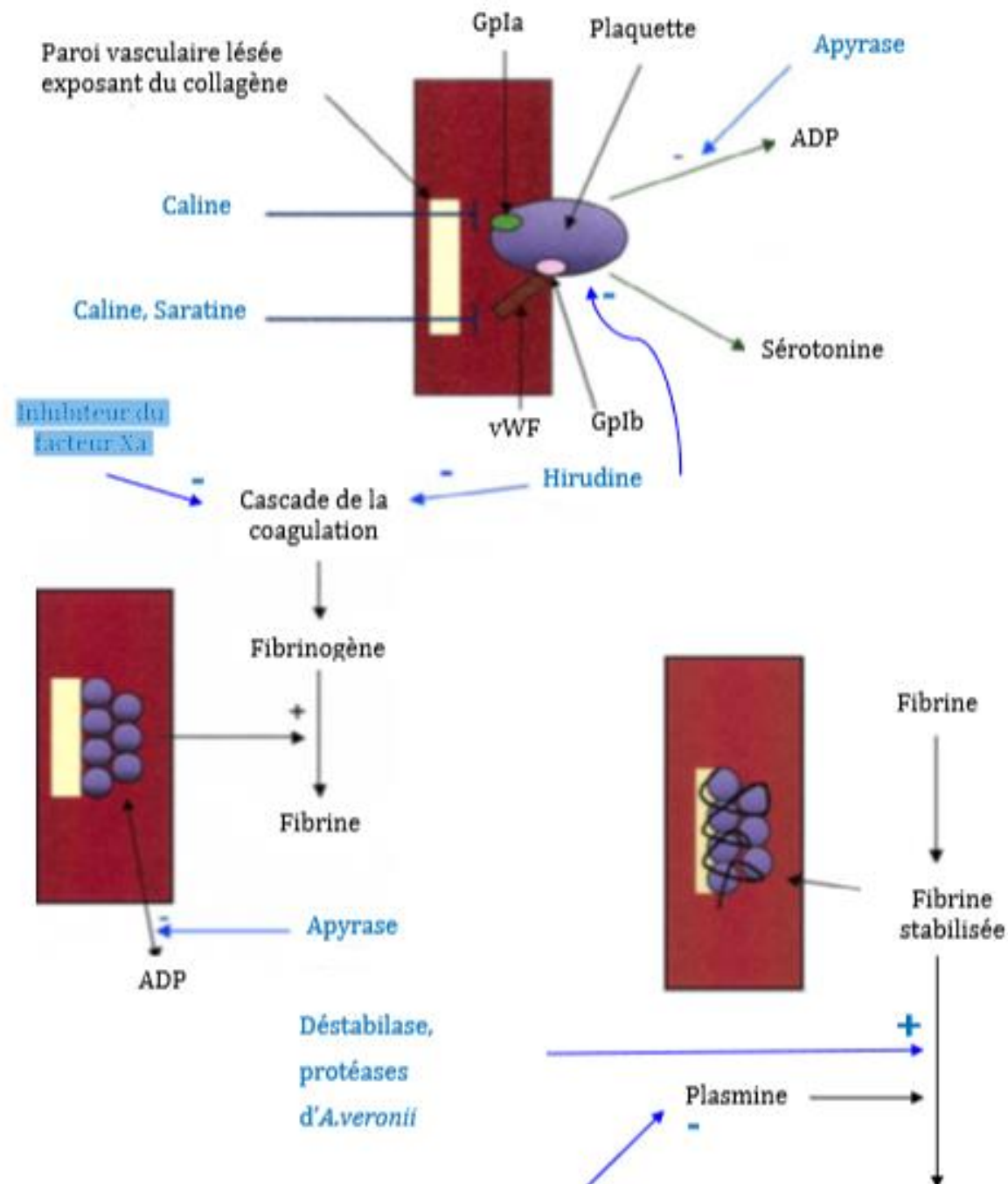
⇒ Analyse des populations bactériennes résistantes aux antibiotiques

⇒ Adapter l'antibioprophylaxie

A close-up, slightly blurred photograph of a person's hand holding a pen. The hand is positioned in the upper right quadrant, with the pen held between the thumb and index finger. The pen is a light-colored, possibly silver or chrome, with a textured grip. The background is a soft, out-of-focus light blue and white. The text "Merci de votre attention" is overlaid in the center of the image in a bold, black, italicized font.

Merci de votre attention

Analgésique	Hirustatine: diminution des phénomènes douloureux induits par la bradykinine
Antimicrobienne	Enzymatique de type lysozyme bloquant la croissance bactérienne par destruction de la paroi
anti-inflammatoire	molécules inhibitrices des protéases
Anticoagulantes	inhibition de l'activation des thrombocytes par la thrombine Caline/ saratine / Inhibiteur du facteur Xa /Hirudine



- **enzymatique**. En effet, la déstabilase a une activité de **type lysozyme**, bloquant la croissance bactérienne par destruction de la paroi des microorganismes grâce à son activité muramidase et glycosidase envers le N-acétyl-glucosamine
- L'effet **anti-inflammatoire** de la salive s'exerce par le biais de **molécules inhibitrices des protéases** libérées lors d'un processus inflammatoire.
- Eglines : inhibition des sérines protéases lysosomiales
- la vasomotricité
- 1. Molécules agissant sur le système kinine-kallikréine