

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2012 - Thèse n°

*L'hirudothérapie en médecine et en chirurgie  
modernes*

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 14 décembre 2012  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*CHENU Claire*  
Née le 12 décembre 1986  
à Reims



**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2012 - Thèse n°

*L'hirudothérapie en médecine et en chirurgie  
modernes*

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 14 décembre 2012  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*CHENU Claire*  
Née le 12 décembre 1986  
à Reims





## Liste des enseignants du campus vétérinaire de Lyon

Mise à jour du 11/10/2012

Civilité	Nom	Prénom	Unité pédagogique	Grade
M.	ALOGNINOUIWA	Théodore	Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	BELLI	Patrick	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
Mme	BELLUCO	Sara	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences Contractuel
M.	BUFF	Samuel	Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	CACHON	Thibaut	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	CADORE	Jean-Luc	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	COMMUN	Loïc	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FRANCK	Michel	Gestion des élevages	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Rhida	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	GENEVOIS	Jean-Pierre	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences

M.	GUERIN	Pierre	Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	GUERIN-FAUBLEE	Véronique	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences Stagiaire
M.	LACHERETZ	Antoine	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	LEBLOND	Agnès	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Equine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
Mme	MIALET	Sylvie	Santé Publique et Vétérinaire	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
Mme	MICHAUD	Audrey	Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
M.	MOUNIER	Luc	Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Stagiaire
Mme	PROUILLAC	Caroline	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	ROGER	Thierry	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	SEGARD	Emilie	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGEANT	Delphine	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THEBAULT	Jean-Jacques	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

## **Remerciements**

### **A Monsieur le professeur Claude GHARIB**

De la Faculté de médecine de Lyon

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Avec notre gratitude et nos hommages respectueux

### **A Monsieur le professeur Philippe BERNY**

Du Campus vétérinaire de VetAgro Sup

Qui a accepté d'encadrer ce travail,

Pour sa disponibilité et ses conseils,

Sincères remerciements

### **A Monsieur le professeur Eric VIGUIER**

Du Campus vétérinaire de VetAgro Sup,

Qui a accepté de participer à ce jury et de juger ce travail,

Sincères remerciements

## **A ma famille**

Pour avoir toujours cru en moi et m'avoir soutenue dans la voie que j'avais choisie

## **A Caroline**

Pour toutes les parties de Citadelle,  
les galères de permis et les bons moments passés à Marcy

## **A Marie**

Pour les bons moments passés pendant ces 5 années

## **A mes collègues de l'Ecole Vétérinaire de Lyon**

Que j'ai eu le plaisir de côtoyer pendant 5 ans,  
j'espère que vos projets professionnels et personnels se réaliseront

## **A mes collègues de Master**

Que j'ai eu la chance de rencontrer, que vos projets se réalisent

## **A Alexandre**

Pour ta patience et ton soutien tout au long de ce périple  
Pour tout le bonheur que tu m'apportes au quotidien  
Pour les années passées et celles à venir...

# TABLE DES MATIERES

---

Table des figures .....	11
Table des tableaux.....	13
Table des abréviations.....	14
Introduction.....	15
<b>PARTIE 1 : Les sangsues médicinales .....</b>	<b>17</b>
<b>I.Espèces utilisables en thérapeutique.....</b>	<b>19</b>
A. Taxonomie .....	19
B. Principales espèces de sangsues utilisables en thérapeutique .....	20
1. Facteurs influençant le choix des espèces .....	20
2. Bilan des principales espèces utilisées chez l'homme .....	23
C. Principales espèces utilisables en médecine vétérinaire .....	23
<b>II.Biologie des sangsues.....</b>	<b>24</b>
A. Morphologie générale.....	24
1. Taille .....	24
2. Forme .....	24
3. Régions du corps.....	24
4. Pigmentation tégumentaire.....	26
B. Ecologie .....	28
1. Milieu de vie naturel .....	28
2. En élevage.....	29
C. Alimentation.....	30
1. Comportement alimentaire .....	30
2. Comportement préprandial .....	33
3. Phase bucco-pharyngée de la digestion.....	34
4. Phase gastro-intestinale de la digestion.....	36
D. Autres grandes fonctions biologiques.....	40
1. Reproduction .....	40
2. Circulation.....	43
3. Respiration.....	44
4. Locomotion .....	44
5. Perception de l'environnement .....	47



<b>PARTIE 2: Mécanismes à l'origine de l'intérêt thérapeutique de l'hirudothérapie.....</b>	<b>49</b>
<b>I.Action décongestionnante de la morsure de sangsue.....</b>	<b>51</b>
<b>II.Salive de la sangsue et coagulation sanguine .....</b>	<b>52</b>
A. Rappels physiologiques sur l'hémostase .....	52
1. Hémostase primaire.....	52
2. Coagulation plasmatique.....	55
3. Fibrinolyse .....	59
4. Inhibition physiologique de l'hémostase .....	59
5. La thrombine, un facteur clé de l'hémostase .....	61
B. L'hirudine : un composé de la salive de sangsue d'action multimodale par inhibition de la thrombine .....	65
1. Structure de l'hirudine .....	65
2. Interaction avec la thrombine .....	66
3. Effets biologiques de l'hirudine .....	68
4. Pharmacologie de l'hirudine .....	68
C. Molécules salivaires perturbant le temps plaquettaire de l'hémostase .....	70
1. Molécules agissant par blocage de la fixation du collagène.....	71
2. La décorsine : blocage de la fixation du fibrinogène.....	71
3. L'apyrase : blocage de l'activation plaquettaire par l'ADP .....	72
D. Molécules salivaires perturbant la cascade de la coagulation.....	72
E. Molécules perturbant la fibrinolyse.....	72
1. Les bdellines.....	72
2. La déstabilase-lysozyme.....	72
3. Protéinase produite par <i>Aeromonas veronii</i> .....	73
F. Bilan de l'action de la salive d' <i>Hirudo medicinalis</i> sur l'hémostase .....	73
<b>III.Salive de sangsue et effet anti-inflammatoire.....</b>	<b>75</b>
A. Eglines : inhibition des sérines protéases lysosomiales .....	75
B. Les inhibiteurs de la tryptase.....	76
C. Inhibiteur des composants du système du complément.....	76
D. Molécules agissant principalement sur la vasomotricité .....	77
1. Molécules agissant sur le système kinine-kallikréine.....	77
2. Autres molécules à effet vasomoteur .....	78
<b>IV.Salive de la sangsue et activité antimicrobienne .....</b>	<b>78</b>

<b>V.Action anesthésiante de la salive de sangsue.....</b>	<b>78</b>
<b>VI.Agents de perméabilisation tissulaire .....</b>	<b>79</b>
<b>VII.Bilan.....</b>	<b>79</b>
<b>PARTIE 3: Utilisation pratique des sangsues.....</b>	<b>81</b>
<b>I.Les sangsues : de l'hirudiculteur au praticien.....</b>	<b>83</b>
A. Obtenir des sangsues .....	83
1. Statut des sangsues dans la législation relative aux médicaments.....	83
2. Commande auprès d'hirudiculteurs .....	84
B. Conditions d'entretien.....	85
1. Récipient adapté .....	85
2. Température .....	85
3. Qualité de l'eau .....	85
4. Eclairage.....	86
<b>II.Application des sangsues .....</b>	<b>86</b>
A. Présentation de l'hirudothérapie au patient/propriétaire de l'animal.....	86
B. Préparation du site de pose .....	86
C. Mise en place des sangsues .....	87
1. Manipulation des sangsues.....	87
2. Stimulation de la morsure.....	88
3. Détachement de la sangsue .....	88
4. Aspect quantitatif .....	89
D. Après une séance d'hirudothérapie .....	89
1. Vérification des plaies de morsure .....	89
2. Elimination des sangsues utilisées .....	89
<b>III.indications cliniques de l'hirudothérapie .....</b>	<b>90</b>
A. Hirudothérapie et microchirurgie .....	90
1. Intérêt pour les tissus greffés .....	90
2. Conditions pour le greffon .....	91
3. Place des sangsues dans la démarche thérapeutique .....	92
4. Durée du traitement - nombre de sangsues.....	94
5. Hirudothérapie et réimplantation d'extrémités chez l'homme.....	94
6. Hirudothérapie et greffe de lambeaux .....	100

B.	Hirudothérapie et troubles vasculaires et hématologiques ne relevant pas de la microchirurgie .....	104
1.	Sangsues et collections liquidiennes.....	104
2.	Sangsues et varices .....	109
3.	Sangsues et polycythémie essentielle .....	110
C.	Hirudothérapie et arthrose .....	111
1.	Définition - prise en charge classique.....	111
2.	Etudes cliniques concernant la gonarthrose .....	112
3.	Etude randomisée concernant l'arthrose du poignet.....	114
4.	Discussion.....	115
D.	Bilan sur les indications de l'hirudothérapie .....	116
<b>IV.Complications et contre-indications de l'usage des sangsues et de leurs produits ...</b>		<b>117</b>
A.	Complications infectieuses.....	117
1.	Agents transmissibles.....	117
2.	Prévalence des affections à <i>Aeromonas</i> .....	119
3.	Conséquences des complications infectieuses.....	120
4.	Prévention des complications infectieuses .....	120
B.	Hémorragies importantes.....	122
C.	Migration erratique des sangsues.....	123
D.	Complications dermatologiques-réactions allergiques.....	124
E.	Impact psychologique .....	124
F.	Contre-indications de l'utilisation des sangsues vivantes.....	125
G.	Une alternative aux sangsues vivantes.....	126
Conclusion .....		127
Bibliographie .....		129
Bibliographie électronique .....		143

## TABLE DES FIGURES

---

<b>Figure 1</b> : Vues externes d' <i>Hirudo medicinalis</i> .....	26
<b>Figure 2</b> : Vues externes d' <i>Hirudo verbana</i> .....	27
<b>Figure 3</b> : Vues externes de <i>Macrobdella decora</i> .....	28
<b>Figure 4</b> : Machoître et morsure .....	34
<b>Figure 5</b> : Représentation schématique de la disposition des glandes salivaires chez <i>Hirudo medicinalis</i> .....	35
<b>Figure 6</b> : Schéma de l'anatomie digestive d' <i>Hirudo medicinalis</i> .....	37
<b>Figure 7</b> : Face ventrale de la région clitellienne d'un <i>Hirudo verbana</i> .....	41
<b>Figure 8</b> : Cocons d' <i>Hirudo verbana</i> .....	43
<b>Figure 9</b> : Schéma de la disposition des principales couches musculaires chez <i>Hirudo medicinalis</i> .....	45
<b>Figure 10</b> : Représentation schématique du mode de déplacement de type ressort élastique d' <i>Hirudo medicinalis</i> .....	46
<b>Figure 11</b> : Schéma récapitulatif du temps plaquettaire de l'hémostase primaire .....	55
<b>Figure 12</b> : Hémostase secondaire simplifiée .....	58
<b>Figure 13</b> : Etapes de la formation de fibrine insoluble à partir de fibrinogène .....	62
<b>Figure 14</b> : Structure de l'hirudine .....	66
<b>Figure 15</b> : Complexe formé entre la thrombine et l'hirudine.....	67
<b>Figure 16</b> : Schéma récapitulatif de l'action anticoagulante de la salive d' <i>Hirudo medicinalis</i> .....	74
<b>Figure 17</b> : Lambeau cutané présentant une congestion veineuse après greffe sur un membre thoracique chez un chien .....	92
<b>Figure 18</b> : Démarche thérapeutique pour la prise en charge d'un greffon congestionné chez l'homme .....	93
<b>Figure 19</b> : Dégantage d'un doigt dans le cadre d'un « <i>ring syndrom</i> » .....	95
<b>Figure 20</b> : Hirudothérapie et « <i>ring syndrom</i> » .....	96
<b>Figure 21</b> : Illustration du bénéfice de l'hirudothérapie dans le cadre d'une réimplantation totale de l'oreille .....	98
<b>Figure 22</b> : Illustration du bénéfice de l'hirudothérapie pour la reperfusion d'un membre .....	100
<b>Figure 23</b> : Prise en charge d'un hématome diffus chez le chien par hirudothérapie...	106

<b>Figure 24</b> : Prise en charge d'un hématome lingual par hirudothérapie.....	108
<b>Figure 25</b> : Emplacement des sangsues appliquées lors de gonarthrose.....	113

## TABLE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau 1:</b> Rôle simplifié des facteurs de la coagulation plasmatique.....	56
<b>Tableau 2:</b> Tableau récapitulatif des principaux composés salivaires d'intérêt thérapeutique chez <i>Hirudo medicinalis</i> .....	80
<b>Tableau 3:</b> Critères cliniques de reconnaissance d'une zone de congestion veineuse ....	91
<b>Tableau 4:</b> Prévalence des infections a <i>Aeromonas</i> faisant suite à l'utilisation de sangsues en chirurgie réparatrice .....	119
<b>Tableau 5:</b> Bilan des contre-indications de l'hirudothérapie .....	125

## TABLE DES ABREVIATIONS

---

**ADP** : Adénosine Diphosphate

**AMP** : Adénosine Monophosphate

**aPTT** : Temps Partiel de Thromboplastine

**ATIII** : Antithrombine III

**Cellules LL** : Cellules Lateral Large

**Cellules RZ** : Cellules Retzius

**CITES** : Traité sur le commerce international des espèces en danger

**FDA** : Food and Drug Administration

**Gp** : Glycoprotéine

**HcII** : Deuxième cofacteur de l'héparine

**LCI** : Leech Carbopaptidase Inhibitor

**LDTI** : Leech-Derived Tryptase Inhibitor

**PAF** : Platelet Activating Factor

**PCR** : Réaction en Chaîne par Polymérase

**PGI2** : Prostaglandine I2

**PT**: Temps de Prothrombine

**SEM**: Scanning Electrom Microscopy

**TAIF** : Thrombin Activator Fibrinolysis Inhibitor

**TFPI** : Tissue Factor Pathway Inhibitor

**t-PA** : Activateur Tissulaire du Plasminogène

## INTRODUCTION

---

L'utilisation des sangsues à visée médicale date de l'Égypte Antique, où les annélides étaient déjà employés pour réaliser des saignées. Ultérieurement, les sangsues ont continué à être abondamment employées au cours de l'histoire, notamment au Moyen-Age où elles les barbiers chirurgiens y avaient régulièrement recours. En Europe, les sangsues médicinales appartiennent à un genre particulier : le genre *Hirudo*, qui donne son origine au terme employé pour désigner la thérapie par les sangsues vivantes. C'est à la fin du 18<sup>ème</sup> siècle que cette thérapeutique connaît son apogée, sous l'influence de Broussais, chirurgien dans la Grande Armée de Napoléon, qui considérait les sangsues comme la panacée en termes de remède pour des affections très variées. L'hirudothérapie s'est dès lors développé dans toute l'Europe avant de tomber en désuétude au début du 20<sup>ème</sup> siècle avec la découverte de moyens thérapeutiques plus efficaces comme les antibiotiques.

Ce n'est qu'en 1986 que les sangsues présentent un regain d'intérêt, grâce à John Friedrich Dieffenbach, qui fut le premier à avoir utilisé les sangsues dans le cadre de différentes reconstructions faciales. Comment un animal, de premier abord si repoussant a-t-il pu retrouver une place au milieu de l'arsenal thérapeutique moderne, et dans quels contextes est-il employé à l'heure actuelle? C'est dans le but de répondre à cette question que nous avons réalisé ce travail.

Dans une première partie, nous nous intéresserons aux sangsues elles-mêmes. Nous réaliserons une présentation anatomique, physiologique et comportementale des principales espèces d'intérêt médical. Dans une seconde partie, nous nous attacherons aux fondements de l'intérêt thérapeutique des sangsues. Nous expliquerons grâce quels mécanismes les sangsues et leur salive présentent un intérêt pour la médecine moderne. Enfin, dans une dernière partie nous présenterons les applications actuelles de l'hirudothérapie chez l'homme, ainsi que les perspectives d'utilisation chez l'animal. Après quelques indications pratiques quant à la bonne manipulation des sangsues, nous développerons les indications actuelles de l'hirudothérapie sur la base de cas et d'études cliniques publiés. Pour finir, nous verrons que malgré le bénéfice apporté, l'application de sangsues n'est pas dénuée de complications que le clinicien doit prendre en considération.





# PARTIE 1

---

## **LES SANGSUES MEDICINALES**

Cette partie a pour but de présenter brièvement les espèces disponibles pour les praticiens, aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, ainsi que les critères permettant de guider le choix vers l'utilisation d'une espèce donnée.

Ces principales espèces seront ensuite décrites d'un point de vue écologique, anatomo-physiologique et comportemental. Une importance particulière sera donnée au comportement alimentaire et à la physiologie digestive de la sangsue, qui sont les éléments qui conditionnent leur utilisation thérapeutique.



## I. **ESPÈCES UTILISABLES EN THÉRAPEUTIQUE**

---

### A. **Taxonomie** [32, 34, 59, 136]

Les sangsues appartiennent à l'embranchement des Annélides : ce sont des vers annelés à symétrie bilatérale, possédant un corps métamérisé de façon homonome. Elles sont triblastiques, coelomates avec un système circulatoire clos.

Elles appartiennent à la classe des Clitellates. En ce sens, elles présentent un *clitellum*, structure anatomique intervenant dans la ponte. Une autre caractéristique de cette classe est l'absence de parapodes et de soies. De plus, le nombre de métamères est fixe et il existe une annulation externe qui n'est pas le reflet de la segmentation interne vraie du corps des sangsues. Les Clitellates présentent deux ventouses ventrales aux deux extrémités du corps.

Au sein des Clitellates, les sangsues appartiennent à l'ordre des Arhynchobdellidés. En effet, elles présentent en partie crâniale du corps une structure semblable à une mâchoire et n'ont pas de *proboscis*.

Les sangsues médicinales font partie du sous-ordre des Hirudiniformes : la mâchoire est le support de dents. Parmi les Hirudiniformes, les sangsues utilisées en médecine humaine sont de la famille des hirudinidés : leur mâchoire est développée et leur appareil digestif présente une organisation particulière que nous développerons ultérieurement.

## **B. Principales espèces de sangsues utilisables en thérapeutique**

### **1. Facteurs influençant le choix des espèces**

#### **a) Critères anatomo-physiologiques**

Il existe près de 700 espèces de sangsues connues mais seulement certaines d'entre elles sont employées à des fins médicales. Sont utilisées seulement des espèces hématophages, avec une mâchoire de taille assez importante pour pouvoir traverser la peau et atteindre les vaisseaux sanguins du patient. Il est également nécessaire que la salive sécrétée ait des propriétés intéressantes. Ces différentes caractéristiques recherchées sont présentes chez certaines sangsues de la famille des Hirudinidés.

#### **b) Disponibilité des espèces**

- **Critère géographique**

Historiquement, les sangsues étaient prélevées directement dans le milieu naturel, où elles étaient présentes en quantité abondante, pour utilisation ultérieure chez le patient. Le choix des espèces employées est encore aujourd'hui lié à la localisation géographique des thérapeutes.

En Asie, la principale espèce autochtone d'intérêt médical est *Hirudinaria manillensis*. En Europe, les espèces natives sont *Hirudo medicinalis*, et *Hirudo verbana*, une espèce apparentée originaire d'Europe de l'Est. Enfin, en Amérique du Nord, on trouve également *Hirudo medicinalis*, ainsi que *Macrobdeella decora*, autre espèce naturellement présente qui est potentiellement utilisable en thérapeutique.

- **Critère réglementaire**

L'usage massif d'*Hirudo medicinalis* et *Hirudo verbana* au cours des siècles précédents en Europe, sans mesure de contrôle et de réglementation du prélèvement de ces sangsues dans leur milieu naturel, ainsi que la destruction progressive de leur habitat, a entraîné

leur quasi extinction. A l'heure actuelle, l'approvisionnement des praticiens en individus appartenant à ces deux espèces ne peut plus se faire directement dans le milieu naturel, leur capture étant interdite. En effet, ces deux espèces sont concernées par plusieurs textes réglementaires (cf infra).

▲ Au niveau mondial

*Hirudo medicinalis* et *Hirudo verbana* sont inscrites à l'annexe II de la Convention sur le commerce international des espèces en danger de la faune et de la flore sauvage depuis 1987 [157]. La figuration dans cette Annexe impose un permis pour l'exploitant afin que les sangsues puissent passer les frontières, ces dernières étant considérées comme potentiellement menacées d'extinction.

▲ Au niveau européen

*Hirudo medicinalis* est listée en Annexe III de la Convention de Berne de 1982 (Convention pour la protection de la vie sauvage et des habitats naturels en Europe) [159], ainsi qu'à l'Annexe V de la Directive 92/43/CEE du Conseil du 21 mai 1992 sur la conservation des habitats naturels et de la faune et flore sauvage [30]. A ce titre, son exploitation est réglementée au niveau européen, de même que le prélèvement d'individus dans le milieu naturel. *Hirudo medicinalis* fait également partie des espèces figurant sur la liste rouges des invertébrés de l'IUCN avec le statut « presque menacé » depuis 1996 [163].

▲ Au niveau national

Il n'y a pas réglementation nationale spécifique relative aux sangsues en France. La loi relative à la protection de la nature s'applique néanmoins. Ainsi est interdite l'introduction d'espèces non autochtones dans le milieu naturel. De plus, sont soumis à autorisation la production, la détention, l'utilisation, le transport, l'importation et l'exportation de tout ou partie et produits de spécimens des espèces menacées d'extinction.

- **Existence d'hirudiculteurs**

L'approvisionnement en sangsues par les praticiens peut se faire par le biais de laboratoires spécialisés en hirudiculture, notamment pour les espèces du genre *Hirudo* soumises à réglementation.

En France, il existe un unique laboratoire spécialisé en hirudiculture : Ricarimpex, qui commercialise *Hirudo medicinalis*, essentiellement en Europe et aux Etats-Unis [173]. Un autre hirudiculteur important en Europe, Biopharm Leeches U.K., commercialise les espèces *Hirudo medicinalis* et *verbana*, ainsi que la sangsue médicinale asiatique *Hirudinaria manillensis*, mais ne possède pas de succursale en France [154]. Aux Etats-Unis, les laboratoires Leeches USA Ltd. Mettent à disposition des praticiens uniquement *Hirudo medicinalis* [165].

Le choix de ces laboratoires concernant les différentes espèces qu'ils commercialisent est en relation avec les données scientifiques recueillies en termes d'efficacité et de propriétés biologiques intéressantes.

### c) **Disponibilités de données scientifiques**

La sangsue médicinale européenne *Hirudo medicinalis*, sangsue médicinale historique, est l'espèce qui fait l'objet du plus de publications scientifiques à l'heure actuelle, concernant notamment les propriétés de sa salive.

Sidall et ses collaborateurs ont cependant démontré en 2007 que les sangsues commercialisées de nos jours en Europe appartenaient à l'espèce *Hirudo verbana* et non à l'espèce *Hirudo medicinalis*, qui lui est morphologiquement très proche [123]. Cette affirmation se vérifie certainement depuis de nombreuses années. En effet, étant donnée la quasi extinction d'*Hirudo medicinalis*, il est fort probable que les sangsues utilisées pour la reproduction par les hirudiculteurs devaient appartenir à l'origine à l'espèce *Hirudo verbana*. Ainsi, nous pouvons supposer que la majorité des études publiées par les auteurs sur *Hirudo medicinalis* au cours des deux dernières décennies portent en réalité sur *Hirudo verbana*. Nous considérerons donc dans la suite de ce travail que les publications traitant d'*Hirudo medicinalis* sont susceptibles de traiter d'*Hirudo verbana*, même si dans chaque cas nous garderons la dénomination d'espèce donnée par l'auteur.

Enfin, une autre espèce, la sangsue médicinale nord-américaine *Macrobdella decora* est de plus en plus étudiée.

## **2. Bilan des principales espèces utilisées chez l'homme**

En prenant en considération tous les facteurs influençant le choix des praticiens, les espèces les plus utilisées sont *Hirudo verbana* en Europe et en Amérique du Nord, et dans une bien moindre mesure *Macrobdella decora* en Amérique du Nord.

### **C. Principales espèces utilisables en médecine vétérinaire**

Deux possibilités s'offrent aux vétérinaires, quant à la nature des espèces utilisables. En effet, ces derniers peuvent se tourner soit vers les espèces utilisées en médecine humaine, soit vers des espèces de sangsues parasites naturelles des espèces qu'ils se destinent à traiter.

Comme en médecine, il convient d'utiliser des espèces possédant une mâchoire assez puissante pour traverser la peau et atteindre les vaisseaux sanguins. Ce point est d'autant plus important que l'épaisseur de peau à traverser avant d'atteindre les vaisseaux sanguins augmente. Il convient de noter que l'épaisseur à traverser est variable selon l'espèce, la région du corps, la race ou le sexe de l'individu à traiter.

Ainsi, l'espèce *Haemopsis sanguisuga*, couramment appelée « sangsue chevaline » ne peut pas être employée. En effet, sa mâchoire trop peu développée ne lui permet pas de traverser la peau. Quant à la « sangsue du cheval », *Limnatis nilotica*, elle ne s'attaque qu'aux zones muqueuses [51], ce qui impliquerait de s'en servir uniquement en pourtour des orifices naturels.

Une espèce à la mâchoire suffisamment développée est *Hirudo verbana*, que nous conseillons d'employer en médecine vétérinaire, pour les mêmes raisons qui justifient son utilisation majoritaire en médecine. Cependant, il convient de souligner que l'usage d'*Hirudo verbana* en médecine et chirurgie vétérinaires est peu documenté, aussi la justification scientifique de l'emploi de cette espèce est essentiellement basée sur des données précliniques ou sur des études cliniques réalisées sur l'homme.



En conclusion, nous nous intéresserons dans la suite de ce travail aux espèces *Hirudo medicinalis* et *Hirudo verbana* principalement. Il sera fait référence à *Macrobdella decora* quand cela sera nécessaire.

## **II. BIOLOGIE DES SANGSUES**

---

### **A. Morphologie générale**

#### **1. Taille**

Les espèces du genre *Hirudo* que nous avons choisi de considérer ont une longueur de l'ordre de la dizaine de centimètre, variable selon l'état d'étirement du corps pendant la locomotion. Le diamètre de ces espèces est d'1 cm environ. Elles pèsent entre 1 et 2 grammes [29]. *Macrobdella decora* peut atteindre une longueur de 1,5 cm [158].

Il convient cependant de noter que, quelle que soit l'espèce considérée, les dimensions varient énormément avec la prise alimentaire puisque les sangsues peuvent ingérer une quantité de sang correspondant à près de 10 fois leur propre masse [29].

#### **2. Forme**

Le corps est cylindroïde, à symétrie bilatérale, et est légèrement aplati dorso-ventralement. Il ne comporte pas d'appendices locomoteurs et présente une annulation visible extérieurement.

#### **3. Régions du corps**

Le corps est formé d'une succession de métamères, chaque métamère étant composé par un nombre fixe d'anneaux visibles extérieurement (5 chez *Hirudo medicinalis*) [47]. Le corps peut être divisé selon les régions décrites ci-dessous pour *Hirudo medicinalis*.

**a) Région céphalique**

Cette région formée de 4 métamères (métamères I à IV) est la plus crâniale. Ventralement au niveau de cette région se trouve une ventouse crâniale, perforée par la bouche. Cette ventouse intervient dans la locomotion et la prise de repas sanguins. De plus, la région céphalique accueille dorsalement des ocelles, à raison d'une paire par métamère [47].

**b) Région préclitellienne**

Située directement caudalement à la région céphalique, c'est une région courte (métamères V à VIII) en regard de laquelle sont situées intérieurement des glandes salivaires et des structures nerveuses : les ganglions cérébroïdes [47].

**c) Région clitellienne**

Cette région s'étend des métamères IX à XI et est peu marquée. Elle comporte les gonopores ventralement et est seulement visible en période d'activité sexuelle, puisque c'est au niveau de cette zone que s'effectuent l'accouplement et la ponte. Chez *Macrobodella decora*, 4 glandes copulatoires externes sont présentes sur la face ventrale, caudalement au gonopore femelle [158].

**d) Région moyenne**

Cette région située postérieurement au *clitellum* (métamères XII à XXVI), contient les principaux viscères dont la majeure partie de l'appareil digestif.

**e) Région postérieure**

Cette région correspond à une puissante ventouse caudale (métamère XVIII à XXXIII), qui est la plus volumineuse des deux ventouses. L'anus s'ouvre dorsalement à cette ventouse.

#### 4. Pigmentation tégumentaire

La pigmentation est variable selon les espèces et peut servir de critère de diagnose.

##### a) *Hirudo medicinalis* [131]

La coloration de la face dorsale est marron à vert olive (figure 1). Des tâches noires de forme allongée forment quatre stries longitudinales. Tout d'abord, deux stries sont visibles paramédialement, globalement orangées et ponctuées par de petites taches noires. Les deux autres stries sont plus latérales et sont constituées par des taches noires de taille plus importante que pour les stries paramédiales.

La face ventrale est jaune à verdâtre, ponctuée de taches sombres à disposition serpentiforme.

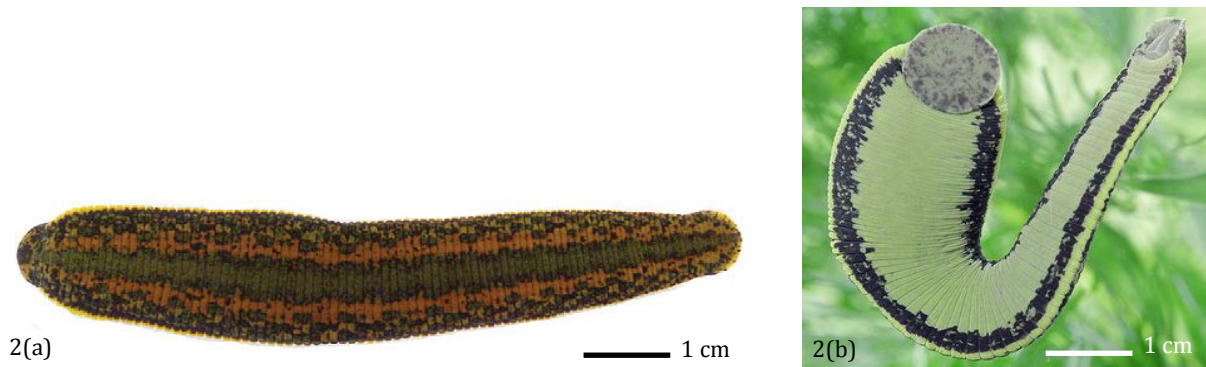


**Figure 1 :** Vues externes d'*Hirudo medicinalis* - (a) *Hirudo medicinalis* adulte, vue externe dorsale, ventouse caudale à gauche (Source : [123]) - (b) *Hirudo medicinalis* adulte, vue externe ventrale de la moitié crâniale du corps, ventouse caudale à droite (Source : [168])

##### b) *Hirudo verbana* [131]

La coloration de la face dorsale est marron à vert olive avec des reflets orangés (figure 2). *Hirudo verbana* se distingue d'*Hirudo medicinalis* par ses stries dorsales. En effet, la face dorsale d'*Hirudo verbana* ne laisse apparaître que deux stries de couleur orangée, ponctuées de petites taches noires. Ces stries sont plus larges et ont un contour plus diffus que celles portées par *Hirudo medicinalis*.

Comme pour *Hirudo medicinalis*, la face ventrale est jaune à verdâtre avec deux bandes vert olive latéralement. Cependant, chez *Hirudo verbana*, cette zone pâle n'est pas ponctuée par des tâches sombres.

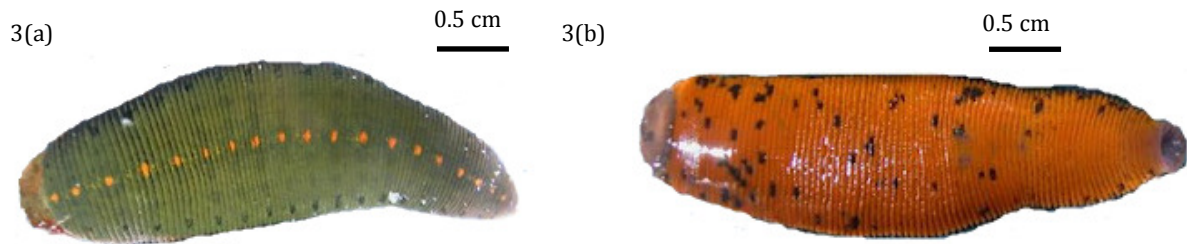


**Figure 2 :** Vues externes d'*Hirudo verbana* - (a) *Hirudo verbana* adulte, vue externe dorsale, ventouse caudale à gauche (Source : [123]) - (b) *Hirudo verbana* adulte, vue externe ventrale, ventouse caudale à gauche (Source : [150])

c) *Macrobdella decora*

La face dorsale est verdâtre et comporte trois lignes longitudinales formées de tâches punctiformes espacées tous les cinq anneaux visibles extérieurement : une ligne médiale formée de tache rouges et deux lignes latérales formées de taches punctiformes noires (figure 3).

La face ventrale est orangée et parsemée de taches noires punctiformes à disposition irrégulière.



**Figure 3** : Vues externes de *Macrobdella decora* - (a) *Macrobdella decora* adulte, vue externe dorsale, ventouse caudale à gauche (modifié d'après [176]) - (b) *Hirudo verbana* adulte, vue externe ventrale, ventouse caudale à gauche (modifié d'après [176])

## B. Ecologie

### 1. Milieu de vie naturel

Les sangsues médicinales sont des parasites temporaires dulçaquicoles [47]. Bien qu'elles soient aujourd'hui peu abondantes dans le milieu naturel, on les trouve surtout dans les eaux calmes ou stagnantes : dans les étangs, les mares ou les fosses. Ces points d'eau doivent être fréquentés par des proies potentielles et les berges doivent accueillir de la végétation aquatique en quantité suffisante pour le dépôt des cocons [13]. Les sangsues doivent également avoir la possibilité de s'enterrer quand la température est trop extrême [32].

La température et l'acidité des eaux sont des facteurs limitants pour les milieux aquatiques que les sangsues médicinales sont en mesure de peupler [47]. En effet, ces dernières ont besoin d'une température élevée, aux alentours de 20°C pour arriver à maturité à l'âge de deux ans [26, 32] et aux alentours de 25 ° pour que les cocons soient déposés. En dehors de la période de ponte, les sangsues adultes peuvent peupler des eaux avec une température inférieure, mais leur activité est fortement diminuée. Si la température est trop basse les sangsues s'enterrent dans la tourbe ou la vase [32, 127].

## 2. En élevage

Les sangsues peuvent être élevées soit en bassin naturel, soit directement en laboratoire.

### a) **Élevage en bassin reconstitué** [171]

Cette technique est la méthode d'élevage traditionnelle. Cet élevage est difficile car les bassins doivent posséder les caractéristiques indiquées précédemment, à savoir : une végétation aquatique dense, un milieu aquatique constitué d'eau avec un pH proche de la neutralité, avec une bonne qualité bactériologique et à température suffisamment élevée, de niveau constant pour éviter la destruction des cocons. De plus, des îlots doivent être aménagés au niveau de ces bassins pour que les sangsues pondent, ces dernières ne pondant jamais dans l'eau. De tels bassins peuvent accueillir plusieurs centaines de milliers d'individus mais les pertes sont grandes, puisque seulement 1 sangsue sur 10 atteint l'âge adulte.

### b) **Élevage en laboratoire** [172]

L'élevage en laboratoire est la mode d'élevage privilégié, étant donné qu'il permet un bien meilleur suivi de la qualité des sangsues commercialisées par la suite. Les sangsues y sont élevées en bocaux, et séparées par classe d'âge et de stade physiologique. Ainsi les sangsues gravides sont déposées à l'obscurité dans des bocaux contenant de la tourbe afin d'y déposer leurs cocons. Les cocons près à éclore sont placés dans des bocaux séparés au fond tapissé de cailloux.

L'eau utilisée pour le maintien des sangsues ne doit être ni trop calcaire, ni trop chlorée ; l'eau du robinet est donc à proscrire. L'eau la plus communément utilisée est une eau à laquelle un oxydant comme le permanganate de potassium a été ajouté.

Les sangsues sont capables de survivre plusieurs jours hors de l'eau, sur un support humide. Cette caractéristique est utilisée pour l'acheminement des sangsues aux praticiens, qui se fait par boîtes de polystyrène contenant des cotons humides.

## C. Alimentation

### 1. Comportement alimentaire

#### a) Régime alimentaire

- **Proies naturelles**

- ▲ Jeunes sangsues

Les jeunes sangsues des genres *Hirudo* ne sont pas hématophages. Elles se nourrissent des larves d'insectes, de têtards ou de jeunes tritons. Au fur et à mesure de leur croissance, elles passent à un régime alimentaire hématophage. Ainsi les sangsues plus âgées se nourrissent de sang d'hôtes vertébrés, avec une palette d'hôtes potentiels relativement large : crapauds, grenouilles, tritons mais pas encore de sang de mammifères tant que les mâchoires ne présentent pas un développement suffisant. Les repas sanguins sur hôtes mammifères sont par ailleurs ceux qui permettent d'atteindre la maturité le plus rapidement [32].

- ▲ Sangsues adultes

Une fois arrivées à maturité, les *Hirudo* adultes se nourrissent préférentiellement de sang de mammifères : bovins, chevaux, cerfs, hommes... Cependant, ces sangsues peuvent se contenter de sang d'oiseaux, d'amphibiens ou de poissons [32].

Les seules sangsues d'intérêt pour les thérapeutes seront donc des sangsues d'âge et donc de taille suffisamment importante, qui sont les seuls individus hématophages aux dents assez puissantes pour dilacérer la peau des mammifères.

- **Alimentation en élevage**

Du temps où l'hirudiniculture était développée dans les marais en France, l'une des méthodes utilisées pour nourrir les sangsues en croissance consistait à faire pénétrer un

grand mammifère type bœuf ou cheval dans le bassin afin que les sangsues viennent s'y fixer en masse pour prendre leur repas.

Hormis le problème éthique posé par la mort par exsanguination massive du mammifère sacrifié, cette méthode ancienne pouvait être à l'origine de la contamination des sangsues par des agents zoonotiques contenus dans le sang de leur hôte, transmissibles ensuite au patient au cours d'une utilisation thérapeutique. C'est pour cela qu'aujourd'hui, en Europe et en Amérique du Nord, les sangsues sont nourries en conditions contrôlées, à base du sang d'animaux dont l'origine est certifiée, afin de fortement limiter le risque infectieux.

Par exemple, pour nourrir ses sangsues en laboratoire, Ricarimpex utilise du sang de volaille provenant d'animaux abattus de façon réglementaire, et donc soumis à un contrôle vétérinaire. Ce sang est chauffé à une température avoisinant les 35°C. Le sang de volaille est ici préféré au sang de mammifères afin de minorer le risque zoonotique, notamment concernant les prions. La prise en compte du risque infectieux se fait par des analyses régulières du sang utilisé.

Les sangsues commercialisées sont des sangsues qui jeûnent depuis au moins trois mois, afin que celles-ci soient suffisamment voraces et que leurs stocks de protéines salivaires aient le temps de se reconstituer de façon optimale [173].

## **b) Capacité d'ingestion**

*Hirudo medicinalis* adulte consomme un volume sanguin équivalent à 9 fois son poids corporel au cours d'un repas, en 30 minutes, soit 10 à 20 millilitres de sang pour une sangsue de taille moyenne [77]. Un repas sanguin est donc relativement long et la quantité de sang ingérée par la sangsue, relativement à son poids corporel est importante.

## **c) Rythme des prises alimentaires et période de satiété**

Etant donné qu'elle ingère un volume conséquent, *Hirudo medicinalis* reste dans un état de satiété pour une durée pouvant aller jusqu'à un an. Les sangsues rassasiées se



reconnaissent par leur taille plus importante et par le fait qu'elles ont moins tendance à se déplacer.

Cette période de satiété se caractérise par un comportement différent des sangsues : elles ne cherchent pas à se nourrir donc ne cherchent pas à mordre et ont tendance à fuir les sources de chaleur [77]. L'existence de cet intervalle de temps où le comportement ingestif est réduit a deux implications principales pour l'utilisation d'*Hirudo medicinalis* en thérapeutique : tout d'abord, les sangsues se trouvant dans leur période de satiété ne seront pas intéressantes à utiliser en thérapeutique puisque n'ayant pas propension à mordre. Par ailleurs, la réutilisation immédiate de sangsues venant de prendre un repas pour un même patient ne sera pas possible. Cela nécessite donc d'avoir des sangsues en nombre suffisant, et n'ayant pas pris de repas depuis plusieurs mois. Pour faire face à ce problème, les hirudiniculteurs garantissent qu'avant leur acheminement, les sangsues soient à jeun depuis suffisamment longtemps, 3 mois en ce qui concerne Ricarimpex [173].

#### **d) Régulation de la prise alimentaire**

- **Structures impliquées**

Chez *Hirudo medicinalis*, le contrôle du comportement d'ingestion est sous le contrôle de neurones sérotoninergiques périphériques prenant naissance au niveau des ganglions rostraux : les cellules RZ (Retzius) et les cellules LL (Lateral Large). Ces neurones sont des neurones effecteurs notamment des muscles pharyngiens [49]. Lorsque ces neurones sont stimulés, la prise alimentaire est favorisée, via une augmentation du péristaltisme pharyngien et de la fréquence des morsures [29].

- **Stimuli à l'origine d'une morsure**

Différents facteurs interviennent dans le déclenchement d'une morsure par *Hirudo medicinalis*. Les stimuli déclencheurs peuvent être chimiques ou thermiques.

En effet, la mise en contact de la ventouse crâniale avec un support à température élevée, comprise entre 35 et 40°C, donc proche de la température des mammifères,

augmente considérablement la fréquence des morsures [29] Concernant les stimuli chimiques, un mélange d'arginine et de chlorure de sodium favorise l'ingestion [49].

- **Stimuli signant la fin du repas sanguin [77]**

En 1987, Lent et Dickinson se sont intéressés aux stimuli responsables de la fin d'un repas de sang par *Hirudo medicinalis*. En ce sens, ils ont évoqué différentes causes potentielles pour l'arrêt de l'ingestion : la distension corporelle engendrée par le volume important ingéré, la fatigue musculaire au niveau de la mâchoire ou du pharynx, l'incapacité de la ventouse crâniale à supporter le poids de la sangsue, la libération d'un composé produit pendant la digestion du sang agissant comme un signal chimique. En insérant une canule au niveau de l'intestin des sangsues afin de faire varier le volume intestinal, ils ont montré que l'ingestion cessait lorsque l'intestin était suffisamment distendu, et ce indépendamment de la présence d'une blessure chez la sangsue. Lorsque la distension est peu importante, elle est responsable d'une diminution de la fréquence des morsures par la sangsue. Une sangsue ayant déjà ingéré quelques grammes de sang, sera donc beaucoup moins vivace et donc moins facile à utiliser en thérapeutique.

En parallèle, les auteurs n'ont montré d'influence, ni de la fatigue musculaire, ni de la présence d'une incapacité de la ventouse crâniale à soutenir la masse accrue de l'animal au cours d'un repas, ni de rôle éventuel d'un produit de la digestion.

Par mesure électrophysiologique dans le ganglion rostral, au niveau des cellules LL et RZ, ils ont montré qu'une distension était à l'origine d'une inhibition des cellules RZ et LL via le cordon nerveux ventral, et ce malgré la mise en contact de la ventouse de la sangsue avec une source de chaleur.

## 2. **Comportement préprandial**

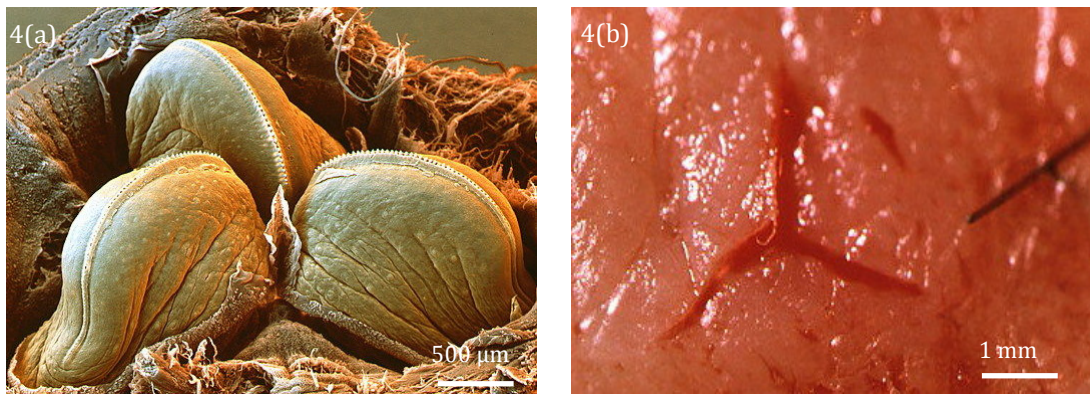
Les sangsues affamées sont sensibles aux ondes vibratoires créées par les mouvements d'un éventuel hôte dans l'eau. Dès qu'elles perçoivent ces vibrations, les sangsues se déplacent rapidement en direction de la source des vibrations [32]. Les sangsues non affamées en revanche vont rester relativement immobiles.

Une fois au contact de l'hôte, la sangsue va le mordre, stimulée par les facteurs indiqués précédemment.

### 3. Phase bucco-pharyngée de la digestion

#### a) **Mâchoire et morsure**

*Hirudo verbana* et *Macrobdella decora* présentent une cavité buccale au niveau de leur ventouse crâniale, se terminant par trois mâchoires : une première dorso-médiale, et deux autres ventro-latérales (figure 4). Chaque mâchoire a une structure rigide et mesure 1mm de haut pour près de 2mm de long, et 1mm de large. Chacune est le support d'une soixantaine de denticules alignées formées de calcite, d'une taille de quelques dizaines de microns [100]. L'incision de la peau s'opère par un mouvement de cisaillement des mâchoires et aboutit à l'apparition d'une plaie de morsure de forme caractéristique en « Y » au niveau de la peau de l'hôte [47].

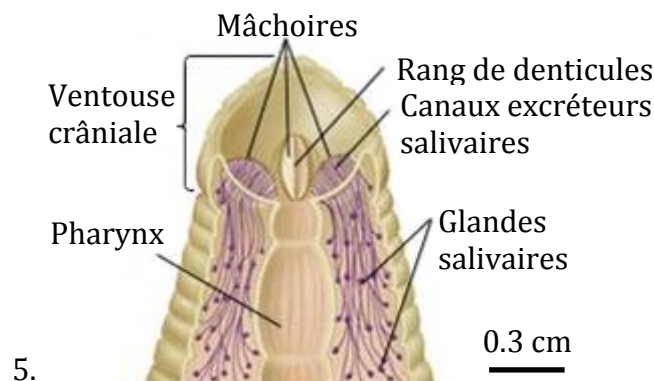


**Figure 4:** Mâchoire et morsure - (a) Mâchoire d'*Hirudo verbana* vue par SEM coloré (Source : [174]) - (b) Plaie de morsure en « Y » chez un homme due à *Hirudo verbana* (Source : [175])

## b) Insalivation

- **Glandes salivaires**

Les glandes salivaires sont situées dans la région du pharynx chez *Hirudo medicinalis* et *Macrobdella decora*, entre les métamères V et XI. Ces glandes sont multiples (de l'ordre de 2000 chez *Hirudo medicinalis*), unicellulaires, d'une taille inférieure à 200  $\mu\text{m}$  [88]. Elles sont de forme ovoïde et sont disposés au sein des fibres musculaires pharyngiennes (figure 5). Chacune des glandes émet un prolongement cytoplasmique permettant l'excrétion de salive [47]. En regard de la mâchoire, les prolongements cytoplasmiques se regroupent pour former des canaux excréteurs [88]. Ces canaux s'abouchent à la base des denticules, à raison d'un abouchement latéral par paire de denticules [100].



**Figure 5 :** Représentation schématique de la disposition des glandes salivaires chez *Hirudo medicinalis* (modifié d'après [161])

L'insalivation est sous la dépendance des cellules RZ et LL, et est stimulée lors de l'excitation de ces dernières par les stimuli chimiques et thermiques régissant le comportement d'ingestion [88].

- **Rôle de la salive**

La salive ne contient pas d'enzymes digestives en quantité importante, son rôle ne semble pas majeure dans le processus de digestion [119].

Cependant, la salive d'*Hirudo* et *Macrobdella* contient un anticoagulant puissant : l'hirudine, qui permet d'éviter la formation de caillots sanguins au niveau du site de morsure, et donc un flux continu de sang dans la cavité buccale de la sangsue pendant toute la durée de son repas sanguin. Ces propriétés anticoagulantes de la salive sont les propriétés recherchées en thérapeutique.

De plus, plusieurs autres composés d'intérêt médical ont été identifiés dans la salive d'*Hirudo medicinalis*, que nous évoquerons ultérieurement dans la suite de ce travail.

Il convient de noter que la composition de la salive est variable en fonctions des saisons [12].

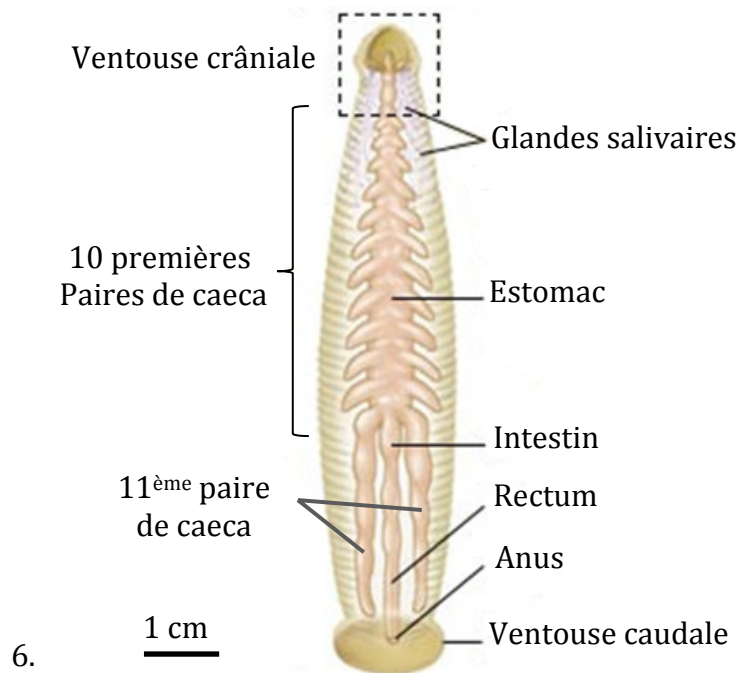
- c) **Passage du sang vers le secteur gastrique**

Le sang passe de la cavité buccale à l'estomac, grâce au péristaltisme pharyngien, visible extérieurement [76]. En effet, la contraction des puissants muscles pharyngiens permet de créer une dépression, à l'origine de l'aspiration du sang vers l'estomac, par le biais d'un court œsophage.

#### 4. **Phase gastro-intestinale de la digestion**

- a) **Anatomie digestive [47]**

L'appareil digestif d'*Hirudo medicinalis* est disposé dorsalement et présente une organisation segmentaire (figure 6).



**Figure 6** : Schéma de l'anatomie digestive d'*Hirudo medicinalis* (modifié d'après [161])

- **Estomac**

L'œsophage s'abouche au niveau d'un estomac, formé d'un canal central d'orientation crânio-caudale. Au cours de sa progression, ce canal stomacal donne sur une série de paires d'évaginations segmentaires : les cæca. Ces paires de cæca sont au nombre de 11. Les 10 paires les plus crânielles sont de longueur croissante mais restent peu volumineuses, ovalaires, à orientation médio-latérale. La 11<sup>ème</sup> paire atteint une longueur équivalente au tiers de la longueur corporelle totale et a une orientation crânio-caudale, chaque cæcum étant disposé latéralement à l'intestin. Des sphincters sont présents à l'entrée de chaque cæcum. L'estomac se prolonge par l'intestin, duquel il est séparé par un sphincter pylorique.

- **Intestin**

L'intestin est court : il n'occupe que le tiers caudal du corps. C'est un organe rectiligne à disposition médiale. Latéralement à l'intestin se trouve la 11<sup>ème</sup> paire de cæca

gastriques, à raison d'un cæcum de part et d'autre de l'intestin. Il se prolonge par le rectum, au niveau d'un rétrécissement en forme de S, qui lui-même débouche sur l'anus dorsalement à la ventouse caudale.

- **Glandes digestives annexes**

Les sangsues ne possèdent pas de glandes digestives annexes.

## **b) Physiologie digestive**

- **Présence de microorganismes symbiotiques**

- ▲ *Importance des microorganismes symbiotiques*

- (i) *Apport d'enzymes digestives exogènes*

Un des rôles de ces microorganismes est de participer à la digestion du repas sanguin. En effet, le tube digestif des sangsues est pauvre en enzymes digestives endogènes : ce dernier comporte seulement quelques endopeptidases mais pas de lipases, carbohydrases ni endopeptidases endogènes. Ce manque d'équipement enzymatique est compensé par la présence de bactéries symbiotiques  $\beta$ -hémolytiques dans le tube digestif des sangsues, qui produisent des lipases et des endopeptidases notamment [118].

- (ii) *Protection*

Le rôle de ces bactéries, en plus de fournir l'équipement enzymatique nécessaire au métabolisme digestif de la sangsue, serait également de sécréter des facteurs antimicrobiens, empêchant la putréfaction du sang durant son stockage dans les cæca, qui peut durer plusieurs mois [118]. La sécrétion de ces antibiotiques naturels permet aussi le maintien de la spécificité microbienne du tube digestif de la sangsue, empêchant ainsi la colonisation par des espèces de bactéries pathogènes [144].

### (iii) *Apport de nutriments*

Les bactéries symbiotiques du tube digestif des sangsues produisent des composés qui s'avèrent être des nutriments essentiels pour ces dernières, comme les vitamines B, qui sont en quantité très faible dans le sang consommé [71].

#### ▲ *Espèces bactériennes symbiotiques chez Hirudo verbana*

Chez *Hirudo verbana*, le nombre d'espèces hébergées dans le tube digestif qui ont été mises en évidence est restreint. La première espèce qui a été identifiée est *Aeromonas veronii biovar sobria*. Cette espèce synthétise une hémolysine dans le contenu stomacal, à l'origine de la libération d'hémoglobine [85]. Grâce aux progrès effectués dans les méthodes d'identification bactérienne, une bactérie très proche de *Rickiella microfusus* (appartenant au phylum des *Bacteroidetes*), non cultivable, a pu être identifiée dans l'estomac d'*Hirudo verbana* par PCR [144].

Chez *Macrobdella decora*, c'est *Aeromonas jandaei* qui est la bactérie symbiotique digestive majoritaire [122].

#### • **Physiologie digestive au niveau des cæca gastriques**

##### ▲ *Déshydratation et stockage*

Au fur et à mesure que le repas sanguin s'effectue, le sang est acheminé dans les cæca gastriques. A leur niveau, le sang subit une déshydratation rapide et des remaniements électrolytiques faisant intervenir les néphridies [119]. Ce phénomène est visible extérieurement alors que la sangsue est encore en train de prendre son repas sanguin : la sangsue produit une quantité importante de liquide qui est émis par les néphridiopores. Ces néphridiopores correspondent aux orifices des appareils excréteurs segmentaires que constituent les néphridies entre les métamères 6 et 22. Par ces orifices est éliminée l'eau excédentaire du sang ingéré, ainsi que les déchets dissous de l'organisme [47]. La majorité de l'élimination du plasma sanguin est effectuée en deux jours [119].



## ▲ Hémolyse

Un phénomène d'hémolyse s'instaure de façon très lente. Les érythrocytes sont progressivement dégradés sous l'effet des bactéries hémolytiques symbiotiques avec libération dans l'estomac des cristaux d'hémoglobine qu'ils contiennent. Plusieurs mois sont nécessaires pour que l'ensemble des érythrocytes soit dégradé [119].

- **Physiologie digestive au niveau de l'intestin**

Le contenu gastrique avec de l'hémoglobine en solution passe de façon progressive vers l'intestin, où a lieu la protéolyse de l'hémoglobine. L'hémoglobine y est dégradée en globine d'une part, et en hématine d'autre part. Seule la globine est métaboliquement utilisée, grâce aux exopeptidases endogènes des sangsues et aux endopeptidases symbiotiques. L'hématine est quant à elle dégradée, donnant lieu à la libération de fer, qui n'est pas utilisé par la sangsue. Ce fer est capturé par des cellules particulières circulant dans l'organisme : les cellules botrioides [47].

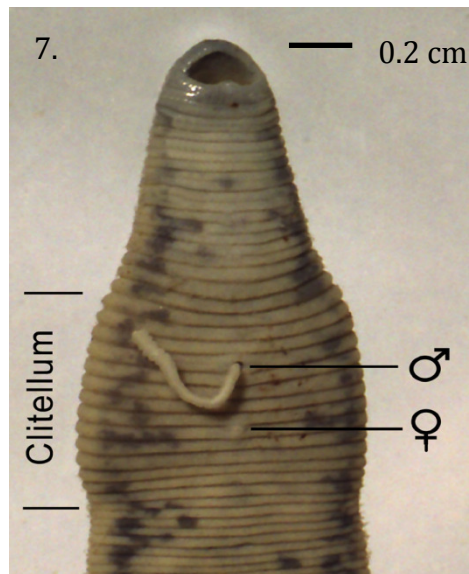
Une grande partie de la digestion a lieu alors que la sangsue est en période de satiété.

## D. Autres grandes fonctions biologiques

### 1. Reproduction

#### a) **Anatomie de l'appareil reproducteur**

Les sangsues étant des annélides, elles sont hermaphrodites. La reproduction est uniquement sexuée et les deux appareils génitaux ont un fonctionnement indépendant. Les sangsues étant des Clitellates, elles possèdent un organe particulier : le *clitellum*. Ce dernier correspond à une région du corps éclaircie et œdématiée dans le tiers crânial du corps en période de reproduction, au niveau duquel se trouvent les gonopores (figure 7) [31, 59, 121].



**Figure 7** : Face ventrale de la région clitellienne d'un *Hirudo verbana* adulte conservé dans l'alcool, ventouse crâniale en haut. Les gonopores mâles et femelle, ainsi que l'organe copulatoire mâle sont visibles (Source : [32])

- **Appareil reproducteur mâle**

L'appareil reproducteur mâle est formé de 9 paires de testisacs. Chaque testisac s'abouche dans un canal efférent. Les canaux efférents se rejoignent de chaque côté de la sangsue pour former deux canaux déférents communs droit et gauche, qui se terminent chacun par un épидидyme. Les deux épидидymes se prolongent par un canal éjaculateur, logés au sein d'un pénis filiforme. Au niveau de l'abouchement des épидидymes dans le canal éjaculateur se trouve la glande de Cowper, intervenant dans la sécrétion du sperme [47]. Le gonopore mâle se situe médialement et ventralement, au niveau du *clitellum*, entre le 24<sup>ème</sup> et le 25<sup>ème</sup> anneau externe, crânialement au gonopore femelle [38].

- **Appareil reproducteur femelle**

L'appareil génital femelle est moins développé que l'appareil génital mâle. Il est composé de 2 ovisacs globuleux s'abouchant sur deux oviductes. Les deux oviductes se rejoignent pour former un oviducte commun qui donne sur un vagin servant de réceptacle séminal

[47]. Le gonopore femelle est positionné ventralement au niveau du clitellum, postérieurement au gonopore mâle, entre le 29<sup>ème</sup> et le 30<sup>ème</sup> anneau externe [38].

## **b) Cycle de reproduction**

Dans le milieu naturel, les sangsues du genre *Hirudo* ont une reproduction saisonnée au printemps et en été [38], la durée de la période de reproduction étant sous la dépendance de la température des eaux. La maturité sexuelle se situe aux alentours de 2 ans [127]. De plus, pour entrer en période de reproduction, la sangsue doit être à un stade de digestion suffisamment avancé de son dernier repas sanguin [27].

L'autofécondation étant impossible, la reproduction s'effectue lors d'un accouplement d'une durée de plusieurs heures, sur la terre ferme, où les sangsues sont disposées tête bêche [38]. Les spermatozoïdes échangés au cours de l'accouplement sont stockés au niveau des réceptacles séminaux pendant plusieurs mois [32]. Malgré l'accouplement, la fécondation est externe avec un développement direct [38].

La ponte a lieu en été [32], jusqu'à neuf mois après la fécondation [127]. Elle se fait hors de l'eau et consiste en la formation de cocons contenant jusqu'à vingt jeunes [38] (figure 8). La ponte commence par la sécrétion d'un cylindre muqueux par des glandes cutanées se trouvant au niveau du clitellum, le tube entourant le corps de la sangsue au niveau des deux métamères qui constituent cette région. La sangsue se retire de ce fourreau à reculons, et y dépose ses propres ovules d'une part, et les spermatozoïdes de son partenaire stockés dans les réceptacles séminaux au moment de l'accouplement. Le tube muqueux se solidifie et sert de base au cocon. La fécondation a seulement lieu au sein de ce cocon [51]. Les deux extrémités du cylindre sécrété par le clitellum se bouchent, formant des opercules qui tombent au moment de la ponte. Une substance albumineuse sécrétée par un deuxième type de glandes clitellates sert de milieu nutritif pour le développement des jeunes. La sangsue sécrète ensuite un tissu spongieux : l'hirudoïne, avec lequel elle recouvre le cocon nouvellement formé [47]. L'éclosion a lieu au bout de 4 semaines post-ponte, sous la dépendance de la température [38].



**Figure 8** : Cocons d'*Hirudo verbana* - (a) cocons d'*Hirudo verbana* (Source : [154]) - (b) cocon d'*Hirudo verbana* éclos, contenant une quinzaine de jeunes (Source : [177])

## 2. Circulation

### a) **Anatomophysiologie vasculaire** [62]

Les sangsues ont un système circulatoire clos. *Hirudo medicinalis* possède 4 vaisseaux sanguins principaux : un vaisseau longitudinal dorsal, un vaisseau longitudinal ventral (contenant la chaîne nerveuse ventrale) et deux vaisseaux longitudinaux latéraux. Il n'y a pas de cœur différencié et ce sont les vaisseaux latéraux qui exercent une fonction contractile rythmique, responsable de l'acheminement du sang caudo-crânialement. Au niveau des vaisseaux latéraux, il existe un système de valves permettant d'éviter les reflux sanguins et d'irriguer ainsi les différents organes du corps. Le drainage du sang après irrigation des différents organes par le sang provenant des vaisseaux latéraux se fait cranio-caudalement par les vaisseaux longitudinaux dorsal et ventral.

### b) **Composition sanguine**

Le sang des sangsues étant très pauvre en érythrocytes, la majeure partie du pigment responsable du transport de l'oxygène, l'érythrocrurine, se retrouve sous forme dissoute dans le plasma [47]. L'hémolymphe des sangsues comporte des cellules

macrophage-like, ayant un rôle immunitaire par migration au sein du tube digestif [124]. Le sang des sangsues ne contient pas de fibrine et est incapable de coaguler [38].

### **3. Respiration**

Les sangsues ne présentent pas d'appareil respiratoire différencié. Les échanges gazeux se font directement dans l'eau par voie transcutanée. Le tégument est relativement fin : il est formé d'un derme, recouvert par un épiderme unistratifié. L'épiderme est lui-même recouvert par une cuticule qui se renouvelle au cours de mues régulières [47]. Le corps de la sangsue est parcouru par un fin réseau capillaire superficiel, surtout abondant à la face dorsale des animaux et au niveau duquel s'effectuent les échanges respiratoires.

Le renouvellement du milieu en oxygène se fait par le biais de mouvements ondulatoires du corps de la sangsue [38]. Les sangsues étant capables de fermentation anaérobie, elles peuvent survivre assez longtemps dans un milieu pauvre en oxygène [47].

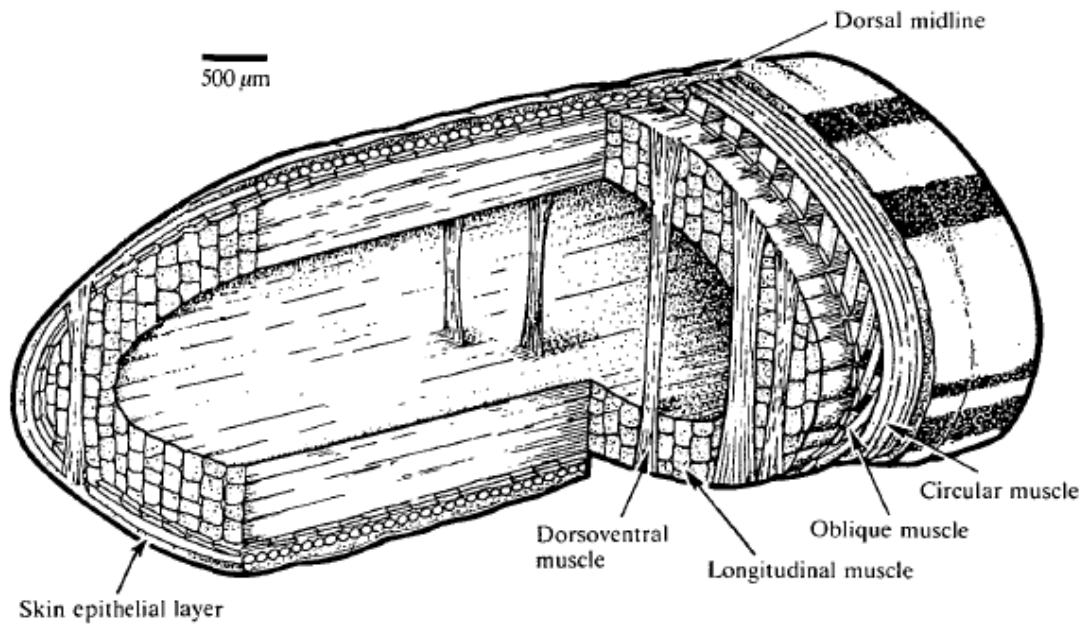
### **4. Locomotion**

#### **a) Organes de la locomotion**

- **Musculature**

Les sangsues sont des invertébrées donc elles sont dépourvues d'endosquelette osseux. Elles ne possèdent pas non plus d'exosquelette chitineux. Le soutien et la locomotion sont permis par un système musculaire puissant [38].

La musculature formant la paroi du corps est constituée de trois couches musculaires, qui se succèdent directement sous la peau (figure 9). La couche la plus externe est une couche circulaire. Elle est en contact avec un réseau de fibres obliques, elles-mêmes suivies par des fibres longitudinales en épaisseur plus importante. Des fibres dorso-ventrales sont également impliquées [114]. Quant au derme, il possède sa musculature propre.



**Figure 9** : Schéma de la disposition des principales couches musculaires chez *Hirudo medicinalis* (Source : [114])

- **Ventouses**

Les deux ventouses crâniale et caudale interviennent non seulement dans la prise alimentaire, mais également dans la locomotion par un phénomène de succion. La ventouse caudale est formée de fibres musculaires organisées en anneaux et contient de nombreuses glandes sécrétant un mucus collant. Ces deux éléments contribuent à l'adhérence de la sangsue sur un support. En ce qui concerne la ventouse crâniale, l'adhérence est permise grâce à la sécrétion de mucus par des glandes cutanées d'une part, mais aussi par la contraction des muscles buccaux pharyngés, à l'origine d'une dépression [47].

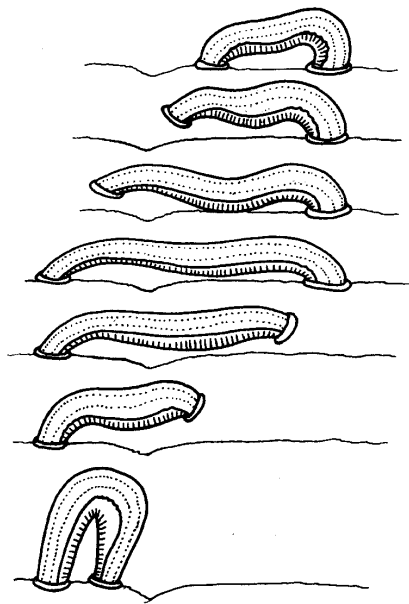
## b) Modes de locomotion

- **Nage**

La nage s'effectue par des mouvements ondulatoires dorso-ventraux de l'axe du corps et représente le principale mode de locomotion des sangsues médicinales que nous avons choisi de considérer [38]. Les mouvements ondulatoires sont également utiles à la respiration, en permettant un renouvellement de l'oxygène localement.

- **Mouvements hors de l'eau**

La locomotion est de type ressort élastique [136]. L'avancée se fait par alternance de fixation et détachement des ventouses, et de flexion/ extension du corps sur le support grâce à l'action combinée des muscles pariétaux (figure 10).



**Figure 10** : Représentation schématique du mode de déplacement de type ressort élastique d'*Hirudo medicinalis* (Source : [152])

## 5. Perception de l'environnement

### a) **Système nerveux central** [47]

Les particularités du système nerveux d'*Hirudo medicinalis* sont très bien connues, étant donné que cette espèce est utilisée comme modèle en neurosciences.

Crânialement, le système nerveux central est formé par des ganglions cérébroïdes, entourant le pharynx musculéux entre les 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> métamères. Ces derniers sont reliés ventralement par du tissu connectif à une masse sous-œsophagienne, responsable de l'innervation de la ventouse crâniale.

Le système nerveux central se prolonge ventralement et caudalement par un cordon nerveux longitudinal. Des ganglions sont segmentairement disposés le long de cette chaîne. A leur niveau naissent deux nerfs segmentaires : un nerf antérieur innervant la partie dorsale d'un segment, et un nerf postérieur innervant la partie ventrale du même segment.

La chaîne nerveuse se termine caudalement par une volumineuse masse ganglionnaire à proximité de la ventouse caudale.

### b) **Organes des sens**

- **Vue**

La vue est permise par le regroupement de cellules photoréceptrices en amas constituant des ocelles, visibles extérieurement au niveau de la région céphalique de la sangsue. Chez *Hirudo medicinalis*, ces ocelles sont au nombre de 5 paires, à raison d'une paire par métamère [47].

- **Tact**

C'est incontestablement le sens le plus développé chez la sangsue. En effet, cette dernière possède un ensemble de bourgeons tégumentaires spécifiques : les sensillas.



Ces sensillas apparaissent comme des petites tâches claires, à disposition régulière (un par métamère, pour les métamères situés au milieu du corps). Ces récepteurs interviennent dans la détection des vibrations de faible intensité et donc dans la détection des repas potentiels [41].

- **Autres sens**

La littérature donne peu d'informations concernant les autres sens, si ce n'est que la sangsue ne possède aucun organe macroscopique mis en évidence qui leur est spécifiquement dédié.

# PARTIE 2

---

## **MECANISMES A L'ORIGINE DE L'INTERET THERAPEUTIQUE DE L'HIRUDOTHERAPIE**

Les premières véritables études scientifiques concernant les mécanismes à l'origine des bienfaits de l'hirudothérapie datent de la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, où les propriétés anticoagulantes de la salive de sangsue ont été mises en évidence [57].

Bien que la sangsue ait un effet mécanique résultant de l'ingestion d'un volume donné, c'est sa salive qui constitue la base de son intérêt thérapeutique. En effet, cette dernière contient des dizaines de molécules actives dont seulement quelques-unes ont été clairement identifiées et décrites à ce jour [5]. Parmi ces composés, le plus célèbre est l'hirudine, acteur de l'incoagulabilité sanguine après une morsure de sangsue. Cependant, les propriétés anticoagulantes de la salive vont au-delà de cette simple action de l'hirudine, et d'autres protéines sécrétées dans la salive possèdent également une action à différentes étapes du processus d'hémostase.

Certaines molécules isolées dans la sécrétion de la sangsue présentent des caractéristiques n'ayant pas trait à la coagulation sanguine mais tout aussi intéressantes d'un point de vue thérapeutique. Ainsi, la salive des sangsues montre des propriétés analgésiques, anti-infectieuses, anti-inflammatoires et contient des agents facilitant la pénétration des autres substances actives salivaires.

Le but de cette partie est d'étudier, à travers les principales molécules impliquées, les différents mécanismes constituant l'intérêt des sangsues, aussi bien en médecine, qu'en médecine vétérinaire.



## **I. ACTION DÉCONGESTIONNANTE DE LA MORSURE DE SANGSUE**

Lors d'un repas sanguin, la sangsue exerce un effet ayant une composante mécanique en absorbant un volume sanguin de plusieurs millilitres. Dans une zone de stase veineuse, la sangsue aura ainsi un rôle décongestionnant, participant à la diminution de la pression veineuse et capillaire localement [139].

A cause du phénomène de succion lors de la prise alimentaire, une pression négative est créée au niveau du site de morsure. Cette diminution de pression locale permet un meilleur afflux sanguin artériel, effet qui s'ajoute au bénéfice représenté par la diminution de la stase veineuse. Ce rétablissement de la circulation artérielle permet un apport nutritif à la zone cutanée traitée ; les sangsues participant donc à limiter la mise en place d'un processus nécrotique [125].

Les sangsues contribuent activement à la reperfusion du tissu. Toutefois, le bénéfice n'est observé que très localement. Conforti et ses collaborateurs ont montré par mesure Doppler que la reperfusion se manifestait dans une zone de 1,6 cm de diamètre autour du site de morsure [24].

Le volume de sang ingéré par l'annélide au cours d'un repas sanguin varie de façon importante. Une étude sur modèle porcin de congestion veineuse a révélé un volume ingéré par sangsue entre 1 et 5mL, pour une moyenne de 2,45mL. Cette variabilité peut s'expliquer entre autres par les variations de taille des sangsues utilisées ainsi que par des différences dans leur état de satiété [24].

La sévérité d'atteinte circulatoire de la zone à traiter joue également un rôle primordial. En effet, si le flux artériel est fortement diminué, le volume de sang prélevé par la sangsue est plus faible que pour une zone correctement irriguée d'un point de vue artériel, pour un temps de pose similaire [120]. De plus, une insuffisance en apport sanguin artériel est à l'origine d'une diminution de température de la zone à traiter, ce qui n'est pas propice à une morsure de sangsue.

Après le détachement de l'annélide, un saignement prolongé persiste en provenance de la zone de morsure, pendant 24 à 48h [63]. Ce saignement participe largement à l'effet

décongestionnant puisque le volume de sang perdu par hémorragie est bien supérieur à celui ingéré par la sangsue. Les pertes sanguines prolongées sont permises par certains composants de la salive perturbant l'hémostase physiologique.

## **II. SALIVE DE LA SANGSUE ET COAGULATION SANGUINE**

---

Le saignement prolongé résultant d'une morsure de sangsue après son détachement est dû à la persistance chez l'hôte de composés salivaires à l'origine de la perturbation des mécanismes naturels de coagulation sanguine.

Nous allons expliquer par quels mécanismes la salive de sangsue maintient cet état d'incoagulabilité sanguine, mais dans un premier temps, il convient de faire quelques rappels quant à la physiologie de l'hémostase chez les mammifères.

### **A. Rappels physiologiques sur l'hémostase**

Lors d'une brèche vasculaire, une succession de mécanismes est mise en place par l'organisme afin d'arrêter le saignement. L'hémostase s'opère grâce à la succession de différentes étapes, à savoir :

- un temps d'hémostase primaire aboutissant à la formation d'un clou plaquettaire au niveau du site vasculaire lésé.
- un temps d'hémostase secondaire faisant intervenir la cascade de la coagulation et aboutissant à la formation d'un caillot de fibrine insoluble.
- un temps de fibrinolyse, correspondant à la destruction du caillot, permettant ainsi une reperméabilisation vasculaire.

#### **1. Hémostase primaire [2]**

L'hémostase primaire constitue la première étape de réparation d'une brèche vasculaire après un traumatisme. Les acteurs intervenant au cours de cette étape sont :

- le tissu sous-endothélial contenant des macromolécules thrombogènes
- les thrombocytes, principales cellules œuvrant dans le processus d'hémostase

-des protéines plasmatique : le facteur de von Willebrand, le fibrinogène ou facteur I de la cascade de la coagulation.

L'hémostase primaire se déroule en deux temps successifs : le temps vasculaire et le temps plaquettaire.

#### a) **Le temps vasculaire**

Ce temps est relativement court et correspond à une vasoconstriction réflexe au niveau de l'artériole irriguant le capillaire lésé. Cette vasoconstriction permet le ralentissement du débit sanguin, ce qui limite l'hémorragie et favorise l'adhésion plaquettaire.

#### b) **Le temps plaquettaire**

Le temps plaquettaire est résumé en figure 11.

- **Adhésion plaquettaire**

Après le temps vasculaire, les thrombocytes adhèrent aux macromolécules du sous-endothélium au niveau du site vasculaire lésé. Cette étape est sous forte dépendance du facteur de von Willebrand, qui intervient comme un ciment entre les fibres de collagène du sous-endothélium et les glycoprotéines Ib à la surface des thrombocytes. Néanmoins, les plaquettes ont la possibilité de se fixer directement au collagène du sous-endothélium par l'intermédiaire des glycoprotéines transmembranaires de type Gp Ia/IIa.

- **Activation plaquettaire**

L'adhésion combinée à l'action de composés plasmatiques solubles permet d'activer les thrombocytes. Le phénomène d'activation permet à terme de recruter de nombreux thrombocytes.

▲ Agonistes de l'activation plaquettaire initiale

Il existe plusieurs agonistes connus pour l'activation plaquettaire initiale : l'adhésion plaquettaire, l'ADP, la sérotonine, la thrombine, et l'adrénaline font partie des principaux activateurs.

▲ Conséquences de l'activation plaquettaire

L'activation des thrombocytes induit des modifications de ces derniers d'un point de vue morphologique et métabolique. Ainsi, le cytosquelette des thrombocytes se réorganise, ce qui a pour effet de mettre à jour des récepteurs au fibrinogène et au facteur de von Willebrand : les glycoprotéines Gp IIb/IIIa.

Des modifications métaboliques se produisent : la voie métabolique des prostaglandines est stimulée et aboutit à la synthèse d'un puissant agent agrégeant : le thromboxane A<sub>2</sub>. De même que la thrombine, le thromboxane A<sub>2</sub> amplifie le phénomène d'activation des thrombocytes par augmentation de la concentration cytosolique de Ca<sup>2+</sup>. L'autre modification métabolique majeure qui s'opère au sein des thrombocytes est un remaniement des phospholipides membranaires : certains d'entre eux se voient externalisés et servent de support et de surface de catalyse pour les réactions de l'hémostase secondaire.

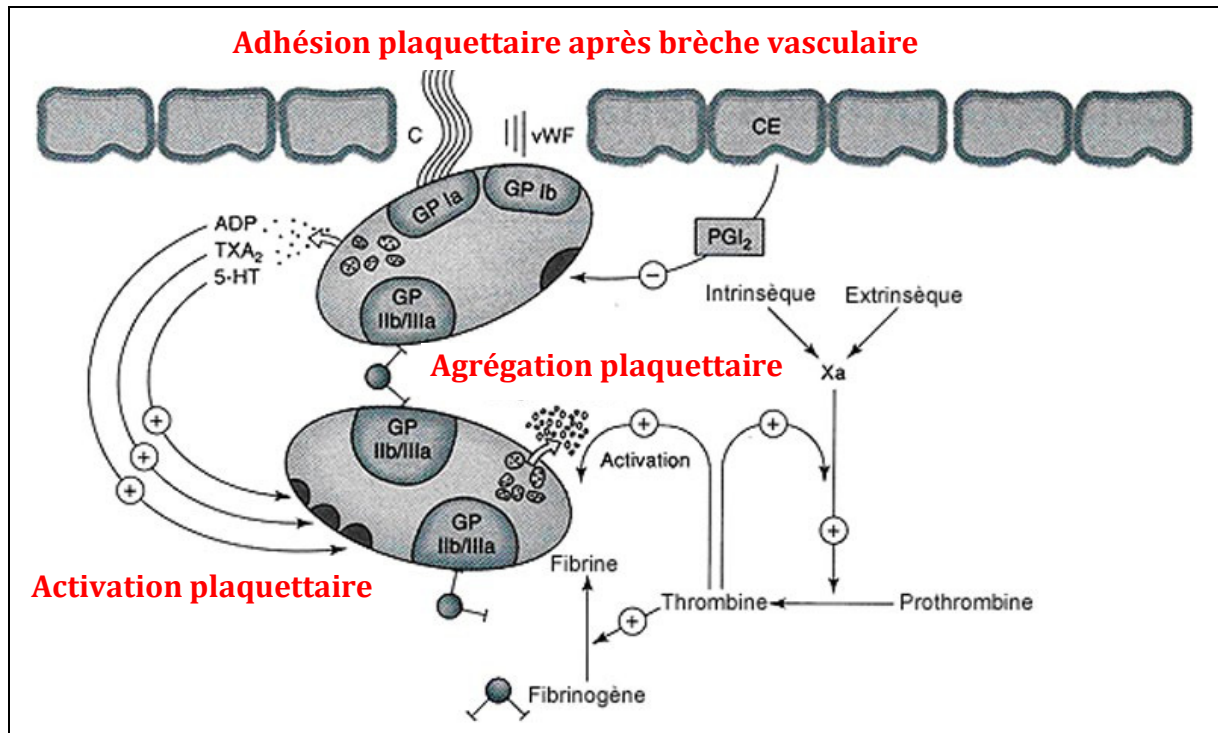
Par ailleurs, une libération rapide des composés des granules présents dans le cytosol des thrombocytes se produit. Des granules dites denses contiennent des composés pro-agrégants comme l'ADP ou l'adrénaline, et des granules alpha secrètent des facteurs de coagulation comme le fibrinogène ou le facteur de von Willebrand. Les composés pro-agrégants libérés participent à l'activation de nouvelles plaquettes.

Au final, l'activation des plaquettes permet leur agrégation.

- **Agrégation plaquettaire**

L'agrégation plaquettaire s'effectue grâce à la fixation de fibrinogène (facteur I), qui forme des ponts au niveau des glycoprotéines de surface des thrombocytes activés (Gp

IIb/IIIa). L'agrégation plaquettaire aboutit à la formation du thrombus blanc ou clou plaquettaire.



**Figure 31** : Schéma récapitulatif du temps plaquettaire de l'hémostase primaire, C=collagène, vWF= facteur de von Willebrand, 5-HT = sérotonine, TXA<sub>2</sub>= thromboxane A<sub>2</sub>, CE= cellule endothéliale - (modifié d'après [162])

## 2. Coagulation plasmatique

Aussi appelée hémostase secondaire, cette étape fait suite à l'hémostase primaires et fait intervenir des composés plasmatiques : les facteurs de la coagulation principalement, ainsi que des phospholipides membranaires des thrombocytes activés. Les facteurs de coagulation sont sous forme inactive à l'état normal mais se retrouvent activés en cascade au cours de la réparation d'une brèche vasculaire. Leur activation successive aboutit à la formation d'un caillot de fibrine insoluble, venant renforcer le clou plaquettaire.



a) **Les facteurs de coagulation** [67, 108]

La dénomination et le rôle de ces glycoprotéines sont détaillés dans le tableau 1.

NOM	SYNONYME COMMUN	ROLE
<b>Zymogènes vitamine K dépendants pour leur activation</b>		
II	Prothrombine	Précurseur de la thrombine
VII	Proconvertine	Démarre les voies extrinsèque et intermédiaire
IX	Facteur anti-hémophilique B	Intervient dans les voies intrinsèque et intermédiaire
X	Facteur de Stuart	Participe à la formation de la thrombine
<b>Cofacteurs protéiques = catalyseurs sans activité enzymatique</b>		
III*	Thromboplastine tissulaire, facteur tissulaire	Cofacteur du facteur VII activé
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Cofacteur du facteur IX activé
V	Proaccélélerine	Cofacteur du facteur X activé
<b>Facteurs initiateurs de la voie intrinsèque = système contact</b>		
XII	Facteur de Hageman	} Génèrent le facteur XI activé
Prékallikréine**	Facteur de Fletcher	
KHPM**	Kininogène de haut poids moléculaire	
XI	Antécédent de la thromboplastine plasmatique	Active le facteur IX
<b>Facteurs formant le caillot</b>		
I	Fibrinogène	Précurseur de la fibrine
XIII	Facteur stabilisateur de la fibrine	Stabilise la fibrine

**Tableau 1** : Rôle simplifié des facteurs de la coagulation plasmatique. Les facteurs suivis d'\* ne sont pas des facteurs de la coagulation à proprement parler : les facteurs suivis de \*\* appartiennent au système des kinines et le facteur suivi d'une \* n'est pas un facteur plasmatique - (modifié d'après [67])

## **b) Cascade de coagulation [67, 108]**

La coagulation plasmatique peut se réaliser soit selon une voie dite intrinsèque, qui fait seulement intervenir des éléments plasmatiques ; soit selon une voie dite extrinsèque, impliquant le facteur tissulaire. L'ensemble de la cascade de coagulation est présenté sur la figure 12.

- **Voie intrinsèque**

L'initiation de cette voie intrinsèque se fait par contact entre les facteurs du système contact (voir tableau 1) avec une surface électronégative, représentée par le sous-endothélium in vivo. L'association des facteurs du système contact avec le collagène sous-endothélial permet l'activation du facteur XII (voir figure 12).

Puis le facteur XI activé active ensuite le facteur IX. Ce facteur IX activé forme le complexe tenase, en association avec le facteur VIII activé, des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et des phospholipides membranaires. Le complexe tenase participe à l'activation du facteur X, qui est l'étape ultime de la voie intrinsèque de la coagulation.

- **Voie extrinsèque**

La voie extrinsèque consiste en une suite de réactions d'activation enzymatique qui, comme pour la voie intrinsèque, à l'activation du facteur X (voir figure 12).

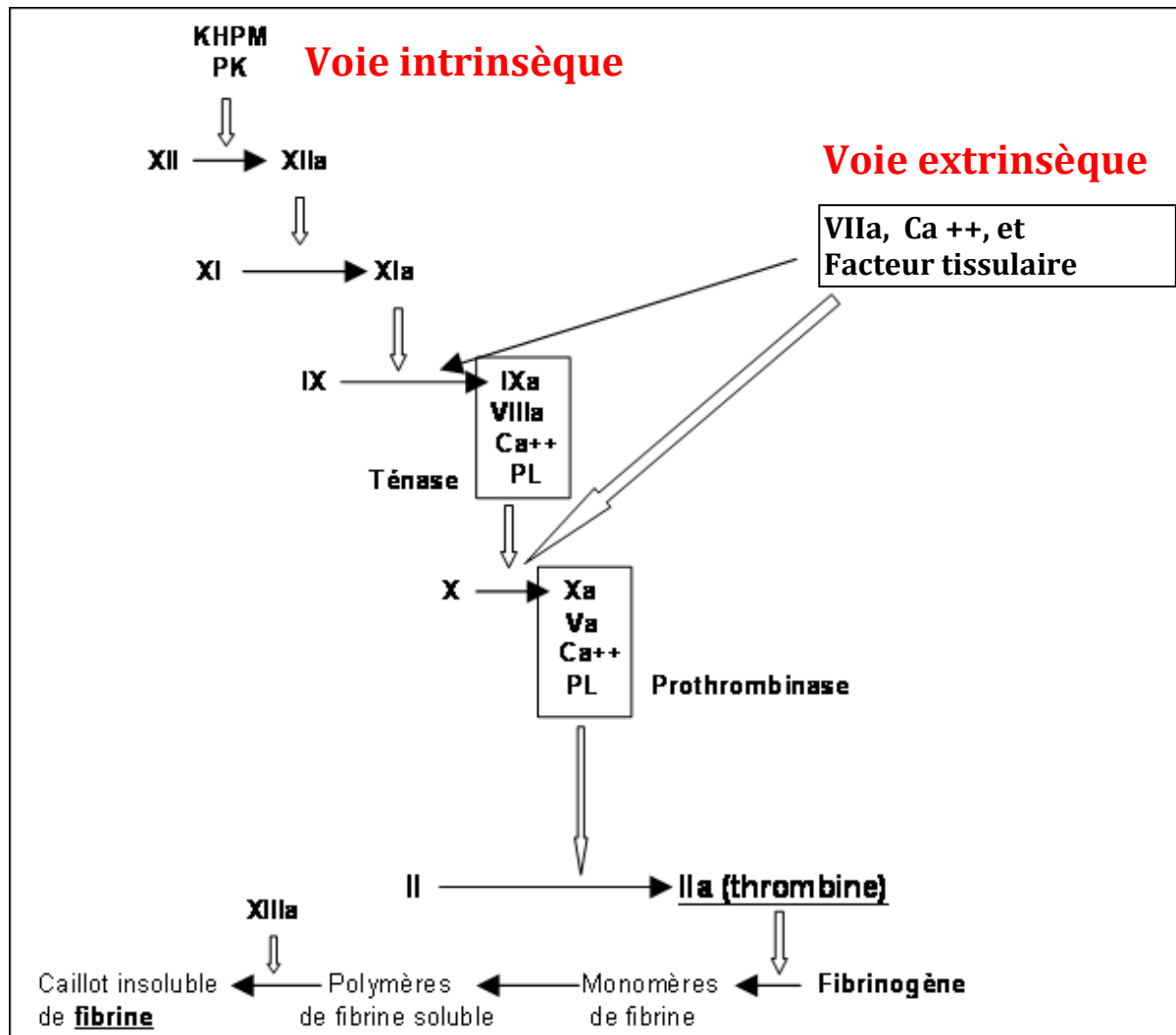
Cette voie est initiée par libération du facteur tissulaire (facteur III), lors d'une lésion tissulaire. Grâce à l'exposition de ce facteur tissulaire, et aux cofacteurs que sont les ions  $\text{Ca}^{2+}$ , le facteur VII est activé. Le facteur VII activé a ensuite une action combinée avec le facteur III pour activer le facteur X.

- **Voie commune**

L'activation du facteur X est le point de départ de la voie commune (voir figure 12). Une fois activé il adopte une activité prothrombinase en association avec le facteur V activé, des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et des phospholipides membranaires. Cette activité prothrombinase

permet la transformation de la prothrombine (facteur II) en thrombine (facteur II activé).

La thrombine catalyse la formation de monomères de fibrine soluble à partir de fibrinogène insoluble. Par polymérisation catalysée par le facteur XIII activé, la fibrine soluble devient insoluble.



**Figure 12 :** Hémostase secondaire simplifiée - PK = prékallikréine, KHPM = kininogène de haut poids moléculaire, PL=phospholipides, les « a » signifient que le facteur considéré est sous forme activée - (modifié d'après [178])

### 3. **Fibrinolyse** [109]

Elle consiste au retrait du caillot de fibrine formé, afin d'obtenir une reperméabilisation du vaisseau lésé. Cette étape physiologique permet de limiter l'hypercoagulabilité sanguine.

La fibrinolyse débute en parallèle de la cascade de coagulation et fait intervenir la plasmine, issue du plasminogène, un précurseur inactif. L'activation du plasminogène fait intervenir principalement l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) libéré par les cellules endothéliales lésées. Cependant, il existe d'autres voies d'activation : la voie pro-urokinase-urokinase, et les facteurs de coagulation appartenant au système contact.

La plasmine formée a une action fibrinolytique qui conduit à la formation de produits de dégradation de la fibrine par protéolyse de la fibrine. Les produits de dégradation sont évacués au niveau des organes filtre de l'organisme.

### 4. **Inhibition physiologique de l'hémostase** [90, 108]

Le contrôle de l'hémostase est nécessaire afin d'éviter un emballement du processus. L'inhibition se fait essentiellement par l'étape de fibrinolyse au cours de laquelle le caillot est détruit. Toutefois, des mécanismes inhibiteurs essentiels existent aussi au cours de l'hémostase secondaire. Les inhibiteurs de la coagulation peuvent être soit des inhibiteurs des enzymes de la coagulation, soit des inhibiteurs de la voie extrinsèque. Il existe également un dernier inhibiteur de la coagulation représenté par le système de la protéine C.

#### a) **Inhibiteurs des enzymes de la coagulation**

Ces inhibiteurs forment des complexes équimolaires inactifs avec la plupart des enzymes de la coagulation.

- **Antithrombine III**

Parmi ces inhibiteurs enzymatiques se trouve l'antithrombine III, qui est l'inhibiteur physiologique principal de la thrombine. Dans une moindre mesure, l'antithrombine III inhibe le facteur IX à XII quand ceux-ci se trouvent sous leur forme activée. La cinétique de la réaction aboutissant à la neutralisation de ces facteurs est considérablement augmentée in vivo en présence d'héparine.

- **Autres inhibiteurs des enzymes de la coagulation**

Le deuxième cofacteur de l'héparine (HcII) est un inhibiteur proche de l'antithrombine III et est spécifique de la thrombine. Les facteurs de la coagulation peuvent être neutralisés de façon beaucoup moins spécifique par l' $\alpha$ -1 antitrypsine ou l' $\alpha$ -2 macroglobuline.

**b) Le TFPI : un inhibiteur de la voie extrinsèque**

Le TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor) est un inhibiteur de l'association facteur tissulaire-facteur VII activé, qui intervient dans l'initiation de la voie extrinsèque. L'héparine a pour effet d'augmenter considérablement sa concentration plasmatique, et agirait en synergie avec le TFPI pour inhiber la voie extrinsèque.

**c) Système de la protéine C**

Ce système a un rôle complémentaire dans l'inactivation des facteurs de coagulation ayant un rôle de cofacteur (facteur V et VIII quand ils sont sous leur forme activée). Ce système est formé de 3 entités :

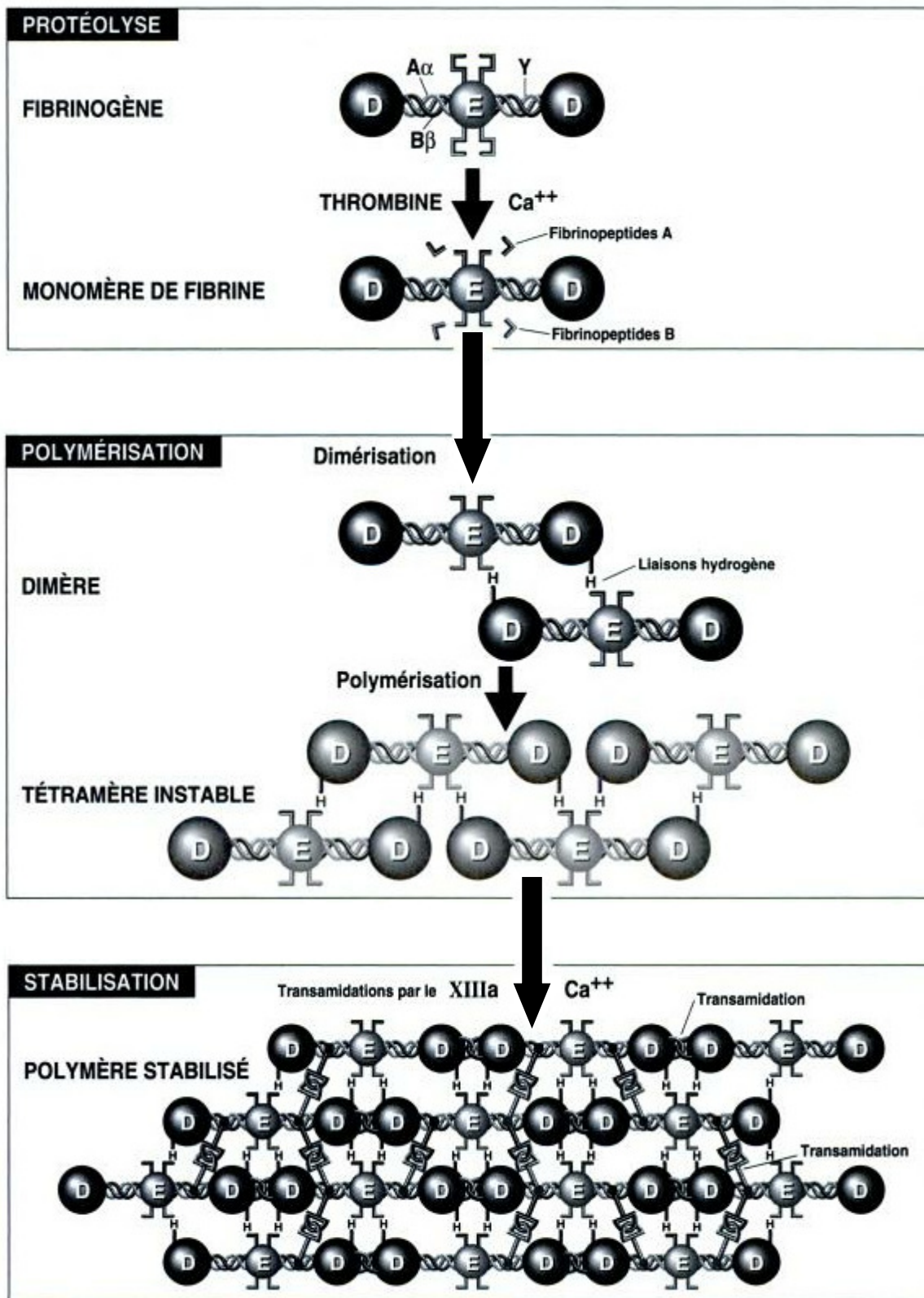
- la protéine C, jouant le rôle de zymogène d'une enzyme structurellement très proche des facteurs de la coagulation vitamine K dépendants (voir tableau 1)
- la protéine S, jouant le rôle de cofacteur
- la thrombomoduline, protéine transmembranaire exprimée à la surface de l'endothélium

Le système de la protéine C fonctionne grâce à la fixation de la thrombine sur la thrombomoduline. Cette fixation fait que la thrombine devient un puissant activateur de la protéine C. Une fois activée, la protéine C protéolyse les facteurs V et VIII activés, grâce à la protéine S. Cette neutralisation des facteurs V et VIII a pour effet de diminuer la production de thrombine, et donc de ralentir le phénomène de coagulation.

## 5. **La thrombine, un facteur clé de l'hémostase**

### a) **Constitution et stabilisation du caillot de fibrine [67]**

La thrombine est une enzyme de la famille des serine protéase ayant un rôle direct dans la formation du caillot de fibrine soluble. Elle catalyse la réaction formant des monomères de fibrine soluble par protéolyse de fibrinogène insoluble au niveau de 4 peptides situés à proximité du nodule central du fibrinogène (voir figure 13). Les monomères de fibrine instables se lient spontanément entre eux mais l'association est instable. La thrombine induit la stabilisation de la fibrine formée par polymérisation spontanée, en activant le facteur XIII, qui permet la formation d'un caillot de fibrine insoluble (voir figure 13).



**Figure 13** : Etapes de la formation de fibrine insoluble à partir de fibrinogène - E = nodule central du fibrinogène, D = nodule formant une extrémité du fibrinogène. Les nodules sont réunis par parties linéaires formées par 3 chaînes protéiques  $A\alpha$ ,  $B\beta$  et  $\gamma$  - (Source : [67])

## **b) Stimulation de la coagulation et de l'inflammation par la thrombine**

- **Activations plasmatiques**

La thrombine intervient dans l'activation d'autres facteurs de la coagulation : les facteurs V et VIII. Par l'activation de ces facteurs, la thrombine augmente ainsi l'efficacité des complexes enzymatiques intervenant pour sa propre formation [111].

La thrombine active également le facteur XI. Par l'activation de ce dernier facteur, la thrombine participe à la mise en place de la voie intrinsèque de la coagulation [67].

La thrombine est également en mesure d'activer le système du complément [18].

- **Activations cellulaires**

- ▲ Thrombocytes [111]

La thrombine entre en jeu dans l'activation des thrombocytes, puisqu'en interagissant avec ces cellules elle permet de démasquer des surfaces pro-coagulantes. De plus elle stimule la synthèse et la sécrétion de PAF (Platelet Activating Factor) par les cellules endothéliales.

- ▲ Autres populations cellulaires [111]

D'autres populations cellulaires comme les leucocytes sont sensibles à la thrombine, qui a un rôle chimiotactique notamment sur les fibroblastes et les macrophages. La thrombine a de plus une action mitogène sur les fibroblastes. Par la stimulation de ces types cellulaires, la thrombine intervient donc indirectement dans la mise en place d'un processus inflammatoire. L'action pro-inflammatoire de la thrombine se manifeste par ailleurs par des modifications morphologiques induites sur les cellules endothéliales, afin que les polynucléaires puissent y adhérer. La thrombine stimule également la sécrétion d'agents pro-inflammatoires par les cellules endothéliales comme le PAF ou la PGI<sub>2</sub>.



### c) **Inhibition de la coagulation par la thrombine**

- **Rétroaction négative sur la cascade de la coagulation** [108]

La thrombine stimule à la fois sa production et son activation. L'action inhibitrice de la thrombine sur la coagulation s'exerce essentiellement par l'activation de la thromboplastine dans le système de la protéine C.

- **Effet sur la fibrinolyse** [146]

La thrombine participe à la destruction du thrombus par génération de plasmine par le biais de l'activateur tissulaire du plasminogène dont elle stimule la libération par les cellules endothéliales. La thrombine module la fibrinolyse via le TAFI activé (Thrombin Activated Fibrinolysis Inhibitor).

- **Action sur les populations cellulaires** [111]

La thrombine stimule la sécrétion de prostacycline par les cellules endothéliales, qui a une action anti-agrégante plaquettaire.

### d) **La thrombine, cible d'inhibiteurs naturels** [90, 108]

Les inhibiteurs naturels de la thrombine sont l'antithrombine III, le deuxième cofacteur de l'héparine, l' $\alpha$ 2-macroglobuline

### e) **Bilan du rôle biologique de la thrombine**

En résumé la thrombine est responsable de la constitution et de la stabilisation du thrombus. Elle intervient dans les différents mécanismes qui contrôlent sa propre synthèse en les amplifiant, mais en les limitant simultanément en agissant sur les mécanismes régulateurs plasmatiques et cellulaires. La thrombine joue donc un rôle-clé dans l'établissement d'un équilibre entre hémostasie et inhibition des phénomènes thrombotiques.

## **B. L'hirudine : un composé de la salive de sangsue d'action multimodale par inhibition de la thrombine**

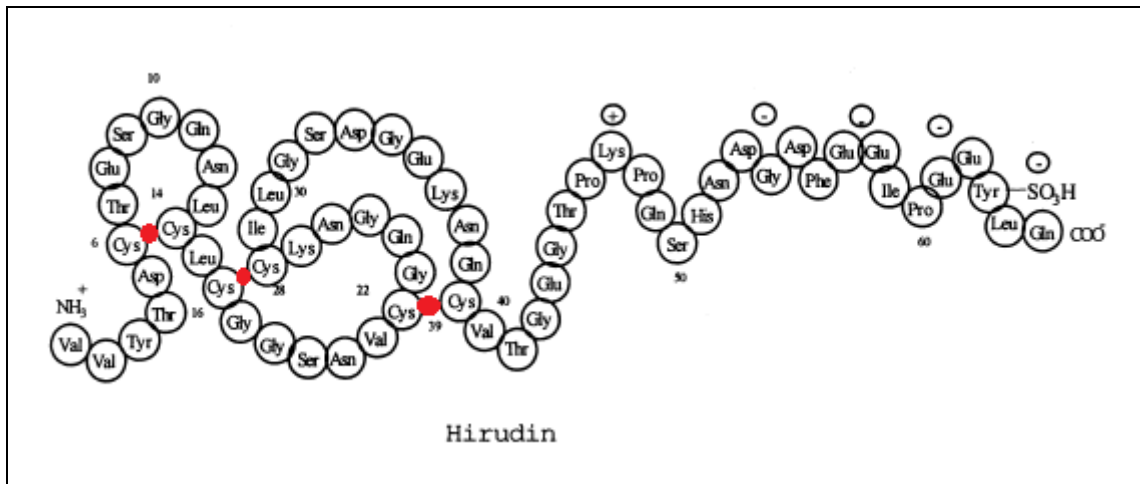
Les propriétés anticoagulantes de la salive d'*Hirudo medicinalis* ont été mises en évidence par Haycraft en 1884 [57]. La principale molécule impliquée : l'hirudine a été isolée en 1970 [86]. C'est un des premiers anticoagulants d'origine naturelle à avoir été identifié. L'hirudine a dès lors été abondamment étudiée d'un point de vue biochimique et fonctionnel, en vue d'éventuelles applications médicales. L'étude de ce composé a été facilitée par l'apparition des technologies de l'ADN recombinant, qui a permis sa production en grande quantité.

### **1. Structure de l'hirudine**

L'hirudine est un polypeptide naturellement présent dans la salive d'*Hirudo medicinalis* en hiver, sous forme de plus d'une dizaine de variants connus [12]. Tous ces variants possèdent entre 65 et 66 acides aminés, pour un poids moléculaire de 7 kD environ [146].

L'hirudine est une molécule ayant globalement une forme de têtard (voir figure 14). La région située directement après l'extrémité N-terminale (acides aminés 6-39) forme un noyau compact hydrophobe, stabilisé par trois ponts disulfure. Quant à l'extrémité C-terminale (acides aminés 40-65), elle est beaucoup plus flexible et possède une forme allongée caractérisée par la présence d'acides aminés chargés [11]. Cette extrémité C-terminale est très importante pour la liaison de l'hirudine au site de reconnaissance de la thrombine. L'hirudine naturelle est caractérisée par la présence d'un groupement sulfate sur la tyrosine 63, qui n'est pas retrouvé dans les hirudines recombinantes [19].

Il existe une grande homologie structurelle entre les fibrinopeptides clivés par la thrombine lors de sa réaction avec le fibrinogène et l'hirudine.



**Figure 14 :** Structure de l'hirudine. L'emplacement des ponts disulfure Cys6-Cys 14, Cys16-Cys28 et Cys 22-Cys 39 sont matérialisés en rouge – (modifié d'après [81])

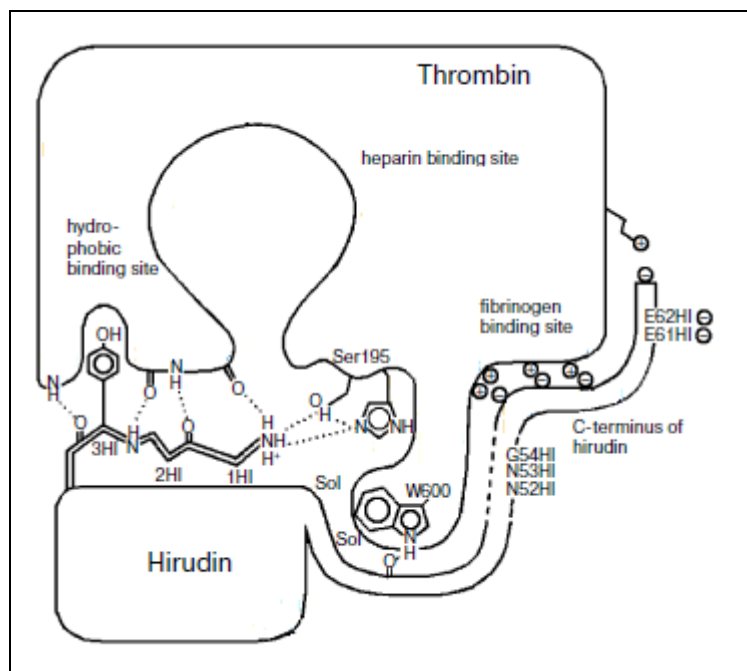
## 2. Interaction avec la thrombine

L'hirudine est un inhibiteur de la thrombine, c'est-à-dire que son action sur la sérine protéase ne dépend pas de la présence d'antithrombine III, contrairement à l'héparine. L'hirudine est en mesure de se lier spécifiquement à la thrombine, qu'elle soit sous forme libre ou incorporée dans un thrombus, sans se lier à d'autres protéines plasmatiques [87]. Elle forme avec la thrombine un complexe équimolaire non covalent stable. Cette stabilité est due à la grande affinité que possède l'hirudine pour la thrombine. C'est l'inhibiteur direct de la thrombine le plus puissant connu à ce jour.

La thrombine possède plusieurs domaines fonctionnels [17]:

- un site catalytique, intervenant dans la formation du thrombus
- un premier exosite, site de reconnaissance des substrats : il est responsable de la liaison de la thrombine avec le fibrinogène, la fibrine, les facteurs V, VIII ou XIII, la thrombomoduline. Ce site intervient également dans la reconnaissance des récepteurs plaquettaires ou endothéliaux.
- un deuxième exosite sur lequel se fixent l'antithrombine III ou l'héparine
- une poche de liaison hydrophobe

La fixation de l'hirudine à la thrombine se réalise en deux étapes (voir figure 15). Dans un premier temps, l'extrémité C-terminale de l'inhibiteur entre en contact avec le premier exosite de la thrombine. La fixation se fait de façon très étroite par liaisons ioniques entre les acides aminés chargés contenus par chacune des deux molécules. Cette fixation entraîne un changement de conformation de la thrombine, rendant accessible la poche de liaison hydrophobe. Dans un second temps, l'extrémité N-terminale se fixe au niveau de la poche de liaison hydrophobe de la thrombine. Le corps de la molécule d'hirudine reste en dehors de l'interaction [5, 11].



**Figure 15** : Complexe formé entre la thrombine et l'hirudine. Ser 195 correspond au site actif de la thrombine, formé par de la sérine – (modifié d'après [11])

La molécule d'hirudine ainsi fixée empêche l'accès au site de reconnaissance pour l'ensemble des substrats de la thrombine. Il convient de noter que l'hirudine ne bloque pas l'exosite 2, rendant toujours possible une fixation de l'ATIII et de l'héparine [128].

### **3. Effets biologiques de l'hirudine**

L'hirudine possède un effet anticoagulant qui permet de maintenir une fluidité sanguine nécessaire à l'ingestion du repas de sang complet par la sangsue.

Cette action sur l'hémostase s'exerce aussi bien sur le temps plaquettaire que sur la cascade de coagulation, qui se trouve dérégulée. L'hirudine peut inhiber toutes les fonctions de la thrombine, pour lesquelles le premier exosite de la thrombine est impliqué. Ainsi, elle intervient lors du temps plaquettaire de l'hémostase en empêchant l'agrégation plaquettaire thrombino-induite.

L'hirudine est la cause de perturbations importantes de la cascade de coagulation puisqu'elle empêche la transformation du fibrinogène en fibrine catalysée par la thrombine. De plus l'activation des facteurs V, VIII, et XIII se voit également inhibée, d'où un ralentissement du processus. L'activité de la protéine C se voit également modifiée, par l'incapacité de la thrombine fixée à l'hirudine d'interagir avec la thrombomoduline.

L'hirudine possède également un effet anti-inflammatoire puisqu'elle inhibe la synthèse et la libération de certains médiateurs pro-inflammatoires induite par la thrombine. De plus, l'hirudine empêche l'activation du système du complément par la thrombine et limite par ailleurs la multiplication des fibroblastes thrombino-induite.

Lors de la constitution d'un thrombus, certaines molécules de thrombine peuvent se trouver piéger au sein du caillot. Lors de thromolyse, ces molécules de thrombine peuvent être libérées et donner lieu à un phénomène de rethrombose. L'hirudine contribue à limiter les rethromboses car elle peut se lier à la thrombine liée au thrombus [87].

### **4. Pharmacologie de l'hirudine**

L'hirudine, en tant qu'inhibiteur spécifique de la thrombine constituait lors de sa découverte une molécule d'avenir, dont l'étude restait limitée par sa faible disponibilité. Toutefois, en 1986, après la réussite de la synthèse d'hirudine recombinante, cette dernière a fait l'objet de nombreuses études avant d'être supplantée par l'héparine [55]. Plusieurs spécialités contenant une hirudine recombinante comme principe actif

(lépirudine ou désirudine) sont à ce jour commercialisées. Aussi des données pharmacologiques sont disponibles aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Ces données peuvent donner une idée de la pharmacocinétique de l'hirudine naturelle étant donné que les hirudines recombinantes présentent une structure et une activité similaire à l'hirudine naturelle [146].

#### a) **Toxicité de l'hirudine**

- **Toxicité aigüe** [16]

Les études de toxicité menées dans le cadre du développement de Recludan® (lépirudine) n'ont révélé aucune manifestation de toxicité aigüe chez la souris, le rat ou le singe, que ce soit après injection par voie intraveineuse ou voie sous-cutanée. Dans ces études, les doses administrées s'étendaient jusqu'à 1g/kg, ce qui est bien supérieur aux quelques dizaines de microgrammes naturellement présents dans les glandes salivaires de sangsue.

- **Toxicité chronique** [16, 21]

Aucun élément de toxicité chronique imputable directement à la lépirudine ou la désirudine n'a pas été mis en évidence chez le rat ou chez le singe par injection par voie intraveineuse ou sous-cutanée pour des doses d'hirudine largement supérieures à celles contenues dans une sangsue. Seuls des effets témoignant de l'action anticoagulante de la molécule ont été observés.

- **Tolérance locale** [16]

Cette tolérance a été évaluée chez le lapin par injection sous-cutanée, intraveineuse, para-veineuse ou intra-artérielle. La lépirudine est globalement bien tolérée chez ces animaux, là encore pour des doses très supérieures à celles contenues dans une sangsue.

## **b) Pharmacocinétique de l'hirudine**

Une injection sous cutanée d'hirudine entraîne une concentration plasmatique maximale d'hirudine entre 1 et 3 heures. La phase de distribution est rapide, avec un modèle à deux compartiments. L'hirudine est éliminée sous forme active par voie rénale, majoritairement dans les 6 premières heures après injection [21, 116].

## **c) Pharmacodynamie de l'hirudine**

- **Modification des temps de coagulation**

Chez l'homme, comme chez l'animal, l'hirudine est responsable de l'augmentation des temps de Quick, temps de thrombine, du temps de céphaline activée et du temps de thromboplastine partiel [21]. Chez l'homme comme chez le cheval, le temps partiel de thromboplastine activée est le test le plus fiable, puisque ses valeurs sont bien corrélées avec la concentration plasmatique d'hirudine [36]. L'hirudine n'entraîne pas de modification dans la numération plaquettaire, les quantités de fibrinogène ou de facteur fibrinolytique [116].

- **Immunogénicité**

Une étude menée sur le cobaye a montré un faible pouvoir sensibilisant de la lépirudine lors de son injection par voie intraveineuse après une première injection par voie sous-cutanée, avec possibilité de choc anaphylactique [16].

## **C. Molécules salivaires perturbant le temps plaquettaire de l'hémostase**

Outre l'hirudine ayant une action sur le temps plaquettaire via l'inhibition de l'activation des thrombocytes par la thrombine, la salive contient des composés agissant spécifiquement sur ce premier temps de l'hémostase.

## 1. Molécules agissant par blocage de la fixation du collagène

### a) **La caline**

La caline est une protéine de 65kD, isolée et purifiée en 1991 à partir de la salive d'*Hirudo medicinalis* [95]. Son action a été étudiée chez le hamster, chez qui la molécule a une action antithrombotique avérée. La caline agit au niveau des thrombocytes dont elle inhibe l'adhésion par un double mécanisme réversible dose dépendant. En effet, elle empêche la fixation directe du collagène sous-endothélial sur les glycoprotéines transmembranaires plaquettaires Gp Ia/IIa. Elle agit également en prévenant la fixation du collagène sur le facteur de von Willebrand [53].

Même si l'action principale de la caline se fait au niveau de l'adhésion plaquettaire, elle participe à l'inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par le collagène et le facteur de von Willebrand.

### b) **La saratine**

La saratine de la salive d'*Hirudo medicinalis*, est une autre protéine empêchant l'adhésion plaquettaire. Après fixation au collagène, la saratine agit uniquement sur la voie de fixation du collagène au facteur de von Willebrand [139].

## 2. La décorsine : blocage de la fixation du fibrinogène

La décorsine est une protéine de 4 kD, formée de 39 acides aminés, isolée de la salive de sangsue médicinale américaine *Macrobdella decora*. C'est un antagoniste des glycoprotéines transmembranaires plaquettaires Gp IIb/IIIa. Elle empêche donc la fixation du fibrinogène sur les plaquettes et constitue donc un agent antiagrégant plaquettaire efficace [107]. Son action antithrombotique a été démontrée sur modèle murin de thrombo-embolie pulmonaire [83].



### **3. L'apyrase : blocage de l'activation plaquettaire par l'ADP**

Plusieurs isoformes d'apyrase de poids moléculaire variable ont été isolés dans la salive d'*Hirudo medicinalis*. L'apyrase ou adénosine diphosphatase est responsable de la transformation d'ADP en AMP, empêchant ainsi l'activation plaquettaire par l'ADP. C'est donc un inhibiteur non spécifique de l'agrégation plaquettaire [9].

### **D. Molécules salivaires perturbant la cascade de la coagulation**

En plus de l'hirudine, la salive contient un inhibiteur spécifique du facteur X activé de la coagulation. Ce facteur a été synthétisé de façon recombinante et une action antithrombotique a été mise en évidence sur modèle animal [9].

### **E. Molécules perturbant la fibrinolyse**

#### **1. Les bdellines**

Les bdellines sont des inhibiteurs de la plasmine et de la trypsine. Deux formes ont été isolées chez *Hirudo medicinalis* : la bdelline A et la bdelline B. Les bdellines ne sont pas des protéines strictement salivaires : elles sont présentes dans tout le corps de la sangsue, avec une concentration élevée au niveau des organes sexuels. Ces protéines joueraient un rôle primordial dans la reproduction de l'annélide puisqu'elles inhibent également l'acrosine spermatique. Toutefois, à cause de leur activité anti-plasmine, l'intérêt de ces protéines comme inhibiteurs de la fibrinolyse est en cours d'investigation [5, 42].

#### **2. La déstabilase-lysozyme**

La déstabilase est un polypeptide de 12,3 kD isolée chez *Hirudo medicinalis* [40]. Cette enzyme est une isopeptidase en mesure de lyser la fibrine stabilisée par le facteur XIII activé. Les D-D-dimères, fragments de fibrine stabilisée, constituent également un

substrat de la déstabilase. La déstabilase est à l'origine d'une monomérisation des D-D dimères, après lyse de la liaison endo- $\alpha$ -( $\gamma$ -Glu)-Lys joignant les monomères d'un D-D dimère. Les monomères de fibrine obtenus sont des monomères modifiés, incapables de se polymériser. Cette enzyme confère donc aux sangsues la capacité de lyser les caillots sanguins [146].

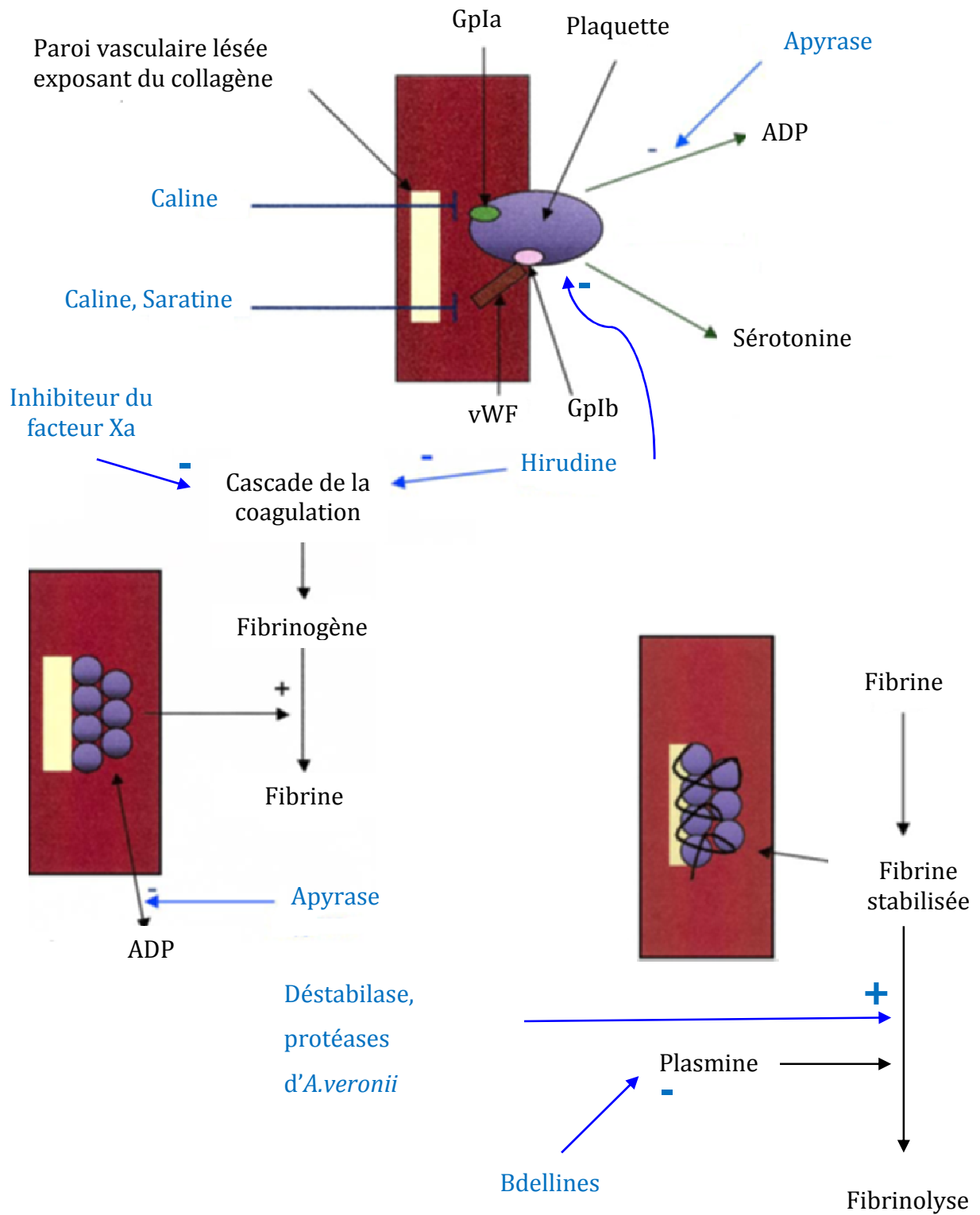
La déstabilase participe à la destruction de thrombi existants, mais avec une cinétique lente [148].

### **3. Protéinase produite par *Aeromonas veronii***

Les bactéries symbiotiques du tractus digestif d'*Hirudo medicinalis* produisent des protéases indispensables à la digestion du sang par la sangsue. L'une de ces protéases se retrouve au niveau de la salive participe à la dégradation de la fibrine stabilisée. Cette protéase est l'artisan de l'hydrolyse de la liaison peptidique reliant deux chaînes  $\gamma$  de la fibrine stabilisée, participant ainsi à la lyse des thrombi [146].

## **F. Bilan de l'action de la salive d'*Hirudo medicinalis* sur l'hémostase**

La salive agit aux différentes étapes de la coagulation sanguine. Le mode d'action des principaux composants impliqués dans la perturbation de l'hémostase physiologique chez l'hôte est récapitulée en figure 16



**Figure 16** : Schéma récapitulatif de l'action anticoagulante de la salive d'*Hirudo medicinalis* - ADP = adénosine diphosphate, vWF = facteur de von Willebrand, Gp Ia = glycoprotéine Ia, GpIb = glycoprotéine Ib - (modifié d'après [139])

### III. SALIVE DE SANGSUE ET EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE

---

L'effet anti-inflammatoire de la salive s'exerce par le biais de molécules inhibitrices des protéases libérées lors d'un processus inflammatoire.

#### A. Eglines : inhibition des sérines protéases lysosomiales

Il existe plusieurs formes d'églines, dont les deux principales sont l'églin b et l'églin c. Ce sont des protéines de 8 kD environ, formées d'une chaîne de 70 acides aminés [5].

Les églines sont des protéines très stables isolées dans différentes parties du corps d'*Hirudo medicinalis* dont le tractus digestif. Ces molécules possèdent une activité inhibitrice envers les sérine-protéinases lysosomiales granulocytaires libérées lors de processus inflammatoire. Parmi les substrats des églines figurent la chymotrypsine, la cathepsine G ou l'élastase leucocytaire [11].

L'élastase joue un rôle central pour la diapédèse des leucocytes dans les vaisseaux inflammés. Aussi les églines permettent à la sangsue de prévenir l'infiltration neutrophilique, la protégeant ainsi des protéases leucocytaires susceptibles de dégrader les bactéries symbiotiques qui sont indispensables à sa physiologie digestive.

Les protéases lysosomiales relarguées pendant l'inflammation peuvent amplifier la réponse inflammatoire de l'organisme par protéolyse aspécifique au niveau de systèmes humoraux (coagulation, complément, système kinine/kallikréine...). Si ces protéinases sont libérées en quantité importante, les inhibiteurs naturels de ces enzymes sont dépassés et des phénomènes délétères peuvent se mettre en place à plus ou moins grande échelle.

Ainsi, dans un modèle de choc septique chez le porc, l'emploi d'églin b ou c a permis de limiter la consommation du facteur stabilisateur de la fibrine et de l'antithrombine III. L'églin a également eu un effet protecteur pulmonaire puisqu'elle permet lors de choc septique de maintenir l'équilibre élastase/antiélastase nécessaire au maintien de l'intégrité des structures alvéolaires [68].

Il convient de noter que l'action anti-inflammatoire des églines est potentialisée par l'hirudine puisque l'hirudine diminue par interaction avec la thrombine la quantité de fibrinogène consommée sous l'action des endotoxines lors de choc septique [5].

Les églines sont bien tolérées malgré un risque allergique non négligeable. L'élimination de la protéine se fait essentiellement par voie urinaire chez le rat et chez le porc [68].

## **B. Les inhibiteurs de la tryptase [5]**

La tryptase est un composé libéré par les granules mastocytaires lors d'allergie ou d'inflammation. Elle est responsable du catabolisme de la matrice extracellulaire et est un agent promitotique puissant pour les fibroblastes. Cette protéinase joue un rôle physiopathologique important dans les affections faisant intervenir un dysfonctionnement mastocytaire comme l'asthme ou l'arthrite rhumatoïde. La tryptase est une enzyme libérée par les mastocytes lors d'infection parasitaire.

La salive d'*Hirudo medicinalis* contient plusieurs isoformes de LDTI (Leech-Derived Tryptase Inhibitor), lui permettant de se protéger contre la réaction de l'organisme hôte lors d'une morsure. En plus de la tryptase, la LDTI inhibe la plasmine, la kallikréine tissulaire, la thrombine et la cathepsine G neutrophilique.

Par son action, le LDTI contribue à atténuer les processus inflammatoires et allergiques chez l'hôte.

## **C. Inhibiteur des composants du système du complément [11]**

La salive d'*Hirudo medicinalis* contient un inhibiteur de l'enzyme C1s. Ce dernier empêche la fixation des complexes antigène-anticorps sur l'enzyme C1s, cette fixation étant responsable de l'activation initiale de la voie classique du système du complément. Cet inhibiteur contribue à limiter l'ampleur des affections où le système du complément joue un rôle physiopathologique majeur comme les processus inflammatoires chroniques ou les états septiques.

## **D. Molécules agissant principalement sur la vasomotricité**

### **1. Molécules agissant sur le système kinine-kallikréine**

#### **a) Hirustasine [5]**

L'hirustasine est une protéine de 55 acides aminés, riche en cystéine, qui inhibe sélectivement les kallikréines tissulaires. Les kallikréines tissulaires catalysent des réactions formant des kinines qui sont des vasodilatateurs artériels. En cas d'inflammation importante, ces molécules peuvent être synthétisées de façon incontrôlée et générer une hypotension sévère.

L'hirustasine n'a aucune action sur les kallikréines plasmatiques mais possède une action inhibitrice envers la trypsine, la chymotrypsine, la cathepsine G et la plasmine. Sur ce point, son action se rapproche de celle des églines et des bdellines.

Le bénéfice de ce composé pour l'hôte est de contribuer à la diminution du phénomène inflammatoire. Pour la sangsue l'intérêt est ici de maintenir un flux sanguin optimal au niveau du site de morsure. Pour l'hôte, l'intérêt est d'éviter une vasodilatation trop importante, délétère pour la microcirculation.

#### **b) L'inhibiteur des carboxypeptidases [11]**

Deux isoformes de LCI (Leech Carboxypeptidase Inhibitor) ont été découvertes il y a une quinzaine d'années. Ce sont des protéines de 7 kD environ qui inhibent les carboxypeptidases dans plusieurs espèces comme le porc, le bovin ou l'homme. Les carboxypeptidases sont des métalloprotéases responsables notamment de l'hydrolyse des kinines formées par les kallikréines. L'inhibiteur des carboxypeptidases a donc un rôle antagoniste à celui de l'hirustasine, en favorisant une vasodilatation locale par les kinines. Cette protéase participe au rétablissement d'une microcirculation chez l'hôte.

## 2. Autres molécules à effet vasomoteur

La salive d'*Hirudo medicinalis* contient des vasodilatateurs proches de l'histamine, de la sérotonine, qui contribuent à prolonger le temps de saignement après une morsure [10].

## **IV. SALIVE DE LA SANGSUE ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE**

---

En plus de son activité isopeptidase, la déstabilase possède un effet antibactérien double. Tout d'abord, elle présente une activité antimicrobienne à mécanisme 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 [147, 148].

L'inhibition de la croissance bactérienne se fait également selon un second mécanisme non enzymatique. La déstabilase donne naissance à des peptides amphipatiques dérivés. Ces peptides ont un spectre d'action large puisqu'ils ont la capacité de perforer la membrane des bactéries Gram négatives, et de perturber le potentiel des bactéries Gram positives [148].

Cette enzyme contribue donc à limiter la putréfaction du sang stocké durant de longs mois dans les cæca de la sangsue. Pour l'hôte, la présence de la déstabilase va contribuer à la limitation d'apparitions d'infections secondaires à la morsure par des germes sensibles à l'action de l'enzyme.

## **V. ACTION ANESTHÉSIANTE DE LA SALIVE DE SANGSUE**

---

La morsure de sangsue est perçue comme non ou faiblement douloureuse par les patients ayant fait l'objet de séances d'hirudothérapie [125]. L'hirudothérapie aurait même un effet antalgique, comme en témoigne l'amélioration du score douloureux des patients atteints de gonarthrose après traitement par hirudothérapie lors d'une étude randomisée [92].

La présence d'éventuelles molécules anesthésiantes a été recherchée chez *Hirudo medicinalis*, mais aucun composé possédant un pouvoir anesthésiant propre n'a pu être mis en évidence. La composante antalgique de l'hirudothérapie est supposée être due à l'hirustatine contenue dans la salive. Cette enzyme serait responsable d'une diminution des phénomènes douloureux induits par la bradykinine [113].

Lors d'analyse de la salive d'*Hirudo medicinalis* par spectrométrie de masse, Baskova et ses collaborateurs ont mis en évidence un composé proche de la nicotine, qui pourrait prendre part à l'effet analgésique perçu lors d'hirudothérapie [10].

## **VI. AGENTS DE PERMÉABILISATION TISSULAIRE**

---

La pénétration chez l'hôte des différentes molécules au pouvoir anticoagulant et anti-inflammatoire lors d'une morsure est accélérée grâce à l'action d'enzymes qui augmentent la perméabilité des tissus conjonctifs.

Ainsi, la présence d'une hyaluronidase dans la salive d'*Hirudo medicinalis* a été mise en évidence. Cette hyaluronidase permet l'hydrolyse localisée de l'acide hyaluronique de la matrice extracellulaire, augmentant ainsi la vitesse d'absorption des composés salivaires [80]. La salive contient également une collagénase qui contribue à une meilleure pénétration des autres molécules salivaires [139].

## **VII. BILAN**

---

Bien que les sangsues exercent un effet mécanique décongestionnant, le bénéfice de l'utilisation des annélides réside davantage dans leur salive, dotée de propriétés anti-coagulantes, anti-inflammatoires, anti-bactériennes et antalgiques. L'effet des principaux composés salivaires d'intérêt est résumé dans le tableau 2.



Constituants salivaires	Fonction
Hirudine	Blocage de l'hémostase primaire et secondaire
Caline, saratine, apyrase	Blocage de l'hémostase primaire
Inhibiteur du facteur X activé	Blocage de l'hémostase secondaire
Bdellines, déstabilase, protéinases d'A. <i>hydrophila</i>	Perturbation de la fibrinolyse
Eglines	Inhibition des protéases lysosomiales
Inhibiteur de la tryptase	Atténuation des phénomènes inflammatoires et allergiques chez l'hôte
Inhibiteur du complément	Freinage de l'activation du complément
Hirustasine	Inhibition des kallikréines tissulaires : effet antalgique et vasomoteur
Substance histamine-like, sérotonine, Inhibiteur des carboxypeptidases	Vasodilatation
Déstabilase lysozyme	Effet-antibactérien
Substance nicotine-like	Effet antalgique
Hyaluronidase, collagénase	Perméabilisation tissulaire par dégradation de la matrice extracellulaire

**Tableau 2 :** Tableau récapitulatif des principaux composés salivaires d'intérêt thérapeutique chez *Hirudo medicinalis*.

# PARTIE 3

---

## **UTILISATION PRATIQUE DES SANGSUES**

Le but de cette partie est de présenter les points clés quant à l'approvisionnement, l'entretien et la manipulation des sangsues en milieu hospitalier ou dans une clinique vétérinaire. Nous traiterons ensuite des différentes utilisations cliniques actuelles des annélides en médecine ainsi que des perspectives qu'ouvrent ces applications en médecine vétérinaire. Dans un dernier temps, nous évoquerons les complications que les praticiens doivent prendre en compte pour une bonne prise en charge d'un patient sous hirudothérapie.



## **I. LES SANGSUES : DE L'HIRUDINICULTEUR AU PRATICIEN**

### **A. Obtenir des sangsues**

#### **1. Statut des sangsues dans la législation relative aux médicaments**

##### **a) Un statut clairement défini dans certains pays étrangers**

En Allemagne, où l'hirudothérapie est beaucoup plus développée qu'en France, les espèces *Hirudo medicinalis*, *Hirudo verbana* et *Hirudo orientalis* possèdent le statut de médicament depuis 2008 et sont donc soumises à l'autorisation de mise sur le marché. Seulement deux hirudiniculteurs allemands sont à l'heure actuelle autorisés à vendre des sangsues dans le pays, avec obligation de fournir des informations de sécurité à leurs clients [151].

Aux Etats-Unis, la FDA (Food and Drug Administration) a officiellement attribué aux sangsues médicinales commercialisées par l'hirudiniculteur français Ricarimpex, le statut de «medicinal device» et sont donc soumises à autorisation de mise sur le marché [106].

##### **b) Un flou législatif en France**

En dehors de leur inscription à l'Annexe II de la convention de Washington qui garantit leur protection, les sangsues n'ont pas de statut légal bien défini en France.

L'article L5111-1 du code de la santé publique donne la définition légale d'un médicament [166]:

*« On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou*

*pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique ».*

Les sangsues n'entrent pas dans le cadre de cette définition légale.

Par ailleurs, l'article L5211-1 du code de la santé publique donne la définition légale d'un dispositif médical [167]:

*« On entend par dispositif médical tout instrument, appareil, équipement, matière, produit, à l'exception des produits d'origine humaine, ou autre article utilisé seul ou en association, y compris les accessoires et logiciels nécessaires au bon fonctionnement de celui-ci, destiné par le fabricant à être utilisé chez l'homme à des fins médicales et dont l'action principale voulue n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques ni par métabolisme, mais dont la fonction peut être assistée par de tels moyens. Constitue également un dispositif médical le logiciel destiné par le fabricant à être utilisé spécifiquement à des fins diagnostiques ou thérapeutiques ».*

Les sangsues ne peuvent pas non plus être considérées comme des dispositifs médicaux. N'étant ni médicament ni dispositif médical, elles ne sont donc pas soumises à autorisation de mise sur le marché. Ce sont simplement des moyens thérapeutiques tolérés, dont la qualité et l'innocuité sont uniquement garantis par l'hirudiculteur. En théorie, il n'est pas obligatoire d'être médecin ou vétérinaire pour pouvoir obtenir des sangsues.

## **2. Commande auprès d'hirudiculteurs** [173]

En France, il existe un seul hirudiculteur : Ricarimpex, qui vend 120 000 sangsues par ans en Europe et aux Etats-Unis et chez qui la livraison des annélides est assurée en 24h. Les praticiens qui le souhaitent peuvent toutefois s'approvisionner à l'étranger, dans la mesure où les sangsues obtenues ne sont pas prélevées dans la nature et proviennent bien d'élevages. Si l'approvisionnement se fait hors de l'Europe, un permis CITES d'exportation pour l'hirudiculteur et un permis d'importation pour le praticien sont nécessaires.

Chez Ricarimpex, les sangsues sont expédiées dans un sac de coton humide, placé dans du coton cardé, le tout étant placé dans une boîte en polystyrène étanche. Chaque première expédition s'accompagne d'une notice concernant les bonnes méthodes d'entretien et d'élimination des sangsues usagées.

## **B. Conditions d'entretien**

### **1. Récipient adapté**

Les sangsues peuvent être stockées dans des récipients en verre contenant de l'eau. Au maximum dix sangsues peuvent être maintenues dans un bocal d'une contenance de 250mL [155].

Il est important que les récipients utilisés soient suffisamment ventilés pour renouveler l'oxygène : le couvercle peut contenir quelques perforations qui doivent cependant être de taille relativement petite afin d'éviter l'évasion des sangsues dont le corps est très élastique. Pour des raisons d'hygiène, l'eau doit être changée et le récipient doit être désinfecté de façon hebdomadaire lorsque les sangsues sont gardées sur plusieurs mois [164].

### **2. Température**

Les sangsues peuvent être stockées à des températures fraîches, autour des 10°C, sans dépasser les 20°C. De plus, il convient d'éviter les trop grosses variations thermiques, lors du changement de l'eau des bocal par exemple [164].

### **3. Qualité de l'eau**

L'eau du robinet ne doit pas être employée car elle contient des additifs néfastes pour les sangsues notamment du chlore. L'eau utilisée peut être soit de l'eau de minérale, soit de l'eau distillée mais dans ce dernier cas, l'eau doit être supplémentée [127, 164]. Par exemple, Biopharm Leeches UK commercialise une préparation : Hirudosalt™ à ajouter

à l'eau distillée (à raison d'une concentration de 0.5g/L d'eau) afin de constituer un milieu adéquat pour les sangsues [155].

#### **4. Eclairage**

L'éclairage doit se rapprocher le plus possible d'un éclairage naturel, en évitant la lumière directe. [127, 164].

## **II. APPLICATION DES SANGSUES**

---

Dans un sondage réalisé en 2011 dans les unités de chirurgie orale et maxillo-faciale au Royaume-Uni, Taneja et Rowson ont montré que la plupart de ces unités cliniques utilisaient les sangsues sans protocole précis pour leur mise en place [130]. Nous nous sommes donc efforcés de compiler les différentes astuces pratiques révélées dans les publications des cliniciens utilisateurs de sangsues.

### **A. Présentation de l'hirudothérapie au patient/propriétaire de l'animal**

Dans l'esprit des gens, la sangsue est la plupart du temps perçue comme un animal nuisible et repoussant. Ils sont souvent effrayés de se voir appliquer ce ver gluant à même la peau pour en subir la morsure. La nécessité d'avoir recours à l'hirudothérapie ainsi que le déroulement de la séance doivent être clairement exposés, et le patient/propriétaire d'animal doit être notamment rassuré sur l'absence de douleur et sur la surveillance instaurée une fois les sangsues mises en place.

### **B. Préparation du site de pose**

Selon la zone du corps concernée, la région destinée à recevoir la sangsue doit être rasée, de façon à permettre un accrochage optimal de l'annélide. La peau doit ensuite

être soigneusement nettoyée, et toute odeur de transpiration éliminée [65]. Il convient de ne pas utiliser de produits désinfectants possédant une odeur prononcée car ces derniers possèdent un effet répulsif. L'alcool est également déconseillé car il fait régurgiter la sangsue, augmentant ainsi le risque infectieux. Le nettoyage peut donc se faire soit avec de l'eau savonneuse, soit avec du sérum physiologique hépariné [140, 153].

La température de la peau est par ailleurs un facteur important puisque la chaleur favorise la vasodilatation et constitue un puissant stimulant du comportement ingestif de la sangsue. La fourchette de température cutanée optimale se situe entre 33 et 40°C et une sangsue aura très peu tendance à mordre en dessous de 25°C [76]. En conséquence, il est conseillé de réchauffer la peau avant la pose de l'annélide.

Si le patient a subi une anesthésie récemment, il est nécessaire d'attendre l'élimination complète du produit afin d'éviter l'apparition du « syndrome de la sangsue paresseuse ». Ce dernier correspond à une tendance à mordre fortement diminuée accompagnée d'un ralentissement dans les déplacements sous l'effet des anesthésiques diffusant dans la peau du patient [22].

## C. **Mise en place des sangsues**

### 1. **Manipulation des sangsues**

La manipulation par le personnel soignant doit se faire avec des gants, et la préhension des sangsues à l'aide d'une pince non traumatisante pour l'animal. La ventouse crâniale de l'annélide doit être placée de façon précise au niveau de la zone à traiter et l'animal doit être maintenu jusqu'à ce qu'il morde et reste immobile. Lorsque la sangsue aspire du sang, des ondes péristaltiques sont visibles extérieurement sur le corps de l'animal, et le volume de ce dernier augmente progressivement.



## **2. Stimulation de la morsure**

Les sangsues commercialisées sont normalement à jeun depuis plusieurs mois, elles ont donc tendance à mordre facilement. Si toutefois elles ne cherchent pas à mordre, le site de pose peut être scarifié avec une aiguille ou gratté avec une lame de scalpel jusqu'à la rosée sanguine afin de faire apparaître une goutte de sangsue qui va stimuler la sangsue [140, 160]. L'application d'eau sucrée ou de beurre au niveau de la région à traiter semble également stimulante pour la sangsue [58, 99].

Lorsque la sangsue est destinée à une extrémité (réimplantation digitale par exemple), il peut être utile d'immerger cette dernière dans un récipient d'eau stérile où aura été préalablement placée la sangsue. En effet, les vibrations engendrées constituent des stimulants efficaces de la morsure [132].

## **3. Détachement de la sangsue**

Après fixation sur la région de peau souhaitée, la sangsue ingère du sang pendant 30 à 60 minutes puis se détache spontanément, une fois son repas terminé. Il peut arriver que les repas soient trop prolongés lors d'insuffisance artérielle notamment [110]. Dans cette situation, il y a nécessité de forcer le détachement de la sangsue. En aucun cas il ne faut l'arracher violemment, sous peine de douleur pour le patient, et d'installation d'un processus infectieux en regard du site de morsure. En cas de résistance de l'animal, différentes méthodes autres que le forceps peuvent être employées. Une technique historiquement utilisée était de mettre une cigarette allumée au contact de la sangsue [103]. Certains auteurs préconisent d'appliquer de l'alcool à 70% sur le dos de la sangsue à l'aide d'une compresse mais cette solution présente un risque de régurgitation par la sangsue [134]. L'application d'une solution salée à 3% sur l'annélide favorise un détachement de celui-ci, de même qu'une application directe de sel de table [79, 103]. En cas de migration éventuelle d'une sangsue dans l'appareil respiratoire supérieur, une anesthésie du patient à l'aide de sévoflurane permet d'affaiblir la sangsue et de l'ôter par forceps sans difficulté [134].

#### **4. Aspect quantitatif**

Le nombre de sangsues utilisées, ainsi que la fréquence des séances est fortement variable selon les indications ; aussi cet aspect est développé ultérieurement dans ce travail concernant les indications de l'hirudothérapie.

#### **D. Après une séance d'hirudothérapie**

##### **1. Vérification des plaies de morsure**

Si les séances sont répétées, une vérification préalable des plaies de morsure existantes doit être entreprise afin de mettre en évidence des signes d'infection ou d'allergie. Le saignement prolongé une fois le repas sanguin de la sangsue terminé participe grandement à l'effet thérapeutique recherché. L'écoulement du sang doit donc être favorisé par élimination d'éventuels caillots sanguins susceptibles de se former en regard du site de morsure à l'aide d'une compresse imbibée de NaCl [69]. En fin de séance, un pansement non compressif peut être mis en place pour des raisons pratiques, l'hémorragie persistant pendant plusieurs heures.

##### **2. Élimination des sangsues utilisées**

Les sangsues sont à usage unique et ne doivent en aucun cas être relâchées dans la nature après utilisation. Elles doivent être euthanasiées avant d'être éliminées comme des déchets biologiques potentiellement infectieux. Les annélides sont anesthésiés par immersion dans une solution alcoolique à 8% pendant 3 minutes. Ils sont ensuite plongés dans une solution alcoolique à 70% pendant 5 minutes [140]. Le récipient fermé de façon sécurisé est ensuite envoyé pour incinération.

### **III. INDICATIONS CLINIQUES DE L'HIRUDOTHÉRAPIE**

---

Il existe de nombreuses applications médicales traditionnelles de l'hirudothérapie. Ne sont néanmoins présentées ici que les indications modernes ayant fait l'objet d'études ou de cas cliniques publiés.

#### **A. Hirudothérapie et microchirurgie**

Les principales indications actuelles de l'hirudothérapie relèvent de la microchirurgie réparatrice, où les sangsues sont employées dans deux circonstances : la réimplantation d'extrémités et la prise de greffe de lambeaux. Dans une étude rétrospective, Sartor et ses collaborateurs ont évalué que le nombre de patients traités par hirudothérapie aux hôpitaux de Marseille pour ces indications entre les années 1996 et 2000 s'élevait à 200, toutes unités confondues [117].

##### **1. Intérêt pour les tissus greffés**

La survie des tissus greffés dépend pleinement du retour veineux. Ce dernier est fréquemment compromis en post-opératoire immédiat en raison de la flaccidité intrinsèque des veines. Leur tendance à collaber fait qu'elles font facilement l'objet d'obstruction. Elles sont également sujettes à occlusion et les thromboses veineuses, responsables de 35% des échecs observés, constituent la première cause d'échec de greffe de lambeaux cutanés dans les 48h post-greffe [60]. L'objectif de l'utilisation de sangsues dans le contexte de la réimplantation tissulaire est de limiter ce taux d'échecs.

Une fois en place, les annélides drainent le greffon qui n'est plus drainé correctement par le système veineux. En décongestionnant les tissus réimplantés, et en participant à la lyse des microthrombi via leur salive, elles sont à l'origine d'une perméabilisation du système veineux et d'une diminution locale de pression. Elles permettent ainsi l'apport aux greffons d'éléments cellulaires et nutritifs par la circulation artérielle et capillaire. Leur participation dans le rétablissement d'une circulation sanguine normale permet

d'éliminer les éléments toxiques accumulés, évitant ainsi la mise en place d'un processus nécrotique. Les sangsues participent donc indirectement à la mise en place d'une néovascularisation au sein du tissu greffé, en assurant la survie du tissu le temps de la néoangiogénèse.

Par ailleurs, les sangsues ne se nourrissent qu'à partir de tissus vivants. Leur tendance à mordre la zone à traiter au bout d'un intervalle de temps plus ou moins long constitue un test de viabilité pour les greffons [48].

## **2. Conditions pour le greffon**

La présence de congestion veineuse non compliquée d'une insuffisance artérielle au niveau du tissu réimplanté est une condition nécessaire pour le recours à l'hirudothérapie en chirurgie réparatrice.

Il est crucial pour le devenir du tissu greffé que la congestion veineuse soit diagnostiquée de façon précise et précoce. Une surveillance rapprochée est en conséquence nécessaire afin d'optimiser les chances de survie du greffon, qui sont fortement diminuées au-delà de 48h après l'apparition d'une congestion veineuse [98].

Les critères de diagnose d'une congestion veineuse avec irrigation artérielle maintenue, valables chez l'homme comme chez l'animal sont regroupés dans le tableau 3. Une photographie représentative d'une zone de congestion veineuse est donnée en figure 17.

- Couleur brunâtre à bleutée observable à l'examen direct
- Présence d'œdème dont l'intensité augmente rapidement
- Température augmentée localement
- Temps de recoloration capillaire diminué
- Saignement important de couleur sombre après piqûre avec une aiguille

**Tableau 3** : Critères cliniques de reconnaissance d'une zone de congestion veineuse - (Source : [130])

La réalisation d'un Doppler permet également de confirmer la présence d'une congestion veineuse. C'est une technique sensible permettant de mettre en évidence d'éventuelles anomalies circulatoires comme une occlusion veineuse, avant l'apparition des signes cliniques associés [98].

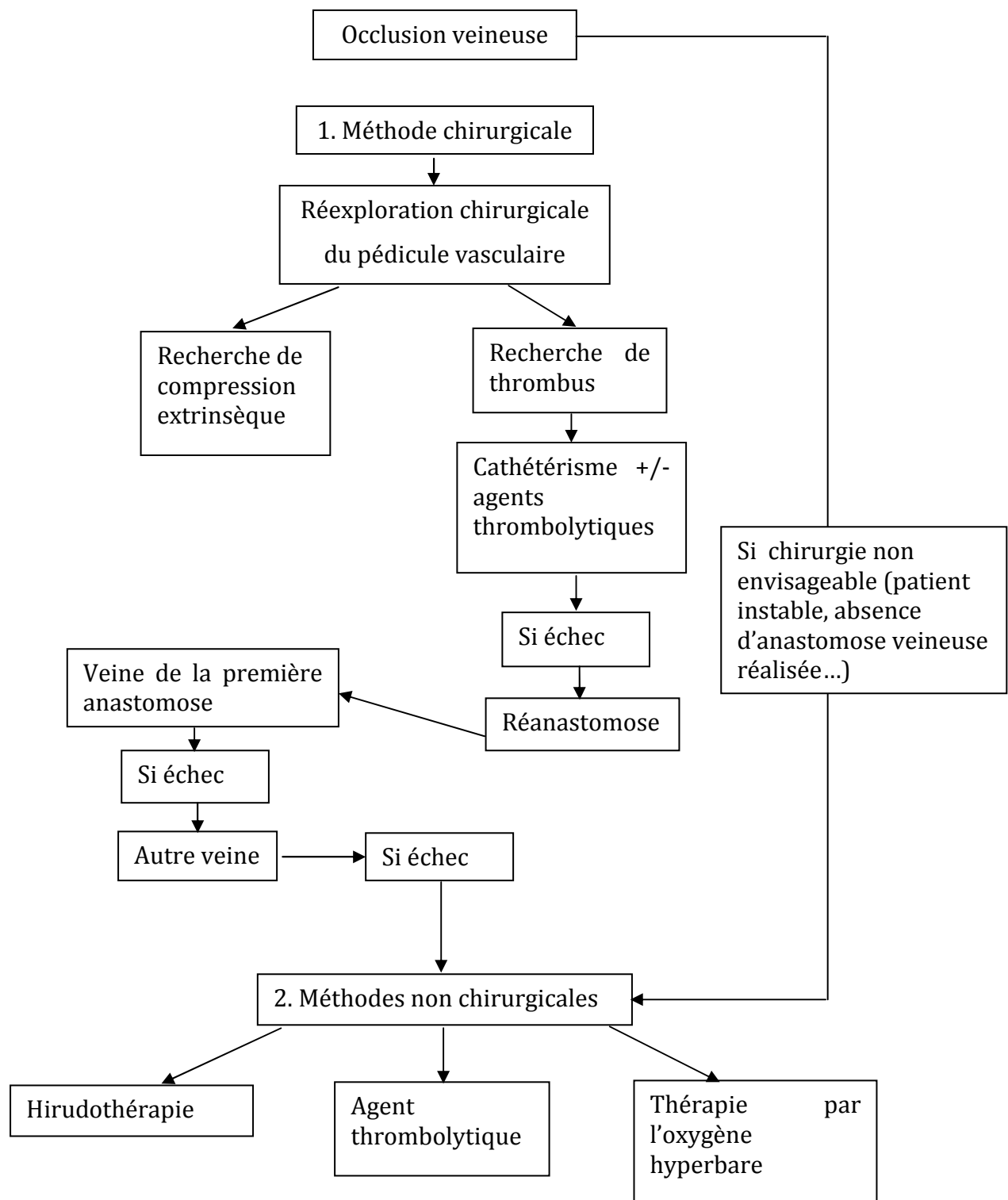


**Figure 47** : Lambeau cutané présentant une congestion veineuse après greffe sur un membre thoracique chez un chien - (Source : [160])

### 3. Place des sangsues dans la démarche thérapeutique

Les sangsues sont utilisées chez l'homme pour la sauvegarde du greffon congestionné seulement en cas d'absence d'anastomose veineuse chirurgicale initiale ou en cas d'échec de la reprise chirurgicale de cette dernière. La démarche thérapeutique générale en cas de congestion veineuse sur un greffon est résumée en figure 18.

Dans un souci économique, un recours à des méthodes moins onéreuses doit être envisagé en médecine vétérinaire. Cela exclut donc la reprise chirurgicale des anastomoses par méthode chirurgicale au profit de l'hirudothérapie qui peut être envisagée d'emblée.



**Figure 18** : Démarche thérapeutique pour la prise en charge d'un greffon congestionné chez l'homme (d'après [73, 98])

#### **4. Durée du traitement - nombre de sangsues**

Les sangsues doivent être utilisées plusieurs fois par jour jusqu'à la mise en place n'anastomoses capillaires permettant le drainage autonome du greffon. Le temps nécessaire pour la mise en place de l'angiogenèse est très variable selon le contexte. Le délai de formation du nouveau réseau vasculaire dépend fortement de la localisation de la greffe (éléments vasculaires à proximité du site de greffe en nombre plus ou moins important) et du volume de tissu greffé. Au final, l'angiogenèse peut prendre 3 à 7 jours [73].

Il n'existe pas de ligne directrice quant au nombre de sangsues à utiliser. Ce dernier est défini en fonction de critères cliniques sur la base de l'expérience du thérapeute. Toutefois, le nombre d'annélides à utiliser est à mettre en relation avec le volume de tissu dont il faut rétablir le drainage ainsi qu'avec la sévérité d'atteinte de celui-ci [130].

L'élément permettant de décider de l'arrêt de l'hirudothérapie est la disparition macroscopique des signes de congestion veineuse avec rétablissement d'une couleur rosée présente de façon durable après retrait des sangsues et arrêt du saignement prolongé induit par ces dernières.

#### **5. Hirudothérapie et réimplantation d'extrémités chez l'homme**

Chez l'homme, les sangsues peuvent être utilisées en traumatologie après avulsion d'une extrémité. Cette indication n'est pas valable chez l'animal, chez qui l'amputation est d'emblée préférée à la replantation. Nous donnerons ici quelques exemples de l'application de l'hirudothérapie pour l'aide à la survie des extrémités réimplantées compromises.

##### **a) Réimplantations digitées**

Les sangsues sont indiquées afin de pallier à la stase veineuse observée lors de réimplantation digitée après avulsion, et lors la prise en charge d'un « *ring finger syndrom* ».

- **Réimplantation distale de phalanges**

Baudet a publié une série de cas de réimplantations digitées distales. Au cours de certaines de ses interventions, lorsque la congestion veineuse était particulièrement sévère et en l'absence d'alternative chirurgicale, des sangsues étaient mises en place. Les sangsues étaient appliquées quotidiennement pendant 6 jours, à raison de 4 à 6 sangsues par séance [14].

Dans leur étude rétrospective menée entre 2004, et 2008, Whitaker et ses collaborateurs rapportent un taux de survie de 70 % des doigts réimplantés ayant été traités par hirudothérapie suite à une congestion veineuse post-opératoire pour un total de 10 patients traités [141]. Ce pourcentage de survie est bien supérieur à celui observé par Tamai et ses collaborateurs qui rapportaient un taux de survie de 17% des doigts réimplantés présentant une congestion veineuse sans recours à l'hirudothérapie [129].

- **« Ring syndrom »**

Le « *ring syndrom* » correspond à l'ensemble des manifestations traumatiques observables au niveau d'un doigt portant une bague qui s'accroche dans les rouages d'une machine ou une aspérité quelconque. Les manifestations du « *ring syndrom* » vont du dégantage du doigt à son amputation (voir figure 19).



**Figure 19** : Dégantage d'un doigt dans le cadre d'un « *ring syndrom* » - (Source : [169])



Le traitement du « ring syndrom » s'étend de la réalisation de sutures microvasculaires à l'amputation selon la gravité de l'atteinte des structures anatomiques. Si une prise en charge microchirurgicale est envisageable, la congestion veineuse en est une complication fréquente. Les sangsues sont alors utilisées dans ce cas comme adjuvants après la microchirurgie pour lever la congestion. Tuncali et ses collaborateurs conseillent l'application régulière d'une sangsue toutes les 4 à 6 heures pendant une semaine afin de rétablir la circulation sanguine digitée [133].



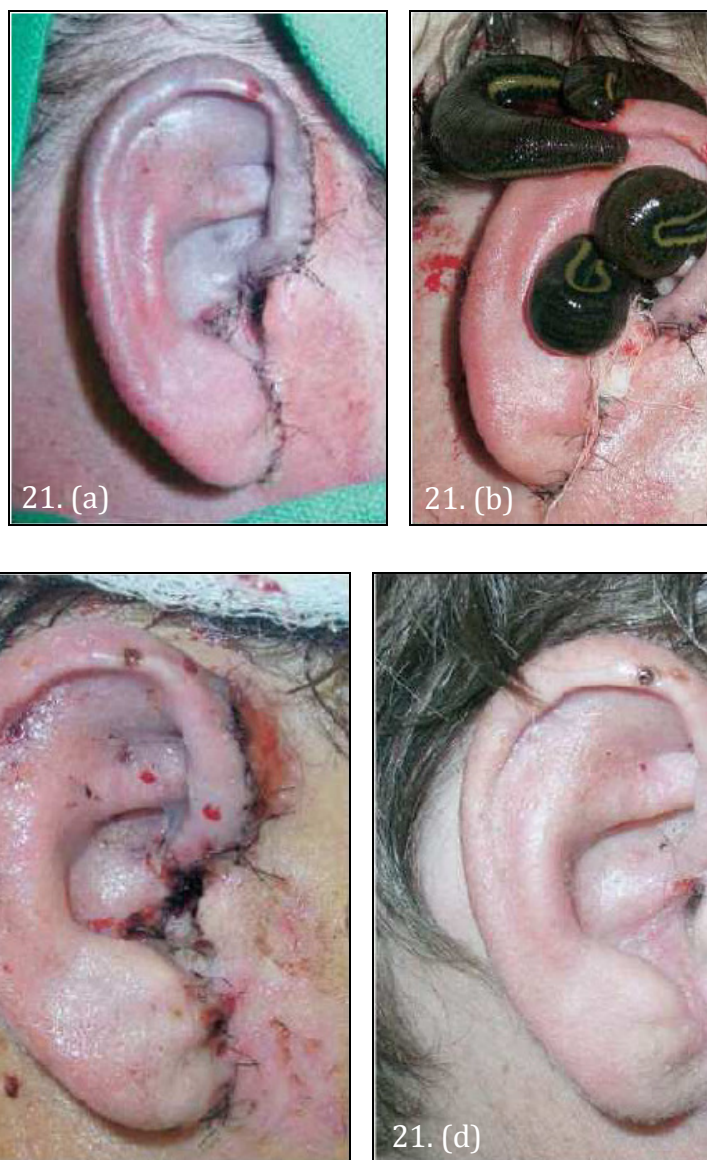
**Figure 20:** Hirudothérapie et « ring syndrom » - (a) vue dorsale du doigt traumatisé 3 jours après le début des symptômes, la congestion veineuse est sévère - (b) vue dorsale du doigt traumatisé après 4 jours d'hirudothérapie, l'œdème est toujours important mais la couleur tend à se normaliser- (c) vue dorsale du doigt au cours d'un suivi 17 mois après le traumatisme, la flèche correspond à l'ancien emplacement de la bague - (Source : [133])

## **b) Réimplantations faciales**

- **Réimplantation auriculaire**

La mise en place d'anastomoses vasculaires chirurgicales dans cette région est difficile techniquement étant donnée la petite taille des éléments vasculaires utilisables. Aussi les échecs de réimplantation dus à une insuffisance circulatoire sont fréquents.

Plusieurs cas cliniques de réimplantation de l'oreille où l'hirudothérapie a été intégrée à démarche thérapeutique [23, 63, 64, 70, 101]. Parmi ceux-ci figure le cas de réimplantation des deux tiers supérieurs de l'oreille publié par Horowitz en 2005 [63]. Au cours de l'intervention entreprise pour la réimplantation, la mise en place d'une anastomose artérielle a permis un rétablissement de l'apport sanguin dans le greffon une heure après la chirurgie. Toutefois l'installation d'une congestion veineuse au sein du tissu réimplanté n'a pu être évitée du fait de l'absence d'anastomose veineuse chirurgicale réalisable. Les chirurgiens ont alors considéré le recours à l'hirudothérapie. 48 heures post-réimplantation et pendant 24 heures, 3 sangsues étaient appliquées toutes les huit heures. Une amélioration clinique a été visible dès la première séance. 6 jours après la chirurgie, l'oreille réimplantée était viable et en bonne voie de cicatrisation, avec une cicatrisation totale observée au bout de 2 mois. Dans une autre publication, Hullet et ses collaborateurs ont obtenu des résultats similaires dans le cadre d'une réimplantation complète de l'oreille après avulsion, en appliquant les sangsues de façon biquotidienne (voir figure 21) [64].



**Figure 51** : Illustration du bénéfice de l'hirudothérapie dans le cadre d'une réimplantation totale de l'oreille - (a) Oreille congestionnée 24 h après l'intervention - (b) Sangsues en place au niveau des zones congestionnées - (c) Oreille après trois jours séance d'hirudothérapie - (d) Oreille traitée par les sangsues, 4 semaines après l'opération - (Source : [64])

- **Réimplantation labiale**

Plusieurs cas de réimplantation labiale compliquées de congestion veineuse pour lesquelles les chirurgiens ont eu recours aux sangsues ont été publiés [8, 137].

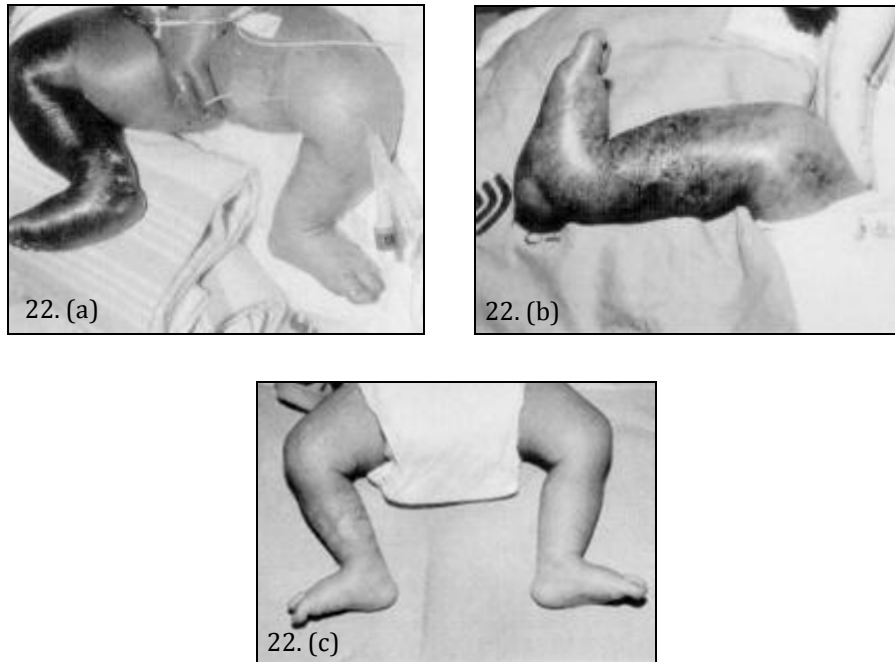
La réimplantation labiale fait partie des indications de l'hirudothérapie en chirurgie réparatrice maxillo-faciale étant donné la faiblesse du drainage veineux naturellement présent au niveau des lèvres. Ainsi, il n'y a pas de veine anatomiquement associée à l'artère labiale, le drainage labial n'ayant lieu que par le biais d'un plexus sous-muqueux.

Dans le cas publié par Baj, une partie de la lèvre supérieure a dû être réimplantée avec succès chez une patiente après une morsure par un chien. Dans ce cas l'hirudothérapie a été instaurée de façon agressive en post-opératoire direct: toutes les deux heures pendant 6 jours puis toutes les 5 heures les 7 jours suivants. Les sangsues étaient utilisées en parallèle d'un traitement anticoagulant systémique [8].

**c) Reperfusion d'un membre [138]**

Weinfeld et ses collaborateurs ont eu recours à l'hirudothérapie dans le cadre de la levée d'une congestion veineuse sévère au niveau d'un membre inférieur chez un nourrisson. Cet enfant avait subi une ligature de la veine iliaque commune droite suite à une avulsion de cette dernière. Dans ce cas la pose de sangsues a été considérée d'emblée avant reprise chirurgicale, étant donné la précarité de l'état général de l'enfant.

Les sangsues ont été mises en place au niveau de la voute plantaire et de la partie antérieure du tibia, à raison d'un annélide par site. Suite à la première séance, une diminution de la congestion veineuse était déjà notable avec diminution de l'œdème et atténuation de la cyanose. Les séances ont été répétées de façon continue durant 48h, puis ont été pratiquées de façon intermittente cinq jours supplémentaires. Chaque séance durait entre une et deux heures. L'utilisation des sangsues dans ce contexte s'est avéré être un succès puisque la sensibilité et la motricité du membre ont été jugées normales lors du suivi un an plus tard (voir figure 22).



**Figure 22** : Illustration du bénéfice de l'hirudothérapie pour la reperfusion d'un membre - (a) Membre congestionné avant hirudothérapie - (b) Membre après 7 jours d'hirudothérapie- (c) Membre un an plus tard - (Source : [138])

## 6. Hirudothérapie et greffe de lambeaux

### a) **Contexte d'utilisation des lambeaux**

Les lambeaux correspondent à un transfert de tissu vascularisé d'un site receveur vers un site donneur. Ils peuvent être de différente nature tissulaire et sont employés en chirurgie réparatrice pour palier une perte de substance d'origine traumatique ou chirurgicale (exérèse de tumeur volumineuse par exemple). Ces lambeaux sont employés aussi bien chez l'homme que chez l'animal. En ce sens, un cas de recours à l'hirudothérapie dans le cadre d'une greffe de lambeau cutané libre en région carpienne après exérèse tumorale a été publié chez le chien [160].

## **b) Classification simplifiée des lambeaux [156]**

Les lambeaux peuvent être classés de différente manière :

- Selon leur nature tissulaire : lambeaux cutanés, fasciocutanés, musculocutanés
- Selon la proximité entre la zone donneuse et la zone receveuse : lambeau local ou distant
- Selon le type de mouvement dont ils feront l'objet pendant le transfert : lambeau d'avancement, de rotation, de translation
- Selon leur type de vascularisation :
  - ✓ Soit le lambeau ne contient pas d'axe artérioveineux défini anatomiquement : il s'agit dans ce cas d'un lambeau cutané dont la vascularisation est assurée par un plexus dermique. On parle de lambeau cutané « random »
  - ✓ Soit le lambeau contient un axe artérioveineux défini anatomiquement ou pédicule : le lambeau peut dans ce cas être cutané, musculocutané ou fasciocutané. Dans ce cas l'irrigation du lambeau est plus fiable. Le pédicule vasculaire peut être maintenu en continuité avec la zone donneuse : le lambeau est alors dit pédiculé. Lorsque le pédicule est de calibre suffisant, il peut être sectionné chirurgicalement pour être anastomosé à distance au niveau des vaisseaux du site receveur : le lambeau est dit libre.

Les lambeaux les plus fragiles d'un point de vue vasculaire et donc les plus soumis à complication post-opératoire sont donc les lambeaux cutanés « random » et les lambeaux libres puisque la circulation sanguine à leur niveau dépend uniquement de l'installation d'une néovascularisation avec le site receveur à leur périphérie.

### c) **Sangsues et lambeaux**

- **Prévalence de la congestion veineuse pour les lambeaux [61]**

Dans leur étude rétrospective concernant la greffe de lambeaux cutanés libres chez l'homme, Hidalgo et Jones ont obtenu un taux de congestion veineuse post-opératoire de l'ordre de 5%.

- **Nécessité d'une prise en charge rapide**

Contrairement aux replantations d'extrémités pour lesquelles la quantité de tissu nécessaire est généralement relativement faible, les lambeaux sont plus étendus et représentent une plus grande quantité de tissu, si bien que l'apport vasculaire nécessaire pour la viabilité du greffon est supérieur. Selon Goode, les cliniciens ne disposent que de quelques heures pour rétablir le drainage d'un lambeau présentant une occlusion veineuse avant l'installation de complications [43]. Aussi dans ce contexte, après apparition d'une congestion veineuse, si une reprise chirurgicale n'est pas entreprise ou si elle échoue, l'hirudothérapie doit être instaurée autant que possible dans les 24h [112].

- **Lambeaux concernés**

Les sangsues sont utilisables sur des lambeaux greffés de différente composition tissulaire : lambeaux cutanés, fasciocutanés ou musculocutanés ; avec diverses localisations (face, membres...). Tous les lambeaux greffés peuvent faire l'objet d'hirudothérapie dès lors qu'ils présentent des signes de congestion veineuse. Toutefois, les lambeaux pour lesquels l'hirudothérapie semble la plus indiquée sont les lambeaux cutanés [141].

- **Nombre de sangsues, fréquence des séances et durée du traitement**

Le nombre de sangsues à mettre en place, ainsi que le nombre de séances à prévoir sont à évaluer en fonction de chaque patient selon deux critères : la taille du lambeau et son

degré de congestion veineuse. Whitaker conseille d'utiliser 5 à 6 sangsues pour un lambeau, mais le nombre d'annélides à utiliser ainsi que les fréquences et durées des séances d'hirudothérapie sont variables selon les auteurs [141].

Riede et ses collaborateurs ont étudié l'efficacité de l'hirudothérapie pour le sauvetage des lambeaux cutanés employés pour reconstruction faciale chez l'homme après exérèse tumorale sur un échantillon de 23 patients. Dans cette étude, les lambeaux étaient tous des lambeaux pédiculés. L'utilisation moyenne de 1.7 séance par patient avec 2.6 sangsues par séance a permis dans 87% d'obtenir une restitution *ad integrum* des lambeaux greffés au bout d'un à deux jours [112].

Par ailleurs, dans le cadre d'une reconstruction labiale avec un lambeau musculocutané pédiculé chez l'homme, Varghese a obtenu le sauvetage du lambeau congestionné grâce à deux séances d'hirudothérapie quotidiennes à raison de deux sangsues par séance, pendant 4 jours [135].

Lorsque les lambeaux présentent une vascularisation plus précaire, il est nécessaire que l'hirudothérapie soit poursuivie plus longtemps dans la durée. Ainsi, Haycox et ses collaborateurs ont décrit la nécessité d'une séance quotidienne pendant 22 jours chez un patient humain ayant subi une reconstruction de scalp à l'aide d'un lambeau libre [56].

- **Efficacité des sangsues pour le sauvetage des lambeaux chez l'homme**

Dans leur étude rétrospective menée entre 2004 et 2008, Whitaker et ses collaborateurs rapportent un sauvetage de plus de 90% de la surface des lambeaux cutanés pédiculés congestionnés utilisés dans 77% des cas [141].



## **B. Hirudothérapie et troubles vasculaires et hématologiques ne relevant pas de la microchirurgie**

### **1. Sangsues et collections liquidiennes**

L'utilisation de sangsues permet une résorption accélérée et plus efficace d'un hématome ou d'un œdème, qu'ils soient localisés ou diffus. Les annélides sont utilisés pour juguler leur extension et favoriser leur guérison dans deux circonstances [20, 58, 75, 89, 105] :

- Le premier cas concerne les collections liquidiennes atteignant des régions du corps où elles sont à l'origine de déficits fonctionnels faibles à modérés. Les sangsues peuvent permettre dans ce cas d'éviter un recours à une intervention chirurgicale.
- Le deuxième cas concerne les collections liquidiennes touchant une région critique pour laquelle un abord chirurgical est délicat de premier abord ou impossible. L'intérêt des sangsues est alors de permettre un meilleur accès à la zone à traiter en vue d'une intervention, si celle-ci est réalisable, en permettant de diminuer la taille de la collection liquidienne. Si un traitement chirurgical est impossible, les sangsues sont alors utilisées jusqu'à résorption totale de la collection.

#### **a) Hirudothérapie et collections liquidiennes accompagnées d'un déficit fonctionnel faible à modéré**

- **Hématome localisé dans le cas d'une atteinte fonctionnelle modérée**

▲ *Exemple chez l'homme* [58]

Heckmann et ses collaborateurs rapportent un cas pour lequel le recours aux sangsues a été un succès chez l'homme dans le traitement d'un hématome de l'avant-bras engendrant une compression nerveuse modérée. Après mise en place de 13 sangsues

ayant ingéré près de 150mL de sang, une amélioration clinique a été ressentie au bout de 24 heures, avec disparition quasi-totale des symptômes après 48h. Aucun autre traitement (en particulier chirurgical) n'a été nécessaire.

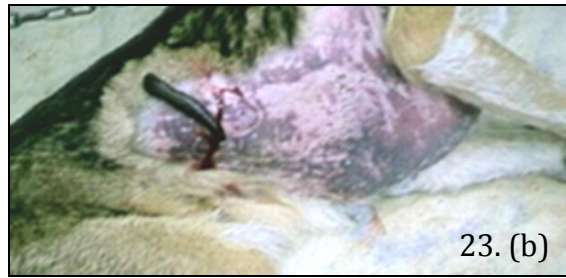
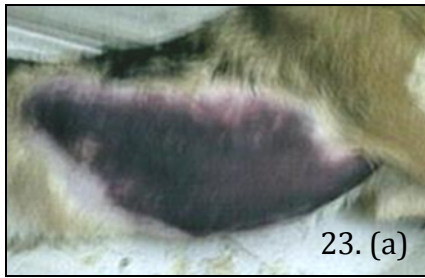
▲ *Perspectives chez l'animal*

Le bénéfice apporté par les sangsues dans le soulagement d'hématomes localisés fait qu'elles constituent une piste thérapeutique possible pour les othématomes chez le chien. La prise en charge classique de ces hématomes est chirurgicale mais ces derniers ont tendance à récidiver malgré la mise en place de pansements compressifs en période post-opératoire, rendant une nouvelle intervention souvent nécessaire. Le recours à des séances d'hirudothérapie devrait être considéré comme alternative non chirurgicale. En effet, l'instauration de séances régulières dès la réapparition de l'hématome permettrait d'éviter le recours à la chirurgie pour les animaux à risque anesthésique élevé, ou pour des propriétaires ne souhaitant pas une nouvelle intervention.

La participation des sangsues pour la résorption des collections liquidiennes pourrait également être mise à profit en période post-opératoire en cas de formation d'œdème ou d'hématome. Chez le chien notamment, elles pourraient être utilisées afin de soulager les animaux présentant un œdème scrotal consécutif à une castration.

• **Hématome diffus dans le cas d'une atteinte fonctionnelle modérée : exemple chez l'animal [20]**

Les sangsues peuvent être employées pour aider à accélérer la résorption d'hématomes diffus, une fois la source d'hémorragie identifiée et jugulée. Un cas d'utilisation des sangsues pour la prise en charge d'un hématome diffus thoraco-abdominal unilatéral chez un chien a été publié en 2004. Des sangsues ont été appliquées quotidiennement pendant 4 jours au niveau des zones les plus marquées par l'hématome, et ont permis une résorption de ce dernier en 5 jours.



**Figure 26 :** Prise en charge d'un hématome diffus chez le chien par hirudothérapie - (a) Hématome avant hirudothérapie - (b) Résorption de l'hématome après 3 jours d'hirudothérapie - (c) Résorption de l'hématome après 5 jours d'hirudothérapie - (Source : [20])

## **b) Hirudothérapie et collections localisées en région critique**

- **Facilitation de l'abord chirurgical : exemple d'un hématome périorbitaire [89]**

Menage et Wright ont publié un cas de prise en charge chez l'homme d'un œdème périorbitaire d'origine traumatique grâce à l'hirudothérapie. Les sangsues ont été mises en place ici pour permettre une résorption de l'œdème compatible avec la réalisation d'un examen ophtalmologique approfondi, et d'une éventuelle intervention chirurgicale. La résorption de l'œdème a été rendue possible en quelques heures par l'application de 6 sangsues en regard des paupières œdématiées.

- **Recours à l'hirudothérapie lors de collection en région critique sans recours chirurgical possible**

- ▲ *Cas d'un œdème penoscrotal* [105]

Les sangsues peuvent être employées pour faciliter la résorption d'œdèmes. En 2003, Philip et ses collaborateurs ont publié une série de cas d'œdèmes penoscrotaux sévères associés à une anurie, consécutifs à des adénocarcinomes prostatiques chez l'homme, pris en charge par hirudothérapie. Des sangsues étaient mises en place quotidiennement en région scrotale jusqu'à résorption de l'œdème qui nécessitait entre 6 et 15 jours selon les cas.

- ▲ *Cas d'un hématome sublingual* [75]

Les sangsues peuvent être utilisées pour des collections liquidiennes dans une région critique comme la région sublinguale. En effet, un hématome volumineux à ce niveau peut être à l'origine d'une obstruction haute des voies respiratoires. Lee et ses collaborateurs ont publié un cas de prise en charge avec succès d'un tel hématome grâce à des séances d'hirudothérapie biquotidiennes (voir figure 24). 4 jours consécutifs d'application des sangsues ont permis de lever le risque d'obstruction respiratoire, et au bout d'une semaine la langue avait retrouvé des dimensions normales.



**Figure 24:** Prise en charge d'un hématome lingual par hirudothérapie - (a) Hématome sublingual à l'admission - (b) Hématome sublingual après 48h d'hirudothérapie - (c) Langue après une semaine d'hirudothérapie - (Source : [75])

## 2. Sangsues et varices [97]

Une étude randomisée contrôlée a été publiée concernant cette indication de l'hirudothérapie.

### a) **Protocole**

Au cours de cette étude d'une durée de 2 mois, l'efficacité des sangsues (espèce *Hirudinaria granulosa*) a été évaluée pour le traitement des veines variqueuses, chez des patients ne prenant aucune médication parallèle.

50 patients étaient divisés en deux groupes de traitement :

- 30 patients étaient placés sous hirudothérapie une fois par semaine pendant 2 mois, et leur état clinique était évalué tous les 15 jours pendant ces 2 mois
- 20 patients recevaient un traitement de référence basé sur le port de bas de contention et surélévation du membre dès que possible

3 critères étaient évalués cliniquement : la douleur (scoring), la résorption des œdèmes (mesures), et la pigmentation (scoring et mesures).

### b) **Résultats**

L'hirudothérapie et le port de bas de contentions avec élévation du membre ont tous deux permis de diminuer le score de douleur de façon statistiquement significative, mais de façon significativement plus rapide pour les sangsues (au bout de 30 jours) que pour le traitement de référence (au bout de 45 jours).

Les deux traitements ont par ailleurs permis de diminuer l'œdème de façon statistiquement significative, mais de façon significativement plus rapide pour les sangsues (au bout de 15 jours) que pour le traitement contrôle (au bout de 60 jours).

Concernant la pigmentation, seule l'hirudothérapie a eu une action au bout de 45 jours.

### c) **Discussion**

Cette étude tend à montrer le bénéfice de l'hirudothérapie concernant la diminution de l'œdème et de la pigmentation lors de la prise en charge de veines variqueuses par rapport à un traitement contentif classique. Cependant, l'étude n'étant pas réalisée en aveugle, les données obtenues peuvent être biaisées. De plus, les résultats concernant le bénéfice apporté en termes de douleur peuvent être mis en doute puisque cette dernière était évaluée par scoring, qui reste une méthode subjective.

### 3. **Sangsues et polycythémie essentielle** [96]

Les sangsues peuvent être employées dans la prise en charge de certains troubles hématologiques comme la polycythémie essentielle. Le but de la prise en charge de cette maladie myéloproliférative est de diminuer l'hyperviscosité sanguine faisant suite à une augmentation de l'hématocrite. Dans le cas où la viscosité sanguine n'est pas trop sévèrement augmentée, le patient peut être traité de façon symptomatique par saignée mécanique. Toutefois, si l'hyperviscosité sanguine est trop sévère, la pratique de la saignée mécanique est impossible en raison de la formation précoce d'hématomes en regard des sites de ponction. Le recours aux sangsues est dans ce contexte une bonne alternative car elles préviennent la formation d'hématomes et permettent le prélèvement d'un volume de sang suffisant.

Ainsi, Nett et ses collaborateurs ont utilisé les annélides pour la prise en charge initiale d'une polycythémie essentielle chez un chat présentant une hyperviscosité sanguine très sévère [96]. Pour le traitement de cet animal, quatre sangsues ont été mises en place jusqu'à gorgement complet et détachement spontané de ces dernières. Les mesures de l'hématocrite avant et après la pose des sangsues a montré une diminution de cette dernière de 15% directement post-hirudothérapie et de 8% supplémentaires dans les 24h suivantes avec saignement prolongé.

## C. Hirudothérapie et arthrose

La dernière grande application pour la pose de sangsues concerne l'arthrose, affection douloureuse pour laquelle la médecine humaine ou vétérinaire classique n'est en mesure de ne fournir qu'une prise en charge symptomatique d'efficacité variable.

### 1. Définition - prise en charge classique

L'arthrose se place en tête des maladies rhumatismales. Elle désigne les affections chroniques dégénératives du cartilage articulaire. Celles-ci se caractérisent, cliniquement, par des douleurs, des raideurs, des déformations, des craquements, et parfois une impotence.

Chez l'homme comme chez l'animal, les solutions thérapeutiques sont relativement limitées face à l'arthrose. La prise en charge médicale vise à limiter la douleur et à conserver une bonne fonctionnalité du membre ; elle passe d'un point de vue pharmacologique par l'administration d'anti-inflammatoires (stéroïdiens ou non) et d'antalgiques sous forme de cures [115]. La survenue d'effets indésirables importants à plus ou moins long terme suite au traitement prolongé avec des anti-inflammatoires constitue une limite à leur utilisation sur une longue durée et fait de l'hirudothérapie une alternative médicale possible pour une prise en charge symptomatique.

Des études cliniques ont été menées chez l'homme quant à l'effet procuré par l'utilisation de sangsues sur la douleur et la fonctionnalité dans le cadre de la prise en charge de la gonarthrose ou de l'arthrose du poignet [91, 92, 93, 145].



## 2. **Etudes cliniques concernant la gonarthrose**

### a) **Etude pilote [93]**

Une étude pilote non randomisée a démontré que l'application de sangsues apportait un soulagement rapide et durable des douleurs chez des patients souffrant d'arthrose du genou.

Cette étude a été menée chez un groupe de 16 patients souffrant de gonarthrose primaire, radiologiquement confirmée depuis plus de six mois. Aucun des patients ne présentait de pathologie sous-jacente connue et aucun n'avait reçu d'injection intra-articulaire de corticostéroïdes dans les trois mois précédents l'étude, et tout traitement anti-inflammatoire régulier était stoppé au début de l'étude.

Les patients ont été divisés en deux groupes de traitement.

- un groupe formé de 10 patients a reçu quatre sangsues appliquées localement sur l'articulation du genou, en regard des points présentant la douleur la plus importante à la palpation (voir figure 25). La durée moyenne de l'application des sangsues pour ces patients était de 80 minutes.

- un groupe de 6 patients a bénéficié d'un traitement conventionnel anti-inflammatoire.

Pour chacun de ces deux groupes la douleur était évaluée quotidiennement par échelle visuelle analogique.

Le score de douleur était significativement plus bas à partir du troisième jour post-hirudothérapie par rapport au groupe contrôle. Cette différence était toujours significative après 4 semaines.



**Figure 25** : Emplacement des sangsues appliquées lors de gonarthrose - (Source : [93])

### **b) Etude randomisée**

Une étude randomisée faisant suite à l'étude pilote précédemment évoquée a été mise en place par les mêmes auteurs sur un nouvel échantillon de 51 patients souffrant de gonarthrose radiologiquement confirmée [91]. L'évaluation clinique (douleur, mobilité, fonctionnalité) était réalisée par les patients eux-mêmes sur la base d'un questionnaire remis en début d'étude.

Les patients ont été répartis en deux groupes de traitement :

- un groupe composé de 24 patients a reçu une unique application locale de quatre à six sangsues
- un groupe formé de 27 patients a reçu un traitement topique anti-inflammatoire à base de diclofénac deux fois par jour pendant 28 jours, traitement dont l'efficacité a été démontrée pour le traitement de l'arthrose du genou chez l'homme [44]

Dans cette étude, une unique application de sangsues a montré une action antalgique significativement supérieure au diclofénac percutané après une semaine de traitement.

Toutefois le bénéfice apporté par les sangsues n'était plus significatif à partir de 28 jours. L'étude expose également que l'hirudothérapie a une action significativement amélioratrice concernant la mobilité et la fonctionnalité de l'articulation par rapport au diclofénac, jusqu'à 3 mois après la séance de pose de sangsues.

### c) **Deuxième étude randomisée [145]**

Une étude randomisée de l'université de New Delhi a évalué l'innocuité et l'efficacité de l'hirudothérapie à l'aide de l'espèce de sangsue locale *Hirudinaria manillensis* pour le traitement de la gonarthrose. L'évaluation clinique a été effectuée sur la base du même questionnaire que l'étude pilote.

Cette étude a été menée sur 40 patients répartis en deux groupes de traitement de même effectif :

- un groupe recevait uniquement un traitement à base de phytothérapie
- un deuxième groupe recevait le même traitement que le premier groupe et des séances d'hirudothérapie (3 sangsues par genou)

Pour les deux groupes, les traitements étaient répétées toutes les deux semaines jusqu'à 6 semaines après l'inclusion dans l'étude.

Les résultats obtenus montrent une amélioration significative de la mobilité du genou au bout de 2 semaines pour le groupe de patients sous hirudothérapie. A partir de 4 semaines, le score de douleur et la fonctionnalité sont également améliorées pour ce groupe.

### 3. **Etude randomisée concernant l'arthrose du poignet [92]**

Suite à leurs travaux sur la gonarthrose, Michalsen et ses collaborateurs ont conduit une étude randomisée en simple aveugle sur des patients présentant de l'arthrose au niveau de la première articulation carpo-métacarpienne. Au cours de cet essai étaient évaluées douleur, qualité de vie et fonctionnalité.

Cette étude a été menée durant 60 jours sur 32 patients répartis en deux groupes de traitement de même effectif :

- un groupe contrôle recevait un traitement à base d'application topique de diclofénac (deux fois par jours pendant 30 jours)
- un deuxième groupe était traité par une unique séance d'hirudothérapie (3 sangsues par genou)

Une semaine après la séance d'hirudothérapie ou l'instauration du traitement au diclofénac, une réduction du score de douleur significativement plus importante a été observée pour le groupe traité par les sangsues (les sangsues étaient responsables d'une diminution de l'ordre de 60%). Les auteurs ont également montré une persistance de cette différence significative jusqu'à la fin de leur étude, soit 60 jours. Les patients du groupe contrôle et les patients traités par les sangsues ont par ailleurs présenté une différence significative en faveur des annélides concernant l'amélioration de la qualité de vie et de la fonctionnalité de l'articulation au bout de 30 jours.

#### **4. Discussion**

Ces études tendent à prouver l'efficacité de l'application des sangsues dans le traitement de l'arthrose du genou ou de l'articulation métacarpo-phalangienne. Néanmoins, ces résultats doivent être relativisés en raison des limites des études publiées.

Tout d'abord, le protocole mis en place pour ces études n'était pas un protocole en double-aveugle, difficile à mettre en place pour ce type de traitement. Ainsi, il est fort possible que l'attente des investigateurs concernant les bénéfices de l'hirudothérapie soit comme celle des patients, plus importante que l'attente concernant les bénéfices du traitement administré dans les groupes contrôle. Ce dernier point a très certainement amené un biais dans les résultats obtenus, en faveur de la procédure invasive que constitue la pose de sangsue.

Par ailleurs, au cours des études randomisées sur l'arthrose du genou et l'arthrose du poignet menée par Michalsen, jusqu'à 10% des patients ont eu recours à des traitements ponctuels de secours, en plus de ceux prévus dans leur groupe de traitement, et cela

aussi bien pour les patients traités par hirudothérapie que par ceux traités par du diclofénac [92, 93]. Il est donc difficile de conclure d'où provient réellement le bénéfice observé.

De plus, dans les études présentées, les effets de l'hirudothérapie ont été évalués sur une durée de trois mois seulement pour la plus longue, alors que l'arthrose est une maladie chronique. En outre, pour gagner en pertinence, l'efficacité et l'innocuité de la pose de sangsues dans le cadre de la prise en charge de l'arthrose, notamment lors d'applications répétées, devraient faire l'objet d'études randomisées sur de plus longues périodes et à plus large échelle.

#### **D. Bilan sur les indications de l'hirudothérapie**

Les applications majeures de l'hirudothérapie pour lesquelles une réelle efficacité a été prouvée sont peu nombreuses. Les indications les plus documentées concernent la chirurgie réparatrice, lorsque la congestion veineuse menace un greffon. Les sangsues ne peuvent être appliquées chez l'animal dans ce cadre que pour la greffe de lambeaux. La deuxième grande indication concerne la résorption de collections liquidiennes, pour lesquelles les sangsues peuvent être appliquées efficacement aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Il existe d'autres applications plus anecdotiques comme la polycythémie essentielle ou les veines variqueuses, et conclure sur l'intérêt des sangsues dans le traitement de l'arthrose n'est pas envisageable sans plus d'investigations.

## **IV. COMPLICATIONS ET CONTRE-INDICATIONS DE L'USAGE DES SANGSUES ET DE LEURS PRODUITS**

---

Malgré le respect des indications, l'hirudothérapie n'est pas dénuée de complications. Ces dernières peuvent être infectieuses, hémorragiques ou dermatologiques pour la majorité. Ces dernières doivent être prises en considération par le clinicien afin de pouvoir les éviter au maximum et de limiter leur impact.

### **A. Complications infectieuses**

#### **1. Agents transmissibles**

Deux possibilités existent quant à l'origine des microorganismes potentiellement responsables d'infections chez le patient.

##### **a) Contamination des sangsues par un hôte préalable**

Les sangsues sont des parasites hématophages prenant plusieurs repas sanguins au cours de leur vie. Elles peuvent être des vecteurs d'agents infectieux ayant à un moment donné de leur cycle de développement chez l'hôte un tropisme sanguin ou cutané.

A l'époque où les sangsues médicinales étaient prélevées directement prélevées dans la nature et ne faisaient l'objet d'aucune mesure de contrôle de qualité sanitaire, il a été rapporté un portage par *Hirudo* de nombreuses bactéries, virus et trypanosomes [52]. De nos jours, les sangsues seraient susceptibles de transmettre des virus tels que l'hépatite C, le HIV ou les prions [50]. C'est pour cela qu'en plus de contrôles sanitaires réguliers, les hirudiniculteurs utilisent du sang de volaille plutôt que du sang de mammifère pour nourrir les annélides durant leur élevage afin de minimiser le risque infectieux [170]. Enfin, l'usage unique des sangsues avec élimination immédiate après utilisation est aujourd'hui de mise.

Ces différentes mesures font que dans les pays occidentaux, la contamination des sangsues au cours d'un repas sanguin sur un patient n'est plus une cause d'infection pour un patient ultérieur.

### **b) Bactéries endosymbiotiques du tube digestif**

La deuxième source de microorganismes est la sangsue elle-même, et plus particulièrement son tube digestif occupé par des bactéries endosymbiotiques. Lors d'un repas sanguin, la sangsue régurgite une partie de son contenu intestinal au niveau du site de morsure.

Les publications font souvent référence à *Aeromonas hydrophila* comme bactérie symbiotique principalement impliquée dans les infections des plaies de morsure de sangsue. Toutefois une telle identification était établie grâce à l'utilisation de tests commerciaux phénotypiques, qui ne permettaient pas de déterminer l'espèce d'*Aeromonas* impliquée de façon précise [1].

L'utilisation de méthodes non basées sur la mise en culture a permis d'identifier précisément l'espèce d'*Aeromonas* impliquée [142]. Ainsi la bactérie endosymbiotique principale d'*Hirudo medicinalis* est non pas *Aeromonas hydrophila* mais *Aeromonas veronii biovar sobria* [45]. Cette bactérie est très majoritairement impliquée dans les complications infectieuses de l'hirudothérapie.

*Aeromonas veronii* est un bacille motile des milieux aquatiques. C'est une bactérie Gram négatif anaérobie facultative, oxydase positive produisant naturellement une  $\beta$ -lactamase [15]. Elle est pathogène opportuniste pour l'homme, chez qui elle peut être à l'origine de gastro-entérite, de pneumonies et de septicémies [173].

La présentation clinique la plus commune observable après morsure de sangsue est une forme d'apparition subaigüe, dans les 10 jours suivant une séance d'hirudothérapie [117], mais une apparition retardée jusqu'à 30 jours est possible [22]. La présentation clinique classique est une cellulite associée à une odeur nauséabonde [37]. Un abcès sous-cutané est souvent présent. *Aeromonas* possède un tropisme pour le tissu musculaire, au sein duquel il est plus rarement responsable d'une protéolyse enzymatique avec production de gaz, faisant penser à une myonécrose induite par les clostridies [82]. *Aeromonas* peut aussi coloniser les parois des vaisseaux sanguins,

causant vasculites, thromboses et nécroses hémorragiques. Les cas plus sévères sont beaucoup plus rares et peuvent donner lieu à une perte tissulaire importante ou une septicémie [78]. Un cas de méningite à *Aeromonas* a même été rapporté après pose de sangsues au niveau du cuir chevelu [102].

### c) **Autres microorganismes**

Dans la littérature sont rapportés après application de sangsues des cas d'infections dues à *Staphylococcus aureus*, à *Pseudomonas* [140], *Serratia marcescens* [104] et à *Vibrio fluvialis* [135].

## 2. **Prévalence des affections à *Aeromonas***

Les complications infectieuses sont les complications les plus fréquentes de l'hirudothérapie. Leur prévalence chez l'homme est très variable en fonction des études, avec un taux allant de 3 à 14% des patients traités (voir tableau 4).

Auteur	Année	Nombre de patients	Durée de l'étude	Taux d'infection par <i>Aeromonas</i>	Antibioprophylaxie
De Chalain et al.	1996	18	5 ans	11%	Absente
Sartor et al.	2002	205	4 ans	3.4%	Absente ou molécule non adaptée
Bauters et al.	2007	47	2 ans	8.5%	Absente
Whitaker et al.	2011	35	4 ans	14.2%	46% des patients, molécule variable

**Tableau 4 :** Prévalence des infections a *Aeromonas* faisant suite à l'utilisation de sangsues en chirurgie réparatrice

Les complications infectieuses sont plus fréquentes dans le cas où l'hirudothérapie est utilisée en chirurgie plastique dans des régions présentant une congestion veineuse. En effet, au niveau de ces zones, l'immunité est compromise localement, favorisant le développement des infections [142].



### **3. Conséquences des complications infectieuses**

Lors de telles complications, une antibiothérapie prolongée est de mise. Un débridement agressif de la plaie de morsure est par ailleurs souvent nécessaire [4].

Au final, l'apparition d'infections secondaires au niveau des sites traités réduit le taux de sauvetage tissulaire. Dans son étude rétrospective, De Chalain a évalué que l'apparition d'infection en relation avec la pose de sangsues diminuait grandement le taux de survie tissulaire. Ce dernier est diminué de plus de 50 % en cas d'infection par rapport à une pose des annélides sans complication microbienne [28].

### **4. Prévention des complications infectieuses**

#### **a) Respect des indications**

Il convient tout d'abord de réserver l'hirudothérapie à des zones recevant une circulation artérielle suffisante, permettant une bonne nutrition tissulaire et l'afflux de cellules immunitaires en quantité suffisante [142].

#### **b) Précautions pour la manipulation des sangsues**

Au-delà de la nécessité d'usage unique des sangsues, d'autres mesures permettent de contribuer à limiter l'apparition des infections à *Aeromonas* mais également à limiter leur propagation en milieu hospitalier.

Le personnel manipulant les sangsues doit le faire de façon non traumatisante pour les annélides et selon de bonnes conditions hygiéniques avec port de gants et lavage systématique des mains au savon antiseptique après manipulation [39].

Enfin, au cours d'une séance d'hirudothérapie, il convient de ne pas arracher la sangsue de force et de préférer d'autres méthodes d'extraction si le repas de l'annélide est trop prolongé. En effet, un tel procédé peut amener l'animal à régurgiter abondamment. La mâchoire peut par ailleurs rester fixée au patient lors de l'extraction favorisant le développement d'un foyer inflammatoire [143].

### c) **Décontamination de sangsues**

Tout d'abord, l'eau utilisée pour remplir les récipients dans lesquels sont hébergées les sangsues contient des *Aeromonas* en quantité importante du fait de régurgitations de l'annélide. Cela implique que les germes présents dans le tube digestif puissent être retrouvés au niveau du tégument de la sangsue en cas de contact prolongé avec l'eau constituant son environnement. Aussi est-il préférable de changer l'eau des sangsues de façon hebdomadaire après désinfection du matériel utilisé avec un produit approprié. Des tentatives de décontamination de surface ont été entreprises par immersion des annélides dans des solutions antiseptiques ou contenant des antibiotiques mais n'ont pas permis d'éliminer les bactéries digestives [6, 15, 84].

Dans une étude menée en 2009, Mumcuoglu et ses collaborateurs ont testé l'intérêt de nourrir artificiellement les sangsues avec de la ciprofloxacine avant de les utiliser. Ce traitement a permis de réduire considérablement la quantité d'*Aeromonas* dans le tube digestif des annélides [94]. Cependant, la généralisation d'un tel procédé en milieu hospitalier pourrait être responsable de la multiplication des résistances chez *Aeromonas*, conduisant à des infections nosocomiales difficiles à traiter. De plus, l'élimination totale d'*Aeromonas* chez *Hirudo* laisserait une niche écologique libre pour d'autres microorganismes possiblement plus virulents.

### d) **Antibioprophylaxie**

Des problèmes infectieux faisant suite à l'hirudothérapie sont rencontrés dans deux situations : soit les patients ne font pas l'objet d'antibioprophylaxie, soit cette dernière est menée avec une molécule inefficace [4, 78]. Dans son étude menée en 2009, Whitaker a montré que près d'un quart des unités pratiquant l'hirudothérapie au Royaume-Uni et en Irlande ne pratiquaient pas d'antibioprophylaxie [142].

Les antibiotiques utilisés doivent être des molécules auxquelles *Aeromonas* est réputée sensible. Au cours d'études menées sur la résistance des souches d'*Aeromonas* isolées à partir de sangsues, les bactéries ont présenté une résistance importante aux pénicillines, céphalosporines de première génération, aux tétracyclines et à l'érythromycine. A l'inverse, les microorganismes sont sensibles aux céphalosporines à partir de la

deuxième génération, à l'association sulfaméthoxazole-triméthoprime, ainsi qu'aux fluoroquinolones. Aussi, même si un cas de résistance a été rapporté [33, 39], la molécule recommandée à l'heure actuelle est la ciprofloxacine, qui en plus de montrer un profil de résistance globalement favorable, présente une bonne biodisponibilité orale, facilitant son utilisation [142].

La prise des antibiotiques doit être débutée juste avant la séance d'hirudothérapie et être poursuivie jusqu'à la fermeture de la plaie de morsure [4].

## **B. Hémorragies importantes**

Les hémorragies incontrôlées constituent la deuxième complication la plus fréquente. L'hémorragie peut persister classiquement jusqu'à 24 à 48h après une séance d'hirudothérapie à cause des différents composés salivaires perturbant l'hémostase physiologique. La quantité de sang perdue dans cet intervalle de temps est habituellement de quelques dizaines de millilitres, donc faible par rapport à la volémie totale du patient. Dans la plupart des cas, le saignement est aisément contrôlable par pressions successives avec une compresse de gaze [69]. Dans de rares cas, les saignements observés suite à une morsure de sangsue sont incoercibles par cette méthode ; ceux-ci peuvent alors être stoppés à l'aide d'une compresse hémostatique avec éventuellement application locale de thrombine chez l'homme [35].

Même si un effet décongestionnant est recherché dans l'hirudothérapie à travers ces saignements prolongés, il arrive néanmoins que les saignements soient trop importants et à l'origine d'anémies [149]. De tels cas, bien que très rarement mortels, nécessitent une surveillance et une prise en charge adéquate avec transfusion sanguine.

En raison de ce risque hémorragique, une évaluation des paramètres hématologiques et une mesure de la pression artérielle devraient être entreprises avant toute séance d'hirudothérapie, et la pose des sangsues effectuée seulement en cas de résultats d'analyse dans les valeurs usuelles. Les principaux paramètres à prendre en compte sont des paramètres facilement mesurables en pratique médicale courante humaine ou vétérinaire. Il est nécessaire d'évaluer à minima chez le patient le taux d'hémoglobine, la numération leucocytaire et érythrocytaire, le temps de prothrombine (PT) et le temps

partiel de thromboplastine (aPTT). Le bon fonctionnement rénal et hépatique est également important puisque les deux organes interviennent dans le métabolisme des facteurs impliqués dans le contrôle de l'hémostase.

De manière générale, il convient d'éviter de poser trop de sangsues en parallèle et de ne pas démarrer une nouvelle séance si un saignement persiste au niveau d'un précédent site de morsure. Ces précautions sont d'autant plus importantes si le patient est déjà sous traitement anticoagulant systémique [22, 72].

Si l'état clinique de la zone à traiter impose d'avoir recours à un nombre important de sangsues ou à des séances rapprochées, une surveillance rigoureuse des paramètres sanguins et de la pression artérielle doit être mise en place. Il n'y a pas de consensus parmi les auteurs quant à la fréquence recommandée pour le contrôle de ces paramètres. Cette dernière dépend bien sûr de l'état clinique du patient, de la durée et de la fréquence de succession des séances et reste à l'appréciation du clinicien.

### **C. Migration erratique des sangsues**

Au cours d'un repas sanguin, les sangsues peuvent avoir tendance à migrer de leur site de pose initial, notamment si la zone à traiter n'est pas suffisamment irriguée. Cela pose problème si les annélides sont utilisés à proximité des voies aéro-digestives ou génitales des patients. En effet, les sangsues préfèrent les zones muqueuses qui sont plus faciles à dilacérer, et en recherchant ces zones, elles peuvent parfois provoquer l'obstruction totale ou subtotale des cavités naturelles [3].

Une telle complication est facile à éliminer grâce à une surveillance régulière par le personnel soignant [72]. Si plusieurs sangsues sont employées, une mesure simple consiste dans un premier temps à compter toutes les sangsues avant utilisation sur le patient et de vérifier le retrait de la totalité de l'effectif en fin de séance.

Différentes astuces permettent en outre d'empêcher les déplacements de la sangsue au cours d'une séance. Tout d'abord la sangsue peut être fixée par sa ventouse crâniale à l'aide d'un point d'ancrage au niveau de la zone à traiter à l'aide de fil à suture [46]. Cette méthode ne semble pas affecter la viabilité de la sangsue [25]. Cependant, en plus d'être

agressive pour la sangsue, cette technique peut être délétère car si elle est mal placée, l'aiguille utilisée peut perforer la sangsue et être source de contamination microbienne.

Les orifices à proximité desquels sont posées les sangsues peuvent être protégés par la mise en place de compresses dépliées à leur niveau. La sangsue peut être placée dans un contenant comme une seringue dépourvue de piston [7], ou une compresse prédécoupée en son centre afin d'y insérer la sangsue [97]. De telles techniques sont préférables, d'autant plus qu'elles permettent de masquer la sangsue pour le patient.

#### **D. Complications dermatologiques-réactions allergiques**

Des complications dermatologiques légères sont communes suite à une morsure de sangsue. Les manifestations classiques sont un érythème local accompagné de prurit léger [91, 145] apparaissant quelques jours après une séance d'hirudothérapie. Ces complications sont généralement bien tolérées mais les patients peuvent présenter un retard de cicatrisation au niveau des plaies de morsure ou une cicatrice hypertrophique. Un cas de pseudolymphomatose cutanée faisant suite à des séances d'hirudothérapie contre les varicosités a par ailleurs été rapporté chez l'homme [126].

Des réactions allergiques plus graves faisant suite à l'hirudothérapie ont été décrites, même si l'anaphylaxie est rare. Un cas d'hypersensibilité de type IV avec œdème facial marqué et congestion nasale après des poses de sangsues répétées a été rapporté chez une femme. Ces réactions allergiques peuvent être des allergies à l'hirudine, mais d'autres composés protéiques salivaires sont également impliqués [74].

#### **E. Impact psychologique**

L'impact psychologique généré par les sangsues est une complication valable chez l'homme. La perception qu'a le patient des sangsues a une grande importance puisqu'elle peut influencer la réussite du traitement. Bien que peu douloureuse, la pose des sangsues peut générer un stress en mesure d'exacerber une dépression déjà souvent présente dans les contextes pour lesquels les sangsues sont utilisées [66]. En médecine

vétérinaire une réticence du propriétaire peut toutefois avoir un impact sur une éventuelle observance des séances prescrites.

Il convient alors pour le clinicien d'établir une relation de confiance en expliquant bien au patient l'intérêt d'avoir recours à une telle méthode thérapeutique au premier abord si effrayante. Les attentes doivent être discutées de part et d'autre et le patient ou le propriétaire doit être encouragé à formuler ses éventuelles réserves.

## **F. Contre-indications de l'utilisation des sangsues vivantes**

L'ensemble des complications possibles de l'hirudothérapie implique l'existence de contre-indications résumées dans le tableau 5. Ces contre-indications sont valables aussi bien en médecine qu'en médecine vétérinaire.

### Risque infectieux

- Patient dont l'état général est très dégradé
- Patient présentant un déficit immunitaire (maladie immunodégénérative, traitement immunosuppresseur...)

### Risque hémorragique

- Patient sévèrement anémié
- Patient présentant une forte hémorragie
- Patient présentant un risque d'hémorragie majeure de façon innée (hémophilie), ou acquise (gastrite érosive, intoxication aux anticoagulants...)
- Patient présentant une insuffisance rénale ou hépatique sévère
- Patient ou propriétaire d'un animal s'opposant aux transfusions sanguines

### Risque de complications dermatologiques

- Patient présentant des troubles connus de cicatrisation

### Risque allergique

- Patient ayant déjà présenté une réaction allergique aux sangsues ou à ses protéines

### Risque psychologique

- Patient dans l'incapacité psychologique à accepter l'hirudothérapie

**Tableau 5** : Bilan des contre-indications de l'hirudothérapie

## G. Une alternative aux sangsues vivantes ? [54]

Compte tenu des complications non négligeables inhérentes à l'utilisation de sangsues vivantes, des alternatives à la pose des annélides vivants ont été envisagées. Ainsi, Hartig et ses collaborateurs ont-ils développé un prototype visant à reproduire l'action de la sangsue dans le cadre du soulagement de la congestion veineuse sur lambeaux cutanés. Les résultats obtenus lors d'une étude menée avec ce dispositif sur modèle porcin semblent prometteurs puisque la machine permet une décongestion plus prolongée et sur une surface plus large que les sangsues.

## CONCLUSION

---

L'hirudothérapie ou thérapie par les sangsues, était jadis massivement utilisée pour toutes sortes de maladies et affections, avant d'être reléguée au rang de pratique charlatanesque dans les pays occidentaux avec l'apparition de nouvelles pratiques médicales telles que le respect l'asepsie ou l'administration d'antibiotiques.

A l'heure actuelle les sangsues médicinales tendent à regagner leurs lettres de noblesse en Europe et aux Etats-Unis, où elles font l'objet d'études scientifiques sérieuses. Les mécanismes à l'origine du bénéfice thérapeutique apporté par l'hirudothérapie sont de plus en plus étudiés avec l'identification de composés salivaires d'intérêt et la réalisation d'essais précliniques sur certains d'entre eux. Les sangsues sont intéressantes cliniquement non seulement pour les propriétés anticoagulantes multimodales de leur salive, mais également parce que cette sécrétion de la sangsue présente un pouvoir anti-inflammatoire, antimicrobienne et antalgique dont les fondements commencent à être de mieux en mieux connus.

La réalisation des différentes études sur la salive des sangsues a permis de mieux comprendre le mode d'action des annélides et de définir de façon plus précise les indications de l'hirudothérapie dans la pratique médicale moderne. Les applications actuelles ; pour lesquelles un réel bénéfice a été démontré de façon scientifique ; sont peu nombreuses. Le domaine où les sangsues sont le plus utilisées est celui de la chirurgie réparatrice où les annélides sont employés pour lever la congestion veineuse au sein de greffons compromis comme des extrémités réimplantées ou des lambeaux greffés. Les sangsues peuvent également être mises en place en dehors d'un contexte chirurgical pour résorber des collections liquidiennes, ou pour améliorer certains troubles circulatoires de façon symptomatique (veines variqueuses, polycythémie). Pour certaines applications traditionnelles de l'hirudothérapie, la prise en charge de l'arthrose notamment, des études plus poussées devraient être entreprises afin d'évaluer la présence d'un réel bénéfice.



Thèse de M<sup>elle</sup> Claire CHENU

**Le Professeur responsable  
VetAgro Sup campus vétérinaire**



**Le Président de la thèse**



**Vu et permis d'imprimer**

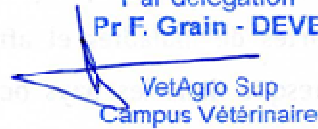
**Lyon, le 21 NOV. 2012**

**Pour le Président de l'Université,  
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,  
Professeur F.N GILLY**



**Le Directeur général  
VetAgro Sup**

**Par délégation  
Pr F. Grain - DEVE**



**VetAgro Sup  
Campus Vétérinaire**

## BIBLIOGRAPHIE

1. ABBOTT S.L., CHEUNG W.K.W., JANDA J.M. (2003)  
The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes  
Journal of Clinical Microbiology, 41, (6), 2348-57
2. ABGRALL J.F. (1995)  
Sous chapitre 5.1 : physiologie de l'hémostase primaire  
In : Editions médicales internationales (eds.), Hématologie, Cachan, 229-240
3. ALAM S., CHOUDHARY M.K.D., ISLAM K. (2008)  
Leech in urinary bladder causing hematuria  
Journal of Pediatric Urology, 4, 70-3
4. ARDEHALI B., HAND K., NDUKA C., HOLMES A. et al. (2006)  
Delayed leech-borne infection with *Aeromonas hydrophila* in escharotic flap wound  
Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, 59, 94-5
5. ASCENZI P., AMICONI G., BODE W., BOLOGNESI M. et al. (1995)  
Proteinase inhibitors from the European medicinal leech *Hirudo medicinalis*: structural, functional and biomedical aspects  
Molecular Aspects of Medicine, 16, 215-313
6. AYDIN A. NAZIK H. KUVAT S.V. (2004)  
External decontamination of the wild leeches with hypochloric acid  
Infectious diseases, 4, 28
7. AZARI K., FISCHER C. (2008)  
A simple device for the application of medicinal leeches  
Plastic & Reconstructive Surgery, 122, 168e-169e
8. BAJ A., BETTRAMINI G.A., LAGANA F., GIANNI A.B. (2010)  
Microsurgical upper lip replantation: a case report  
Journal of Oral & Maxillofacial Surgery, 68, 664-7
9. BASANOVA A.V., BASKOVA I.P., ZAVALOVA L.L. (2001)  
Vascular-platelet and plasma hemostasis regulators from bloodsucking animals  
Biochemistry (Moscow), 67, (1), 143-50
10. BASKOVA I.P., FERNER Z., BALKINA A.S., KOZIN S.A. et al. (2008)  
Steroids, histamine and serotonin in the medicinal leech salivary gland secret  
Biochemistry (Moscow) Supplement Series B : Biochemical Chemistry, 2, (3), 215-25
11. BASKOVA I.P., ZAVALOVA L.L. (2001)

Proteinase inhibitors from the medicinal leech *Hirudo medicinalis*  
Biochemistry (Moscow), 66, (7), 703-14

12. BASKOVA I.P., ZAVALOVA L.L., KOSTRJKOVA E.S., TITOVA G.A. et al. (2007)  
Proteomic analysis methods for characterization of proteins from the salivary gland secretions of the medicinal leech during different seasons  
Biochemistry (Moscow), 72, (2), 219-25
13. BASS J.A.B. for Institute of Freshwater Ecology  
Species Action plan – Medicinal Leech *Hirudo medicinalis*  
Rapport pour English Nature, Huntingdon, 23 p.
14. BAUDET J. (1991)  
The use of leeches in distal digital replantation  
Blood Coagulation & Fibrinolysis, 2, (1), 193-6
15. BAUTERS T.G.M., BUYLE F.M.A., VERSCHRAEGEN G., VERMIS K. (2007)  
Infection risk related to the use of medicinal leeches  
Pharmacy World & Science, 29, 122-5
16. BAYER Inc. (2007)  
Refludan ® Monographie du produit
17. BECKERET R.C., SPENCER F.A. (1998)  
Thrombin: structure, biochemistry, measurement and status in clinical medicine  
Journal of thrombosis and thrombolysis, 5, (3), 215-29
18. BEXBORN F., ENGBERG A.E., SANDHOLM K., MOLLNES T.E. et al. (2009)  
Hirudin versus heparin for use in whole blood in vitro biocompatibility models  
Journal of Biomedical Materials Research Part A, 89A, 951-59
19. BRAUN P.J., DENNIS S., HOFSTEENGE J., STONE S.R. (1988)  
Use of site-directed mutagenesis to investigate the basis for the specificity of hirudin  
Biochemistry, 27, 6517-22
20. CANPOLAT I., SAGLAM N. (2004)  
Treatment of a diffuse hematoma in a dog with the medicinal leech *Hirudo medicinalis*  
DAUM, 2, (2) 97-9
21. CANYON PHARMACEUTICALS  
Revasc ® Résumé des caractéristiques du produit
22. CHEPEHA D.B., NUSSENBAUM B., BRADFORD C.R., TEKNOS T.N. (2002)  
Leech therapy for patients with surgically unsalvageable venous obstruction after revascularized free tissue transfer  
Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery, 128, 960-65
23. CHO B.H., AHN H.B. (1999)

- Microsurgical replantation of a partial ear, with leech therapy  
Annals of Plastic Surgery, 43, (4), 427-9
24. CONFORTI M., CONNOR N., HEISEY D. et al (2002)  
Evaluation of the performance characteristics of the medicinal leech (*Hirudo medicinalis*)  
for the treatment of venous congestion  
Plastic and reconstructive surgery, 109, (1), 228-35
  25. DAVILA V.J., HOPPE I.C., LANDI R., CIMINELLO F.S (2009)  
The effect of anchoring sutures on medicinal leech mortality  
Open Access Journal of Plastic Surgery, 9, 278-81
  26. DAVIES R.W., McLOUGHLIN N., (1996)  
The effects of feeding regime on the growth and reproduction of the medicinal  
leech *Hirudo medicinalis*  
Freshwater Biology, 36, (3), 563-8
  27. DAVSON L. (1855)  
Guide pratique des éleveurs de sangsues. 2<sup>nde</sup> édition  
BAILLIERE J.B., Paris, 252 pages
  28. DE CHALAIN T.M. (1996)  
Exploring the use of the medicinal leech: a clinical risk-benefit analysis  
Journal of Reconstructive Microsurgery, 12, 165-72
  29. DICKINSON M.H., LENT C.M., (1984)  
Feeding behaviour of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*  
Journal of Compartmental Physiology A, 154, 449-55
  30. DIRECTIVE 92/43/CEE DU CONSEIL du 21 mai 1992 concernant la conservation  
des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages  
Journal Officiel L 206 du 22.7.1992
  31. ELLIOTT J.M. (2008)  
Population size, weight distribution and food in a persistent population of the rare  
medicinal leech, *Hirudo medicinalis*  
Freshwater Biology, 53, 1502-12
  32. ELLIOTT J.M., KUTSCHERA U., (2011)  
Medicinal leeches: historical use, ecology, genetics and conservation  
Freshwater Reviews, 4, 21-41
  33. EROGLU C., HOKELEK M., GUNRREN E., ESEN S. et al. (2004)  
Bacterial Flora of *Hirudo medicinalis* and their antibiotic sensitivities in the middle Black  
Sea region, Turkey  
Annals of Plastic Surgery, 47, 70-3

34. EUZEBY J. (2008)  
Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire  
Tec & Doc-Editions Médicales Internationales - Lavoisier, 815 p.
35. FEDOR P.J. (2012)  
Novel use of a hemostatic dressing in the management of a bleeding leech bite: a case report and review of the literature  
Wilderness & environmental medicine, 23, 44-8
36. FEIGE K., DENNLER M., KASTNER S.B.R., WUNDERLI-ALLENSPACH H. et al. (2004)  
Pharmacokinetics of recombinant hirudin in healthy horses  
Equine veterinary journal, 36, (2), 135-141
37. FENOLLAR F., FOURNIER P.E., LEGRE R. (1999)  
Unusual case of *Aeromonas sobria* cellulitis associated with the use of leeches  
European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 18, 72-3
38. FERMOND M.C. (1854)  
Monographie des sangsues médicinales  
BAILLERE J.B., Paris, 531 pages
39. FERRIS V., CASABAR E., WARREN D. (2008)  
Ciprofloxacin resistant *Aeromonas* infection following the use of medicinal leeches  
American Journal of Infection Control, 36, (5), E193
40. FRADKOV A., BEREZHNOY S., BARSOVA E., ZAVALOVA L. et al. (1996)  
Enzyme from the medicinal leech (*Hirudo medicinalis*) that specifically splits endo- $\alpha$  ( $\gamma$ -Glu)-Lys isopeptide bonds: cDNA cloning and protein primary structure  
FEBS Letter, 390, 145-8
41. FRIESEN W.O. (1981)  
Physiology of water motion detection in the medicinal leech  
Journal of Experimental Biology, 92, 255-75
42. FRITZ H., GEBHARDT M., MEISTER R., FINK E. (1970)  
Trypsin-plasmin inhibitors from leeches\_ isolation, amino acid composition, inhibitory characteristics,  
In : Proceedings of the International Research Conference on Proteinase Inhibitors,  
Munich, November 1970, Walter de Gruyter, Berlin, 271-80
43. GOODE R.L. (1998)  
The failing flap in facial plastic and reconstructive surgery: role of the medicinal leech  
Laryngoscope, 108, 1129-35
44. GRACE D. ROGERS J SKEITH K. ANDERSON K. (1999)  
Topical diclofenac versus placebo: a double blind, randomized clinical trial in patients with osteoarthritis of the knee  
Journal of Rheumatology, 26, (12), 2659-63

45. GRAF J. (1999)  
Symbiosis of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* and *Hirudo medicinalis*, the medicinal leech: a novel model for digestive tract associations  
*Infection & Immunity*, 67, (1), 1-7
  
46. GRANZOW J.W. ARMSTRONG M.B. PANTHAKI Z.J. (2004)  
A simple method for the control of medicinal leeches  
*Journal of Reconstructive Microsurgery*, 20, (6), 461-2
  
47. GRASSE P.-P., (1959)  
Traité de zoologie-Anatomie, systématique, biologie-Annélides, myzostomides, sipunculien, echiuriens, priapulien, endoproctes, phoronidiens-Tome V – premier fascicule  
Masson et Cie Editeurs, Paris, 1116 pages
  
48. GRÖBE A., MICHALSEN A., HANKEN H., SCHMELZLE R., HEILAND M. et al. (2011)  
Leech therapy in reconstructive maxillofacial surgery  
*Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 70, (1), 221-7
  
49. GROOME J.R., VAUGHAN D.K., LENT C. (1995)  
Ingestive sensory inputs excite serotonin effector neurons and promote serotonin depletion from the leech central nervous system and periphery  
*Journal of experimental biology*, 198, 1233-42
  
50. GROSSMAN M.D., KARLOVITZ A. (1998)  
Lingual trauma: the use of medicinal leeches in the treatment of massive lingual hematoma  
*Journal of Traumatology*, 44, (6), 1083-5
  
51. GRZIMEK B., FONTAINE M. (1973)  
Le Monde Animal en 13 volumes-Tome I : Animaux inférieurs  
Editions Stauffacher S.A., Zurich, 589 pages
  
52. HARANT H. (1929)  
Les sangsues comme vecteurs de germes pathogènes  
*Archives de la Société Scientifique Médicale*, 10, 617
  
53. HARSFALVI J., STASSEN J.M., HOYLAERTS M.F., VAN HOUTTE E; et al. (1995)  
Calin from *Hirudo medicinalis*, an inhibitor of von Willebrand factor bonding to collagen under static and flow conditions  
*Blood*, 85, 705-11
  
54. HARTIG G.K. CONNOR N.P. WARNER T.F. HEISEY D.M. et al. (2003)  
Testing a device to replace the leech for treating venous congestion  
*Archives of Facial & Plastic Surgery*, 5, 70-7

55. HARVEY R.P., DEGRYSE E., STEFANI L., SCHAMBER F. et al. (1986)  
Cloning and expression of a cDNA coding for the anticoagulant hirudin from the bloodsucking leech, *Hirudo medicinalis*  
Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 83, (4), 1084-88
56. HAYCOX C.L., ODLAND P.B., COLTRERA M.D., RAUGI G.J. (1995)  
Indications and complications of medicinal leech therapy  
Journal of the American Academy of Dermatology, 33, (6), 1053-5
57. HAYCRAFT J.B. (1884)  
On the action of a secretion obtained from the medicinal leech on the coagulation of the blood  
Proceedings of the Royal Society of London, 36, 478-87
58. HECKMANN J.G., DUTSCH M., NEUNDORFER B., HARTUNG U. (2005)  
Leech therapy in the treatment of median nerve compression due to forearm hematoma  
Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 76, 1465-8
59. HEUSSER S., DUPUY H.G. (2004)  
Atlas de biologie animale : 1. Les grands plans d'organisation. 2<sup>ème</sup> édition  
Dunod, Paris, 142 p.
60. HIDALGO D.A., DISA J.J., CORDEIRO P.G., HU Q.Y. (1998)  
A review of 716 consecutive free flaps for oncologic surgical defects: refinement in donor-site selection and technique  
Plastic and Reconstructive Surgery, 102, (3), 722-32
61. HIDALGO D.A., JONES C.S. (1990)  
The role of emergent exploration in free-tissue transfer: a review of 150 consecutive cases  
Plastic & Reconstructive Surgery, 86, 492-8
62. HILDEBRANDT J.P. (1988)  
Circulation in the leech *Hirudo medicinalis*  
Journal of Experimental Biology, 134, 235-46
63. HOROWITZ S. (2005)  
Medicinal leeches in modern medicine – An old remedy revived  
Alternative and Complementary Therapies, 11, (1), 12-16
64. HULLET J.S., SPINNATO G.G., ZICCARDI V. (2007)  
Treatment of an ear laceration with adjunctive leech therapy: a case report  
Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 65, (10), 2112-4
65. HYSSON J.M. (2005)  
Leech therapy : a history  
Journal of the History of Dentistry, 53, (1), 25-27

- 66.** JAMES W.A., FRIERSON R.L., LIPPMAN S.B. (1993)  
Psychiatirc reactions to leeches  
Psychosomatics, 34, (1), 83-5
- 67.** JOBIN F. (1995)  
Chapitre 1 : l'hémostase normale  
In : Les presses de l'Université Laval (eds), L'Hémostase, Editions Maloine, Paris, 3-66
- 68.** JOCHUM M., WELTER F., SIEBECK M., FRITZ H. (1986)  
Proteinase inhibitor therapy of severe inflammation in pigs: first results with eglin, a potent inhibitor of granulocyte elastase and cathepsin G  
In: Harald Tschesche (Eds). Proceeding on a conference on : Proteinases in Inflammation and tumor invasion, Bielefeld, Federal Republic of Germany, March 14-March 16 1985, Walter de Gruyter, Berlin, 53-60
- 69.** KAYA B., BAT O., BULUT N.E., ALTUN H. et al (2011)  
Prolonged venous bleeding due to traditional treatment with leech bite : a case report  
Journal of Medical Case Reports, 5, 172
- 70.** KIM K.S., KIM E.S., HWANG J.H., LEE S.Y. (2009)  
Microsurgical replantation of a partial helix of the ear  
Microsurgery, 29, 548-51
- 71.** KITUCHI Y., GRAF J. (2007)  
Spatial and temporal population dynamics of a naturally occurring two-species microbial community inside the digestive tract of the medicinal leech  
Applied and environmental microbiology, 73, (6), 1984-91
- 72.** KOCH C.A., OLSEN S.M., MOORE E.J. (2012)  
Use of medicinal leech for salvage of venous congested microvascular free flaps of the head and neck  
American Journal of Otolaryngology, 33, (1), 26-30
- 73.** KUBO T., YANO K., HOSOKAWA K. (2002)  
Management of flaps with compromised venous outflow in head and neck microsurgical reconstruction  
Microsurgery, 22, 391-5
- 74.** KUKOVA G., GERBER P.A., ANTAL A.S., HOMEY B. (2010)  
Allergy "sucks": leeches may also be harmful  
Contact dermatitis, 62, 124-5
- 75.** LEE N.J., PECKIIT N.S. (1996)  
Treatment of a sublingual hematoma with medicinal leeches: report of case  
Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 54, 101-3
- 76.** LENT C.M. DICKINSON M.H. (1987)  
On the termination of ingestive behavior of the medicinal leech  
Journal of Experimental Biology, 131, 1-15



77. LENT C.M., FLIEGNER K.H., FREEDMAN E. et al. (1988)  
Ingestive behavior and physiology of the medicinal leech  
Journal of Experimental Biology, 137, 513-27
78. LEVINE S.M., FRANGOS S.G., HANNA B., COLEN K. et al. (2010)  
*Aeromonas* septicemia after medicinal leech use following replantation of severed digits  
American Journal of Critical Care, 19, (5), 468-70
79. LEWIS G., COOMBES A. (2006)  
Adult ocular leech infestation  
Eye, 20, 391-2
80. LINKER A., HOFFMAN P., MEYER K. (1957)  
The hyaluronidase of the leech: an endoglucuronidase  
Nature, 180, 810-1
81. LIU G., MU S.F., YUN L.H., DING Z.K. et al. (1999)  
Systematic study of the substituted active C-terminus of hirudin  
Journal of Peptide Research, 54, 480-90
82. LOWEN R.M., RODGERS C.M., KETCH L.L., PHELPS D.B. (1989)  
*Aeromonas hydrophila* infection complicating digital replantation and revascularization  
Journal of Hand Surgery, 14, 714-18
83. Mc LANE M.A., GABBETA J., RAO A. K., BEVIGLIA L. et al. (1995)  
A comparison of the effect of decorsin and two disintegrins, albolabrin and eristostatin,  
on platelet function  
Thrombosis and Haemostasis, 74, 1316-22
84. MACKAY D.R., MANDERS E.K., SAGGERS G.C., BANDUCCI D.R. et al. (1999)  
*Aeromonas* species isolated from medicinal leeches  
Annals of Plastic Surgery, 42, 275-9
85. MALTZ M., GRAF J., (2011.)  
The type II secretion system is essential for erythrocyte lysis and gut colonization of the  
leech digestive-tract symbiont *Aeromonas veronii*.  
Applied and environmental microbiology, 77, 597-603
86. MARKWARDT F. (1970)  
Hirudin as an inhibitor of thrombin  
Methods in Enzymology, 19, 924-32
87. MARKWARDT F. (1994)  
The development of hirudin as an antithrombotic drug  
Thrombosis research, 74, (1), 1-23

- 88.** MARSHALL C.G., LENT C.M., (1988)  
Excitability and secretory activity in the salivary gland cells of jawed leeches (*Hirudinea: Gnathobdellida*)  
Journal of Experimental Biology, 137, 89-105
- 89.** MENAGE M.J., WRIGHT G. (1991)  
Use of leeches in a case of severe periorbital hematoma  
British Journal of Ophthalmology, 75, 755-6
- 90.** MEYER O., JUDE B., LASNE D., SUSEN S. et al. (2007)  
Chapitre 11 : L'hémostase et ses anomalies dans les maladies inflammatoires  
In : Editions Médecine Plus (eds), L'immunopathologie pour le praticien, 1-24
- 91.** MICHALSEN A., KLOTZ S., LUDTKE R., MOEBUS S. et al. (2003)  
Effectiveness of leech therapy in osteoarthritis of the knee - a randomized, controlled trial  
Annals of Intern Medicine, 139, (9), 724-30
- 92.** MICHALSEN A., LUDTKE R., CESUR O., AFRA D. et al. (2008)  
Effectiveness of leech therapy in women with symptomatic arthrosis of the first carpometacarpal joint: a randomized controlled trial  
Pain, 137, 452-9
- 93.** MICHALSEN A., MOBEUS S., SPAHN G., ESCH T. et al. (2002)  
Leech therapy for symptomatic treatment of knee osteoarthritis: results and implications of a pilot study  
Alternative Therapies in Health & Medicine, 8, (5), 84-88
- 94.** MUMCUOGLU K.Y. HUBERMAN L. COHEN R. TEMPER V. et al. (2010)  
Elimination of symbiotic *Aeromonas* spp. from the intestinal tract of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*, using ciprofloxacin feeding  
Clinical Microbiology & Infection, 16, 563-7
- 95.** MUNRO R., JONES C.P. ; SAWYER R.T. (1991)  
Calin-a platelet adhesion inhibitor from the saliva of the medicinal leech  
Blood Coagulation and Fibrinolysis, 2, (1), 179-84
- 96.** NETT C.S., ARNOLD P., GLAUS T.M. (2001)  
Leeching as initial treatment in a cat with polycythemia vera  
Journal of Small Animal Practice, 42, 554-6
- 97.** NIGAR Z., ALAM A. (2011)  
Effect of *Taleeq* (Leech Therapy) in *Dawali* (Varicose Veins)  
Ancient Science of Life, 30, (3), 84-91
- 98.** NOVAKOVIC D., PATEL R.S., GOLDSTEIN D.P., GULLANE P.J. ( 2009)  
Salvage of failed free flaps used in head and neck reconstruction  
Head and Neck Oncology, 1, 33

- 99.** O'HARA M.M. (1988)  
Leeching: a modern use for an ancient remedy  
*American Journal of Nursing*, 88, (12), 1656-8
- 100.** OREVI M., ELDOR A., GUIGUZIN I., RIGBI M., (2000)  
Jaw anatomy of the blood-sucking leeches, *Hirudinea Limnatis nilotica* and *Hirudo medicinalis*, and their relationship to their feeding habits  
*Journal of Zoology (London)*, 250, 121-7
- 101.** OTTO A., SCHOELLER T., WECHSELBERGER G., OHLER K. (1999)  
Successful ear replantation without venous anastomosis by using leeches  
*Handchirurgie Mikrochirurgie Plastische Chirurgie*, 31, (2), 98-100
- 102.** OUDERKIRK J.P., BEKHOR D., TURETT G.S., MURALI R. (2004)  
*Aeromonas meningitis* complicating medicinal leech therapy  
*Clinical Infectious Diseases*, 38, 36-7
- 103.** PARTYKA C., FOGG T. (2009)  
Leech on the eye: a novel use for hypertonic saline  
*Emergency Medicine Australasia*, 21, 84-5
- 104.** PEREIRA J.A., GREIG J.R., LIDDY H., ION L. et al. (1998)  
Leech-borne *Serratia marcescens* infection following complex hand injury  
*British Journal of Plastic Surgery*, 51, (8), 640-1
- 105.** PHILIP J., ARMITAGE D.W., PHILLIPS K.R., PARR N.J. (2003)  
Leech therapy for penoscrotal edema in patients with hormone-refractory prostate carcinoma  
*British Journal of Urology International*, 91, (6), 579-80
- 106.** PILCHER H. (2004)  
Medicinal leeches: stuck on you  
*Nature*, 432, 10-11
- 107.** POLVERINO DE LAURETO P., SCARAMELLA E., DE FILIPPIS V., MARIN O. et al. (1998)  
Chemical synthesis and structural characterization of the RGD-protein decorsin: a potent inhibitor of platelet aggregation  
*Protein Science*, 7, 433-44
- 108.** POMMEREUIL M. (1995)  
Sous-chapitre 5.2 : physiologie de la coagulation  
In : Editions médicales internationales (eds), *Hématologie*, Cachan, 241-254
- 109.** POMMEREUIL M. (1995)  
Sous-chapitre 5.3 : physiologie de la fibrinolyse  
In : Editions médicales internationales (eds), *Hématologie*, Cachan, 255-262

- 110.** PORSHINSKY B.S. SAHA S. GROSSMAN M.D. BEERY II P.R. et al. (2011)  
Clinical uses of the medicinal leech: a practical review  
Journal of Postgraduate Medicine, 57, 65-71
- 111.** PRESCOTT S.M., SEEGER A.R., ZIMMERMAN G.A., Mc INTYRE T.M. et al. (1990)  
Hirudin-based peptides block the inflammatory effects of thrombin on endothelial cells  
The journal of biological chemistry, 265, (17), 9614-16
- 112.** RIEDE F., KOENEN W., GOERDT S., EHMKE H. et al. (2010)  
Medicinal leeches for the treatment of venous congestion and hematoma after plastic reconstructive surgery  
Journal of the German Society of Dermatology, 8, (11), 881-8
- 113.** RIGBI M., LEVY H., ELDOR A., IRAQI F. et al (1987)  
The saliva of the medicinal leech *Hirudo medicinalis* - II. Inhibition of platelet aggregation and leukocyte activity and examination of reputed anesthetic effects  
Comparative Biochemistry and Physiology, 88C, (1), 95-8
- 114.** ROWLERSON A.M., BLACKSHAW S.E., (1991)  
Fibre types in leech body wall muscle  
Journal of Experimental Biology, 157, 299-311
- 115.** RUBIN B.R. (2005)  
Management of osteoarthritic knee pain  
Journal of AOA, supplement 4, 105, (9), S23-S28
- 116.** SALZET M. (2002)  
Leech thrombin inhibitors  
Current Pharmaceutical Design, 8, (3), 1-11
- 117.** SARTOR C., LIMOUZIN-PEROTTI F., LEGRE R., CASANOVA D. et al. (2002)  
Nosocomial Infections with *Aeromonas hydrophila* from leeches  
Clinical Infectious Diseases, 35, e1-5
- 118.** SAWYER R.T., (1986)  
13.5 Endosymbiosis  
In: Oxford science publications (eds), Leech biology and behaviour Volume II Feeding, Biology, Ecology and Systematics.  
Clarendon Press, Oxford, 360 p.
- 119.** SAWYER R.T., (1986)  
13.6 Digestive physiology  
In: Oxford science publications (eds), Leech biology and behavior Volume II Feeding, Biology, Ecology and Systematics  
Clarendon Press, Oxford, 360 p.

- 120.** SCHLAUDRAFF K., BEZZOLA T., MONTANDON D., PEPPER M.S. et al. (2008)  
Mixed arterio-venous insufficiency in random ski flaps in the rat: is the application of medicinal leeches beneficial?  
Journal of Surgical Research, 150, 85-91
- 121.** SIDDALL M.E., BELY A., BORDA E., (2006)  
10 Hirudinida  
In: G. Rouse and F. Pleijel (eds.). Reproductive Biology and Phylogeny of Annelida  
Science Publishers, Enfield, NH, 393-429
- 122.** SIDDALL M.E., TRONTELJ P., UTEVSKY S.Y., NKAMANY M., MACDONALD K.S., (2007)  
Diverse molecular data demonstrate that commercially available medicinal leeches are not *Hirudo medicinalis*  
Proceedings of Royal Society B, 274, 1481-87
- 123.** SIDDALL M.E., WORTHEN P.L., JOHNSON M., GRAF J. (2007)  
Novel role for *Aeromonas jandaei* as a digestive tract symbiont of the North American medicinal leech  
Applied Environmental Microbiology, 73, 655-58
- 124.** SILVER A.C., KIKUCHI Y., FADL A.A., SHA J. et al. (2007)  
Interaction between innate immune cells and a bacterial type III secretion system in mutualistic and pathologic associations  
Proceedings of National Academy of Science USA, 104, 9481-86
- 125.** SINGH A.P. (2010)  
Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview  
Complementary therapies in clinical practice, 16, 213-15
- 126.** SMOLLE J. CERRONI L. KERL H. (2000)  
Multiple pseudolymphomas caused by *Hirudo medicinalis* therapy  
Journal of American Academy of Dermatology, 43, (5), 867-9
- 127.** SPENCER W., JONES G. (2007)  
The captive breeding and educational display of the medicinal leech *Hirudo medicinalis* (Linnaeus 1758) at Bristol Zoo Gardens  
International Zoo Yearbook, 41, (1), 138-44
- 128.** STONE S.R., HOFSTEENGE J. (1987)  
Effect of heparin on the interaction between thrombin and hirudin  
European Journal of Biochemistry, 169, 373-76
- 129.** TAMAI S. (1982)  
Twenty years' experience of limb replantation-Review of 293 upper extremity replants  
The Journal of Hand Surgery, 7, (6), 549-56

- 130.** TANEJA P., ROWSON J. (2011)  
National survey of the use and application of leeches in oral and maxillofacial surgery in the United Kingdom  
British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 49, (6), 438-41
- 131.** TRONTELJ P., SOTLER M., VEROVNIK R., (2004)  
Genetic differentiation between two species of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis* and the neglected *H. verbana*, based on random-amplified polymorphic DNA  
Parasitology Research, 94, 118-24
- 132.** TUNCALI D., TERZIOGLU A., ASLAN G. (2003)  
Leech resistance: how to deal with it?  
Plastic & Reconstructive Surgery, 111, (1), 508-9
- 133.** TUNCALI D., TERZIOGLU A., ASLAN G. (2003)  
The value of medical leeches in the treatment of class IIC ring avulsion injuries: report of 2 cases  
Journal of Hand Surgery America, 29, (5), 943-6
- 134.** UYGUR K., YASAN H., YAVUZ L., DOGRU H. (2003)  
Removal of a laryngeal leech: a safe and effective method  
American Journal of Otolaryngology, 24, (5), 338-40
- 135.** VARGHESE M.R. WESLEY FARR R. WAX M.K. CHAFIN B.J. et al. (1996)  
*Vibrio fluvialis* wound infection associated with medicinal leech therapy  
Clinical Infectious Diseases, 22, 709-10
- 136.** VOGEL G., ANGERMANN H., (1994)  
Atlas de la biologie. 4<sup>ème</sup> édition  
La Pochotèque, Villeneuve d'Ascq, 641 p.
- 137.** WALTON R.L. BEAHM E.K. BROWN R.E. (1998)  
Microsurgical replantation of the lip: a multi-institutional experience  
Plastic & Reconstructive Surgery, 102, (2), 358-68
- 138.** WEINFELD A. KATTASH M. GRIFKA R. FRIEDMAN J. (1998)  
Leech therapy in the management of acute venous congestion of an infant's lower limb  
Plastic & Reconstructive Surgery, 102, (5), 1611-14
- 139.** WHITAKER I.S, CHEUNG C.K., CHAHAL C.A.A., KAROO R.O.S. et al. (2005)  
By what mechanism do leeches help to salvage ischemic tissues? A review  
British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 43, 155-60
- 140.** WHITAKER J.S., HAWKINS S., AZZOPARDI E., NADERI N. et al. (2011)  
Medicinal leeches and the microsurgeon: a four-year study, clinical series and risk-benefit review  
Microsurgery, 31, (4), 281-7

- 141.** WHITAKER I.S., IZADI D., OLIVER D.W., MONTEATH G. et al. (2004)  
*Hirudo medicinalis* and the plastic surgeon  
 British Journal of Plastic Surgery, 57, 348-53
- 142.** WHITAKER I.S. KAMYA C. AZZOPARDI E.A. GRAF J. et al. (2009)  
 Preventing infective complications following leech therapy: is practice keeping pace with current research?  
 Microsurgery, 29, 619-25
- 143.** WHITLOCK M.R., O'HARE P.M., SANDERS R., MORROW N.C. (1983)  
 The medicinal leech and its use in plastic surgery: a possible cause for infection  
 British Journal of Plastic Surgery, 36, 240-4
- 144.** WORTHEN L., GODE C.J., GRAF J. (2006)  
 Culture-independent characterization of the digestive-tract microbiota of the medicinal leech reveals a tripartite symbiosis  
 Applied and environmental microbiology, 72,(7), 4775-81
- 145.** ZAIDI S.M.A., JAMIL S.S., SULTANA A., ZAMAN F. et al. (2009)  
 Safety and efficacy of leeching therapy for symptomatic knee osteoarthritis using Indian medicinal leech  
 Indian Journal of Traditional Knowledge, 8, (3), 437-42
- 146.** ZAVALOVA L.L., BASANOVA A.V., BASKOVA I.P. (2002)  
 Fibrinogen-fibrin system regulators from bloodsuckers  
 Biochemistry (Moscow), 67, (1), 135-42
- 147.** ZAVALOVA L.L., BASKOVA I.P., BARSOVA E.V., SNEZHKOVA E.V. et al. (2004)  
 Recombinant destabilase –lysozyme: synthesis *de novo* in *E.coli* and action mechanism of the enzyme expressed in *Spodoptera frugiperda*  
 Biochemistry (Moscow), 69, (7), 776-81
- 148.** ZAVALOVA L.L., LAZAREV V.N., LEVITSKY S.A., YUDINA T.G. et al. (2010)  
 Destabilase-lysozyme of medicinal leech - Multifunctionality of recombinant protein  
 Biochemistry (Moscow), 75, (9), 1173-81
- 149.** ZENGIN S., KOSE B., GUNAY N., YILDIRM C., et al. (2008)  
 Leech bites: massive bleeding, coagulation profile disorders, and severe anemia  
 Journal of Emergency Medicine, 26, 1067.e3-1067-e6

# BIBLIOGRAPHIE ELECTRONIQUE

---

- 150.** BEVAN B. (Page consultée le 11 avril 2012)  
Ardea wildlife pets environment, photographic images, [en ligne]  
<http://www.ardea.com/bin/Ardea2.dll/go?a=disp&rs=1&pt=1& m=2& s=0& men=sub menu 2 0& yp1=0&usp=0& spe=0&t=sr-loadersearch.html&searchtext=hirudo& sf0=& sf1=& sf2=& sfqcode=& sis=0&si=F86D3B70DF8E4BEE8681816E311039&rnd=2457.26>
- 151.** BIEBERTALER LEECH BREEDING FARM (Page consultée le 25 septembre 2012)  
Legal status of Medirud@Biebertal (medicinal leeches) as Drug / Medicinal Product, [en ligne]  
[http://www.blutegel.de/egel/opencms/en/aktuelles\\_en/news/news\\_0008.html](http://www.blutegel.de/egel/opencms/en/aktuelles_en/news/news_0008.html)
- 152.** BIODIDAC (Page consultée le 26 février 2012)  
Biodidac-Images , [en ligne]  
<http://biodidac.bio.uottawa.ca/thumbnails/images/HIRU001B.gif>
- 153.** BIOPHARM Leeches, the biting edge of Science  
(Page consultée le 15 septembre 2012)  
Applying leeches- Equipment needed to apply leeches, [en ligne]  
<http://www.biopharm-leeches.com/applying.html>
- 154.** BIOPHARM Leeches, the biting edge of Science  
(Page consultée le 03 juillet 2012)  
Links, [en ligne]  
<http://www.biopharm-leeches.com/links.html>
- 155.** BIOPHARM Leeches, the biting edge of Science  
(Page consultée le 15 septembre 2012)  
Maintenance for clinical leeches, [en ligne]  
<http://www.biopharm-leeches.com/maintenance--products2.html>
- 156.** CHRYSOPOULO M.T., DE LA TORRE J.I. (page consultée le 10 octobre 2012)  
Medscape reference Drugs Diseases and Procedures- Tissue flap classification, [en ligne]  
<http://emedicine.medscape.com/article/1284474overview#aw2aab6b3>
- 157.** CITES (Page consultée le 06 mars 2012)  
CITES, Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction, Annexes I, II et III, [en ligne]  
<http://www.cites.org/fra/app/appendices.php>
- 158.** CLIFFORD H.F. (Page consultée le 11 avril 2012)  
Aquatic invertebrate of Alberta, *Hirudinea* (Leeches), [en ligne]  
<http://sunsite.ualberta.ca/Projects/Aquatic Invertebrates/?Page=18>



- 159.** Conseil de l'Europe (Page consultée le 06 mars 2012)  
Conseil de l'Europe : bureau des traités, convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe, [en ligne]  
<http://conventions.coe.int/Treaty/Commun/QueVoulezVous.asp?CL=FRE&CM=8&NT=104>
- 160.** DEGNER D.A. (page consultée le 10 octobre 2012)  
Vet Surgery Central-Microvascular free tissue transfer, [en ligne]  
[http://www.vetsurgerycentral.com/free\\_flap.htm](http://www.vetsurgerycentral.com/free_flap.htm)
- 161.** ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, Inc. (Page consultée le 19 avril 2012)  
Encyclopaedia Britannica-Facts matter, [en ligne]  
<http://www.britannica.com/EBchecked/media/19646/European-medicinal-leech-After-attaching-its-head-sucker-to-the>
- 162.** FACULTE DE MEDECINE PIERRE ET MARIE CURIE  
(Page consultée le 04 juin 2012)  
Site de la Faculté de médecine Pierre et Marie CURIE, [en ligne]  
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/POLY.Chp.9.8.html>
- 163.** IUCN (Page consultée le 06 mars 2012)  
The IUCN Red list of threatened species 2011.2, [en ligne]  
<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/search>
- 164.** LEECHES USA LTD (Page consultée le 15 septembre 2012)  
Leeches USA – Maintenance of leeches, [en ligne]  
[http://www.leechesusa.com/maintaining\\_leeches.asp](http://www.leechesusa.com/maintaining_leeches.asp)
- 165.** LEECHES USA LTD (Page consultée le 9 avril 2012)  
Leeches USA – Pricing information, [en ligne]  
[http://www.leechesusa.com/prices\\_information.asp](http://www.leechesusa.com/prices_information.asp)
- 166.** LEGIFRANCE, LE SERVICE PUBLIC DE LA DIFFUSION DU DROIT  
(Page consultée le 20 septembre 2012)  
Code de la Santé publique, article L.5111-1, [en ligne]  
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006689867&dateTexte=20100225>
- 167.** LEGIFRANCE, LE SERVICE PUBLIC DE LA DIFFUSION DU DROIT  
(Page consultée le 20 septembre 2012)  
Code de la Santé publique, article L.5211-1, [en ligne]  
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006690281>
- 168.** LIVERSEN L.L. (Page consultée le 11 avril 2012)  
Flickr de Yahoo, galerie de photos de Lars L. IVERSEN, [en ligne]  
<http://www.flickr.com/photos/liversen/3503667291/lightbox>

- 169.** MARTINACHE X. (Page consultée le 04 octobre 2012)  
Canalcarpien.org, [en ligne]  
<http://www.canalcarpien.org/Amputation.html>
- 170.** RICARIMPEX Sangsues médicinales (Page consultée le 16 septembre 2012)  
Biologie, [en ligne]  
<http://sangsue-medicinale.com/les-sangsues/biologie/>
- 171.** RICARIMPEX Sangsues médicinales (Page consultée le 4 mai 2012)  
Elevage en laboratoire, [en ligne]  
<http://sangsue-medicinale.com/les-activites/elevage-en-laboratoire/>
- 172.** RICARIMPEX Sangsues médicinales (Page consultée le 4 mai 2012)  
Elevage en milieu naturel, [en ligne]  
<http://sangsue-medicinale.com/les-activites/elevage-en-milieu-naturel/>
- 173.** RICARIMPEX Sangsues médicinales (Page consultée le 7 mai 2012)  
Vente et produits, [en ligne]  
<http://sangsue-medicinale.com/les-activites/vente-et-produits/>
- 174.** SCIENCE PHOTO LIBRARY (Page consultée le 06 mars 2012)  
Science photo Library, The leading provider of science and specialist imagery, [en ligne]  
<http://www.sciencephoto.com/media/366735/view>
- 175.** SCIENCE PHOTO LIBRARY (Page consultée le 06 mars 2012)  
Science photo Library, The leading provider of science and specialist imagery, [en ligne]  
<http://www.sciencephoto.com/media/366724/view>
- 176.** SIDALL M. (Page consultée le 11 avril 2012)  
Bdelansea, [en ligne]  
<http://bdellanea.blogspot.fr/2008/07/leeches-in-osage-creation-myth.html>
- 177.** VARLAMOV I. (Page consultée le 20 mars 2012)  
English Russia, life-giving leeches, [en ligne]  
<http://englishrussia.com/2009/12/25/life-giving-leeches/>
- 178.** ZANDECKI M. (Page consultée le 05 juin 2012)  
Faculté de médecine de l'Université d'Angers-Physiologie de la coagulation, [en ligne]  
[http://med2.univ-angers.fr/discipline/lab\\_hema/PATHOL2007/HEMOST/h19coagphy.pdf](http://med2.univ-angers.fr/discipline/lab_hema/PATHOL2007/HEMOST/h19coagphy.pdf)

**CHENU Claire**

**L'hirudothérapie en médecine et en chirurgie modernes**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, (14 décembre 2012)

**RESUME :** L'utilisation des sangsues à des fins médicales, ou hirudothérapie, est une alternative thérapeutique datant de l'Antiquité massivement employée au cours de l'histoire, avant de tomber en désuétude avec l'apparition des sciences médicales et chirurgicales modernes. Toutefois, les sangsues font aujourd'hui l'objet d'un regain d'intérêt dans le cadre d'applications précises.

Après une présentation des sangsues médicinales puis des mécanismes à l'origine de leur bénéfice thérapeutique, les points clés de la manipulation des sangsues sont présentés, ainsi que leurs utilisations en médecine et en chirurgie contemporaines.

Les principales applications pour lesquelles un bénéfice est avéré chez l'homme concernent la chirurgie réparatrice (réimplantation d'extrémités, greffe de lambeaux...), où les sangsues sont employées pour lever une congestion veineuse post-opératoire. Par ailleurs, la résorption de collections liquidiennes constitue la deuxième grande application des sangsues.

Dans un dernier temps sont présentées les différentes complications relatives à l'hirudothérapie ainsi que leur prise en charge.

**MOTS CLES :**

- Sangsue médicinale
- hirudine
- Médecines parallèles

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur Claude GHARIB
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur Philippe BERNY
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Eric VIGUIER

**DATE DE SOUTENANCE :** 14 Décembre 2012

**ADRESSE DE L'AUTEUR :** 14 Rue de la Patelière  
69290 CRAPONNE