

Sanguijuela *Hirudo medicinalis*: una alternativa terapéutica disponible en México

Agustín
Cornejo-Esquerro,
Giancarlo
Talleri-de-Andrea,
José de Jesús
Blanco-Favela,
Alberto Ramos-Mora,
Benjamín
Villarán-Muñoz

RESUMEN

A través de la historia se han atribuido diversas propiedades terapéuticas a la sanguijuela *Hirudo medicinalis*; durante los últimos 20 años ha demostrado ser una alternativa terapéutica efectiva en el alivio de la congestión venosa posoperatoria, especialmente en cirugías reconstructivas. En México, esta práctica ha sido limitada debido a la falta de abastecimiento y al tardado proceso de importación de esta sanguijuela, por lo que el bioterio del Centro de Investigación Biomédica de Occidente-IMSS en Guadalajara, Jalisco, ha iniciado un programa de reproducción de esta especie. *Hirudo medicinalis* es útil en el ámbito médico por su habilidad de morder profundamente y causar un sangrado prolongado tras su desprendimiento. Entre las propiedades fisiológicas de su glándula salival se encuentra uno de los anticoagulantes naturales más potentes, la hirudina, un vasodilatador semejante a la histamina, así como inhibidores de la agregación plaquetaria y proteasas altamente específicas, que favorecen el drenaje venoso y mejora el flujo arterial. Sin embargo, el uso de la hirudoterapia se ha asociado con morbilidad considerable, por lo que es primordial conocer los riesgos potenciales y las precauciones necesarias.

SUMMARY

Throughout history a diversity of therapeutic properties have been attributed to the leech *Hirudo medicinalis*, however, during the past twenty years its use has proven to be a practical and effective method for the relief of venous engorgement in reconstructive surgery. In Mexico this practice has been limited due to the lack of supply and to the time-consuming process of importation. Based on this need, the animal facilities of the Occidental Biomedical Research Center-IMSS in Guadalajara, Jalisco has initiated a breeding and reproduction program of this species with the aim at improving its availability as a therapeutic device. The salivary gland of *Hirudo medicinalis* contains one of the most potent natural anticoagulants known as hirudin, a histamine-like vasodilator, platelet aggregation inhibitors and highly specific proteases, all of which favor venous flow and turn this species into the most useful in the clinical setting. Nevertheless, it is important to know the potential risks of leech therapy since it has been associated with considerable morbidity when adequate precautions are not taken. This review exposes relevant aspects of the medicinal leech, the indications, mechanism of action and the protocol for this therapy.

Centro Médico Nacional de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara, Jalisco, México

Comunicación con:
Agustín
Cornejo-Esquerro.
Tel: (33) 3618 9410.
Fax: (33) 3618 1756.
Correo electrónico:
bioterioimss@hotmail.com

Recibido: 24 de julio de 2007

Aceptado: 2 de agosto de 2007

Introducción

La sanguijuela *Hirudo medicinalis* es conocida también como la sanguijuela medicinal en el ámbito médico. En el pasado, el hombre la usó de manera empírica con el fin de curar una diversidad de padecimientos, desde dolores locales y procesos inflamatorios hasta trastornos oculares, congestión cerebral, hemorroides, obesidad, trastornos mentales¹ y tal vez los más raros de todos, hemorragia² y priapismo.³ Esta relación simbiótica perduró desde hace más de tres milenios⁴ hasta principios del siglo

XX, cuando con el advenimiento de la medicina moderna y el desarrollo de nuevos conceptos en fisiología, patología y microbiología, las sanguijuelas perdieron protagonismo.² Sin embargo, su empleo en la medicina actual se centra en el alivio de la congestión venosa posoperatoria que amenaza la viabilidad de los tejidos en cirugía reconstructiva, y aunque ésta es su contribución más importante, su utilidad se extiende a áreas como la microcirugía, urología y angiología.

La primera referencia en la cirugía moderna data de 1960,⁵ cuando se informó el uso exitoso de

Palabras clave

Hirudo medicinalis
sanguijuelas
terapias
complementarias
aplicación de
sanguijuelas

Key words

Hirudo medicinalis
leeches
complementary
therapies
leeching

la sanguijuela para aliviar la congestión venosa posoperatoria en 20 casos de colgajos pediculados; sin embargo, no fue hasta la década de los ochenta que la sanguijuela retomó su papel en el ámbito clínico y desde entonces numerosos informes de casos han evidenciado sus beneficios ante la *Food and Drugs Administration* de Estados Unidos, la cual en junio de 2004 la aceptó como un dispositivo en la medicina actual.⁶

Existen pocos proveedores de esta especie en el mundo, entre ellos la más grande es la compañía Biopharm en Reino Unido, con más de 50 000 sanguijuelas que envía a más de 30 países; otros son Ricamperex, en Francia, así como Connecticut Valley Biological Supply⁴ y Leeches USA, en Estados Unidos.⁷ En estos países el uso de sanguijuelas se ha vuelto una práctica común y las demandas se abastecen en menos de 24 horas.⁷ En México, ha sido difícil disponer de sus beneficios terapéuticos en el momento en que se requiere debido a la falta de abastecimiento y al tardado proceso de importación que incluye el trámite de permisos de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), la inscripción dentro del padrón de importadores y la asignación de una agencia aduanal que realice los trámites de importación. Lo anterior puede tardar más de 72 horas y alcanzar un costo aproximado de 850 dólares, incluyendo las cuotas de la compañía exportadora, además de la cantidad de sanguijuelas que se requiera importar, cada una con un costo aproximado de ocho dólares. De ahí que diversas áreas de cirugía reconstructiva del país, aun teniendo la capacidad económica se han visto en la necesidad de recurrir a otras especies de sanguijuelas recogidas de estanques, arroyos o lagos locales, las cuales tienen un comportamiento impredecible aunado a los potenciales riesgos sanitarios.

Cuadro I

Productos identificados en la saliva de la sanguijuela *Hirudo medicinalis*, mecanismo de acción y efecto que ejercen en el sitio de la mordedura

Productos	Mecanismo	Efecto
Hirudina	Inhibición directa de trombina	Anticoagulante
Sustancia semejante a la histamina	Vasodilatación	Aumenta el flujo sanguíneo regional
Hialuronidasa	Antibacteriano	Destruye el ácido hialurónico en la superficie de las especies de <i>Streptococcus</i>
Hialuronidasa colagenasa	Factores de permeabilidad	Aumenta la permeabilidad del tejido y la penetración de las secreciones
Calina apirasa	Efecto antiplaquetario	Inhibe de la activación inicial de las plaquetas
Saratina	Efecto antiplaquetario	Inhibe la adhesión plaquetaria a la pared del vaso

Con base en esta necesidad, el bioterio del Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social en Guadalajara, Jalisco, ha iniciado un programa de cría y reproducción de esta especie con el fin de mejorar su disponibilidad en México como herramienta terapéutica.

Consideraciones anatómicas

Hirudo medicinalis (figura 1) es un gusano segmentado hermafrodita que pertenece al tipo de los anélidos y a la familia hirudinidae.⁴ Esta especie puede alcanzar hasta 12 cm de longitud, aunque generalmente antes de alimentarse mide un tercio de este tamaño. Su cuerpo tiene dos ventosas con capacidad de succión, una anal que es con la que se adhiere inicialmente y se arrastra, y una oral que es más pequeña y móvil por donde se alimenta.^{8,9} En la ventosa oral posee tres mandíbulas, cada una contiene entre 60 y 100 dientes afilados de 1 mm de diámetro y hasta 1.5 mm de profundidad que forman la típica mordedura en “Y”. En el borde de estas mandíbulas se localizan ductos por donde secretan químicos activos dentro de la herida para facilitar su alimentación.⁸

De las 600 especies existentes,⁴ *Hirudo medicinalis* es considerada la más útil en el ámbito médico debido a su habilidad de morder profundamente y causar un sangrado prolongado tras su desprendimiento, lo cual permite el drenaje de la sangre estancada a través de las heridas mejorando la circulación y el flujo arterial tras su aplicación.¹⁰



Figura 1. Aspecto exterior de la sanguijuela *Hirudo medicinalis*

Secreciones salivales de *Hirudo medicinalis*

Hirudo medicinalis contiene en su glándula salival químicos activos que secreta dentro de la herida; entre ellos el mejor conocido es la hirudina, uno de los anticoagulantes naturales más potentes perteneciente al grupo de los inhibidores directos de la trombina.⁸ La hirudina bloquea las dos funciones centrales de la trombina en la cascada de coagulación: la activación plaquetaria y la conversión del fibrinógeno a fibrina; también previene otras reacciones hemostáticas catalizadas por la misma, tales como la activación de factores de coagulación V, VII y XII y de protrombina, la síntesis y liberación de mediadores del endotelio vascular, al igual que algunos mecanismos vasculares esenciales de la trombosis. A diferencia de la heparina, la hirudina tiene la ventaja de no necesitar cofactores endógenos como la antitrombina y de no ser inactivada por factores plaquetarios u otras proteínas que antagonizan la acción de la heparina.¹¹

Otras secreciones salivales identificadas que contribuyen a la extensión del tiempo de sangrado incluyen un vasodilatador semejante a la histamina, inhibidores de la agregación plaquetaria y proteasas altamente específicas, las cuales se describen en el cuadro I.^{4,8,12}

Indicaciones

La terapia coadyuvante con sanguijuelas está indicada en situaciones clínicas caracterizadas por un drenaje venoso deficiente en presencia de un flujo arterial adecuado. Antes de llevarse a cabo debe establecerse firmemente el diagnóstico de congestión venosa y agotarse las opciones terapéuticas como la liberación de suturas o vendajes ajustados y el drenaje de hematomas,^{12,13} incluyendo la exploración quirúrgica del sitio operado para revisar la anastomosis y posiblemente realizar trombolectomía.^{10,13}

Existen equipos de monitoreo como el fluorómetro y el láser Doppler,⁷ objetivos pero potencialmente más costosos; sin embargo, hallazgos clínicos como la coloración cianótica, baja temperatura, llenado capilar instantáneo, aumento en el turgor del tejido y la obtención de flujo venoso oscuro tras pinchar con una aguja el sitio congestionado son confiables, altamente sensibles y específicos para el diagnóstico de congestión venosa. En contraste, los hallazgos clínicos en insuficiencia arterial son coloración pálida o cianótica, baja temperatura, disminución del turgor del tejido, ausencia o lentitud del llenado capilar y de flujo tras pinchar con la aguja.^{10,12}

La aplicación de sanguijuelas está contraindicada en tejidos con isquemia arterial y en pacientes inmunosuprimidos, ya que puede acompañarse de morbilidad considerable.^{7,14,15}

Uso clínico

La terapia con sanguijuelas ha sido útil y segura para aliviar la congestión venosa en tejidos comprometidos, evitando la necrosis tisular irreversible en cirugía reconstructiva, particularmente en reimplantes digitales¹⁶ y en colgajos libres y pediculados,^{14,17-19} en reconstrucción de cara tras avulsiones parciales de tejidos blandos en oreja, nariz, labio y escalarpe²⁰ y en reimplante de nariz,²¹ oreja,²² labio,¹⁰ escalarpe²³ y pene.^{24,25} Han sido útiles también en pezones congestionados tras mastoplastia reductiva^{10,26} y mastopexia,¹⁰ y en dedos amenazados por lesión en avulsión en anillo.²⁷ En microcirugía se han empleado para la reconstrucción microvascular con transferencia de tejido libre en cabeza y cuello.²⁸

Debido a la capacidad de *Hirudo medicinalis* para drenar el exceso de fluidos en los tejidos a través de las mordeduras resistentes a la formación de coágulos, esta terapia también se ha usado con buenos resultados en casos donde no se considera parte de la terapia tradicional, tales como hematoma escrotal y edema penoescrotal,²⁹ macroglosia severa secundaria a trauma,³⁰ hematoma periorbitario,⁴ dedos amenazados por púrpura fulminante⁷ y en el tratamiento del síndrome posflebitico.¹

Complicaciones

El uso de *Hirudo medicinalis* no está exento de riesgos debido a que en su intestino es portadora de *Aeromonas hydrophila*, un bacilo gramnegativo con el cual tiene una relación simbiótica ya que éste provee enzimas proteolíticas para digerir la sangre.³¹ La incidencia exacta de las infecciones asociadas a la terapia con sanguijuelas es difícil de determinar y de acuerdo con la literatura varía de 2.4 a 20 %.³² Estas infecciones van desde celulitis o un absceso local hasta pérdidas extensas de piel y complicaciones como sepsis y meningitis,³³ por lo que es primordial el uso de antibióticos profilácticos durante toda la terapia con sanguijuelas^{31,33-36} (cuadro II).

También deben considerarse las complicaciones potenciales que conlleva la transfusión sanguínea, ya que puede presentarse una disminución significativa de los niveles de hematócrito con el uso prolongado de esta terapia.⁷

Otros patógenos no comunes causantes de infección tras la aplicación de sanguijuelas son *Serratia marcescens*,³⁷ *Aeromonas sobria*,³⁸ y *Vibrio fluviales*,³² en estos casos la profilaxis antimicrobiana ha sido inadecuada.

Protocolo para la aplicación

Los autores del presente artículo utilizaron el protocolo del cuadro II^{7,12,28,32-35} en el caso de un adolescente de 17 años con amputación total del segundo dedo de la mano derecha tras un accidente con una sierra circular, en quien se esperaba que el dedo sufriera congestión venosa, por lo que las sanguijuelas fueron solicitadas antes del reimplante y estuvieron disponibles en el posoperatorio inmediato (figura 2). También en el caso de un niño de cuatro años con una lesión por desguantamiento en la pierna izquierda tras ser prensada por la llanta de un vehículo. Al segundo día del accidente una parte del tejido lesionado evidenció

Cuadro II
Protocolo para la aplicación de la sanguijuela

1. Consideraciones generales	Debe existir consentimiento del paciente, informándole del potencial riesgo de infección y la posible necesidad de transfusión sanguínea, así como del potencial beneficio. Su uso es estrictamente intrahospitalario.
2. Contraindicaciones	En pacientes inmunosuprimidos debido al riesgo de infección por <i>Aeromonas hydrophila</i> . En presencia de insuficiencia arterial.
3. Almacenamiento y manejo	Almacenar en agua estéril sin cloro a una temperatura de 15 °C en sombra, evitando el contacto con la luz solar. El agua se debe cambiar en intervalos de cada dos semanas. La sanguijuela se maneja usando guantes y pinzas de disección (sin dientes) para colocarla o retirarla.
4. Diagnóstico de congestión venosa	Los siguientes hallazgos clínicos son confiables, altamente sensibles y específicos para el diagnóstico de congestión venosa: coloración cianótica, baja temperatura, llenado capilar instantáneo, aumento en el turgor del tejido y la obtención de flujo venoso oscuro tras pinchar con una aguja el sitio congestionado. Los hallazgos clínicos encontrados en insuficiencia arterial son coloración pálida o cianótica, baja temperatura, disminución del turgor del tejido, ausencia o lentitud del llenado capilar y de flujo tras pinchar con la aguja.
5. Preparación del sitio y aplicación	Limpiar el sitio con agua inyectable o solución fisiológica (sin jabón o alcohol) para retirar cualquier residuo que pueda impedir que la sanguijuela muerda. Antes de aplicarla es conveniente colocar en el área de mayor congestión venosa una gasa humedecida con una perforación en el centro de 1 cm de diámetro, para delimitar el área de la mordedura y evitar su migración. Cuando se usa en cabeza y cuello hay que tener especial cuidado de que no migre al tracto respiratorio o digestivo. Es más probable que muerda en el sitio donde se pinchó con la aguja. La falla de la sanguijuela al adherirse o al alimentarse adecuadamente es sugestivo de insuficiencia arterial o isquemia y, por consiguiente, de mal pronóstico.
6. Desprendimiento	Normalmente se desprende sola tras completar su alimentación, la cual dura de 20 a 60 minutos. Un indicador confiable de que se está alimentando es al aumento en su tamaño, el cual puede ser 10 veces el inicial. Si después de 60 minutos de alimentación no se desprende, se coloca una gota de alcohol (con una torunda) en la parte posterior de su cuerpo. Es importante no jalarla ya que pueden quedar residuos de mandíbula en la herida y propiciar una infección.
7. Sacrificio y deshecho	Colocarla en un contenedor con alcohol a 70% después de su uso y manejarla como deshecho biológico-infeccioso. No se debe reutilizar.
8. Seguimiento de la herida	Colocar gasas heparinizadas sobre la herida y limpiarla cada una a dos horas para evitar la formación de coágulos que puedan impedir el sangrado pasivo.
9. Antibióticos profilácticos	Se ha informado susceptibilidad a cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoxazol. Un régimen recomendado es una quinolona (ciprofloxacino) combinada con un aminoglucósido. La penicilina y las cefalosporinas de primera generación no son efectivas, ya que la sanguijuela es productora de betalactamasa.
10. Laboratorio	Monitorear el hematócrito y signos ortostáticos durante la terapia con sanguijuelas, ya que puede llegar a requerirse transfusión si el sangrado pasivo es significativo.
11. Cantidad, frecuencia y duración	Es variable y depende del grado de congestión venosa, el tamaño del área afectada y la respuesta obtenida. En dedos, la competencia venosa se restaura al cuarto o quinto día posoperatorio y se ha informado el uso de una sanguijuela por hora en presencia de congestión venosa severa, hasta una sanguijuela cada cuatro horas durante cinco a diez días. En colgajos libres, la competencia venosa se restaura del sexto al décimo día posoperatorio y en colgajos pequeños se ha indicado uso de una o dos sanguijuelas cada cuatro horas durante cuatro a siete días, y en colgajos más grandes de cuatro a 10 sanguijuelas cada cuatro horas durante 10 días.

congestión venosa debido a un drenaje venoso deficiente, por lo que se solicitaron sanguijuelas y se aplicaron como terapia coadyuvante logrando resultados satisfactorios.



Figura 2. Hirudo medicinalis alimentándose en dedo reimplantado

Sanguijuela mecánica

Valorando el potencial terapéutico de la sanguijuela, diferentes autores han informado la creación de una sanguijuela mecánica,^{4,7,39} que funciona a base de una cámara de vacío de cristal que succiona sangre e irriga la herida con heparina de manera continua para promover la descongestión venosa. Su uso ha sido exitoso y ha mostrado superioridad ante la sanguijuela medicinal.⁴⁰ Sin embargo, aún es remoto que este prototipo experimental reemplace a *Hirudo medicinalis*.

References

1. Eldor A, Orevi M, Rigbi M. The role of the medicinal leech in medical therapeutics. *Blood Rev* 1996;10 (4):201-209.
2. Upshaw J, O'leary JP. The medicinal leech: past and present. *Am Surg* 2000;66(33):313-314.
3. Hodgson D. The medicinal leech: past and present. *J R Soc Med* 2003;96(11):562-565.
4. Vera KC, Blu FA, Torres HM. Sanguijuelas, parásitos presentes ayer y hoy. *Rev Chilena Infectol* 2005;22(1):32-37. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-1018200500100004&lng=es
5. Derganc M, Zdravic F. Venous congestion of flaps treated by application of leeches. *Br J Plast Surg* 1960;13:187-192.
6. Rados C. Beyond bloodletting: FDA gives leeches a medical makeover. *FDA Consum* 2004;38(5):9.
7. Daane S, Zamora S, Rockwell B. Clinical use of leeches in reconstructive surgery. *Am J Orthop* 1997;26(8):528-532.
8. Whitaker IS, Cheung CK, Chahal CA, Karoo RO, Gulati A, Foo IT. By what mechanism do leeches help to salvage ischaemic tissues? A review. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2005;43(2):155-160.
9. Mory RN, Mindell D, Bloom DA. The leech and the physician: biology, etymology, and medical practice with *Hirudinea medicinalis*. *World J Surg* 2000;24(7):878-883.
10. Weinfeld AB, Yuksel E, Boutros S, Gura DH, Akyurek M, Friedman JD. Clinical and scientific considerations in leech therapy for the management of acute venous congestion: an updated review. *Ann Plast Surg* 2000;45(2):207-212.
11. Markwardt F. Hirudin as alternative anticoagulant. A historical review. *Semin Thromb Hemost* 2002;28(5):405-414.
12. Irish JC, Gullane PJ, Mulholland S, Neligan PC. Medicinal leech in head and neck reconstruction. *J Otolaryngol* 2000;29(5):327-332.
13. Pederson WC. Replantation. *Plast Reconst Surg* 2001;107(3):823-841.
14. Soucacos PN, Beris AE, Malizos KN, Xenakis TA, Georgoulis A. Successful treatment of venous congestion in free flaps using medical leeches. *Microsurgery* 1994;15(7):496-501.
15. Utley DS, Koch RJ, Goode RL. The failing flap in facial and reconstructive surgery: role of the medicinal leech. *Laryngoscope* 1998;108(8 Pt 1):1129-1135.
16. Iglesias M, Butrón P. Local subcutaneous heparin as treatment for venous insufficiency in replanted digits. *Plast Reconst Surg* 1999;103(6):1719-1724.
17. Gideroglu K, Yildirim S, Akan M, Aköz T. Immediate use of medicinal leeches to salvage venous congested reverse pedicled neurocutaneous flaps. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2003;37 (5):277-282.
18. Lozano DD, Stephenson LL, Zamboni WA. Effect of hyperbaric oxygen and medicinal leeching on survival of axial skin flaps subjected to total venous occlusion. *Plast Reconst Surg* 1999;104(4): 1029-1032.
19. Dabb RW, Malone JM, Leverett LC. The use of medicinal leeches in the salvage of flaps with venous congestion. *Ann Plast Surg* 1992;29(3):250-256.
20. Frodel JL, Barth P, Wagner J. Salvage of partial facial soft tissue avulsions with medicinal leeches. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131(6):934-939.
21. Miller PJ, Hertler C, Alexiades G, Cook TA. Replantation of the amputated nose. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;124(8):907-910.

22. Concannon MJ, Puckett CL. Microsurgical replantation of an ear in a child without venous repair. *Plast Reconstr Surg* 1998;102(6):2088-2093.
23. Mowlavi A, Bass MJ, Khurshid KA, Milner S, Zook EG. Psychological sequelae of failed scalp replantation. *Plast Reconstr Surg* 2004;113(6):1573-1579.
24. Mineo M, Jolley T, Rodriguez G. Leech therapy in penile replantation: a case of recurrent penile self-amputation. *Urology* 2004;63(5):981-983.
25. Lazarou EE, Catalano G, Catalano MC, Leon YC, Gorman JM. The psychological effects of leech therapy after penile auto-amputation. *J Psychiatr Pract* 2006;12(2):119-123.
26. Güneren E, Erolu L, Akba H, Uysal OA, Hökelek M, Erolu C. The use of *Hirudo medicinalis* in nipple-areolar congestion. *Ann Plast Surg* 2000;45(6):679-681.
27. Tuncali D, Terzigolu A, Cigsar B, Aslan G. The value of medical leeches in treatment of class IIC ring avulsion injuries: report of 2 cases. *J Hand Surg* 2004;29(5):943-946.
28. Chepeha DB, Nussenbaum B, Bradford CR, Teknos TN. Leech therapy for patients with surgically unsalvageable venous obstruction after revascularized free tissue transfer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128(8):960-965.
29. Philip J, Armitage DW, Phillips KR, Parr NJ. Leech therapy for penoscrotal oedema in patients with hormone-refractory prostate carcinoma. *BJU Int* 2003;91(6):579-580.
30. Bryne PJ, Bernstein PE. The use of medicinal leeches to treat macroglossia secondary to blunt trauma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125(6):649-650.
31. Snower DP, Ruef C, Kurtiza AP, Edberg SC. *Aeromonas hydrophila* infection associated with the use of medicinal leeches. *J Clin Microbiol* 1989; 27(6):1421-1422.
32. Whitaker IS, Izadi D, Oliver DW, Monteath G, Butler PE. *Hirudo medicinalis* and the plastic surgeon. *Br J Plast Surg* 2004;57(4):348-353.
33. Steer A, Daley AJ, Curtis N. Suppurative sequelae of symbiosis. *Lancet* 2005;365(9454):188.
34. Hermansdorfer J, Lineaweaver W, Follansbee S, Valauri FA, Buncke HJ. Antibiotic sensitivities of *Aeromonas hydrophila* cultures from medicinal leeches. *Br J Plast Surg* 1988;41(6):649-651.
35. Nonomura H, Kato N, Ohno Y, Itokazu M, Matsunaga T, Watanabe K. Indigenous bacterial flora of medicinal leeches and their susceptibilities of 15 antimicrobial agents. *J Med Microbiol* 1996;45(6): 490-493.
36. Bauters TG, Buyle FM, Verschraegen G, Vermis K, Vogelaers D, Claeys G, et al. Infection risk related to the use of medicinal leeches. *Pharm World Sci* 2007;29(3):122-125.
37. Pereira JA, Greig JR, Liddy H, Ion L, Moss AL. Leech-borne *Serratia marcescens* infection following complex hand injury. *Br J Plast Surg* 1998;51(8): 640-641.
38. Fenollar F, Fournier PE, Legre R. Unusual case of *Aeromonas sobria* cellulitis associated with the use of leeches. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18(1):72-73.
39. Conforti ML, Connor NP, Heisey DM, Vanderby R, Kunz D, Hartig GK. Development of a mechanical device to replace medicinal leech (*Hirudo medicinalis*) for treatment of venous congestion. *J Rehabil Res Dev* 2002;39(4):497-504.
40. Hartig GK, Connor NP, Heisey DM, Conforti ML. Comparing a mechanical device with medicinal leeches for treating venous congestion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129(5):556-564.