

SÜLÜK KULLANIMINDA İNFEKSİYON ÖNLENMESİ İÇİN FARKLI PROFİLAKSİ METODLARININ KARŞILAŞTIRILMASI: ÖN ÇALIŞMA*

Samet Vasfi KUVAT*, Atakan AYDIN*, Serdar TUNÇER*, Sinan Nur KESİM*, Atilla ARINCI*,
Fatih KABAKAŞ*, Enver AYIK**, Nezahat GÜRLER**

* İstanbul Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, İSTANBUL

** İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Replantasyon ve flep cerrahisinde venöz yetmezlik önemli bir problemdir. Bu çalışmada, sülüklerin eksternal dekontaminasyonu ile kombine infeksiyon profilaksi protokollerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Sülük uygulama ortalama 3 gün sürmüş, sülük uygulaması ile başlayan antibiyotik profilaksisi 7 güne tamamlanmıştır. Replantasyon ya da lokal flep uygulanan 20 hasta rastgele beşer hastalık 4 gruba ayrılmış, 1. ve 3. gruptaki hastalara transportasyon sıvılarına 12.5 ppm sodyum hipoklorit ilavesi ile 10 dakika eksternal dekontaminasyon yapılmış sülükler uygulanmış; 1. ve 2. grup hastalara profilaktik 2x1 g/gün intravenöz sefazolin sodyum, 3. ve 4. grup hastalara ise 1x2 g/gün intravenöz seftriakson verilmiştir. Hastalar; hastanede kalım süreleri ve sonrasında 14 gün boyunca replantasyon ve flep sağ kalımı ile sistemik ya da lokal infeksiyon açısından takip edilmiştir. Eksternal dekontaminasyon yapılmayan sülüklerin uygulandığı 10 hastanın 6'sında, dekontaminasyon yapılan sülüklerin uygulandığı 10 hastanın 4'ünde; profilaktik sefazolin sodyum kullanılan 10 hastanın 7'sinde, seftriakson kullanılan 10 hastanın 3'ünde lokal infeksiyon gelişmiş, gruplar arasında lokal infeksiyon oluşmasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Dekontaminasyon yapılmayan sülükler ve sefazolin sodyum kullanılan 1.grupta 4 hastada lokal infeksiyon görülmüşken, dekontaminasyon yapılan sülükler ve seftriakson kullanılan 4. grupta sadece 1 hastada lokal infeksiyon görülmüş ve bu gruplar arasında sınırlı bir anlamlılık saptanmıştır (p=0.058). Anlamlı sonuç alınmaması gruplardaki hasta sayılarının küçüklüğüne bağlanarak çalışmanın sürdürülmesine karar verilmiştir. Hiçbir hastada sistemik infeksiyon görülmemiştir.

Anahtar sözcükler: dekontaminasyon, infeksiyon, profilaksi, sülük

SUMMARY

Comparison of Different Prophylaxis Methods to Prevent Infections in Leech Using: Preliminary Report

Venous congestion is a significant problem in replantation and flap surgery. This study aims to compare the external decontamination of leeches and combined infection prophylaxis protocols. The mean duration of leech application was three days, and antibiotic prophylaxis was continued for seven days. Twenty patients who underwent replantation or local flap procedures were randomly placed into 4 groups, with 5 patients in each. Patients in groups 1 and 3 were treated with leeches that were externally decontaminated by the addition of 12.5 ppm sodium hypochloride to transportation fluid for 10 minutes; patients in groups 1 and 2 were treated with prophylactic cefazolin sodium 2x1g intravenously; patients in groups 3 and 4 received intravenous ceftriaxone 1x2 g, daily. The patients were followed up for 14 days with respect to success of replantation and flap survival, and presence of local or systemic infection. Local infection rates were as follows: 6 out of 10 patients treated with leeches which were not decontaminated, 4 patients out of 10 treated with externally

Yazışma adresi: Samet Vasfi Kuvat. İstanbul Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Çapa, İSTANBUL

Tel.: (0212) 414 20 00/32492, (0533) 341 78 68

e-posta:sametkuvat@yahoo.com

Alındığı tarih: 18.01.2006, revizyon kabulü: 27.02.2006

* 20.ANKEM Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresi'nde sunulmuştur (22-26 Mayıs 2005, Antalya)

decontaminated leeches, 7 patients out of 10 treated with prophylactic cefazolin sodium, and 3 patients out of 10 treated with ceftriaxone. Infection rates among the groups did not show a statistically significant difference. There were 4 local infections in group 1, which was treated with non-decontaminated leeches and cefazolin sodium, and only 1 local infection in group 4, which was treated with decontaminated leeches and ceftriaxone. The difference in infection rates of these groups showed limited significance ($p=0.058$). The lack of significance was attributed to the limited numbers of patients in each group, and therefore it was decided to continue the study. None of the patients developed a systemic infection.

Keywords: decontamination, infection, leech, prophylaxis

GİRİŞ

Sülük uygulamada infeksiyona en sık yol açan bakteriler olan *Aeromonas*'lar ile lokalize selülit, miyokardit ve sepsise uzanan spektrumda infeksiyonlar görülebilir^(4,6). Bu sebeple sülük kullanılan hastalarda infeksiyonun önlenmesi için pratik bilgiler elde etmek amacı ile birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sıklıkla çiftlik üretimi sülük kullanan yabancı ülkelerde yapıldığı düşünülürse, ülkemiz gibi doğal ortamlardan elde edilen sülükleri kullanan kliniklerde bu pratik bilgilerin önemi daha fazla ortaya çıkar. Yaklaşık 12 milyon nüfusa sahip olan İstanbul'da kliniğimiz dahil olmak üzere birçok rekonstrüktif cerrahi kliniğinin sülük temin yeri İstanbul Mısır Çarşısı'dır. Burada sülük alınan yerler bu konuda özelleşmiş marketler değildir. Sülüklerin medikal tedavide kullanımı sebebi ile titizlik gösterilse de bu konuda uzman personellerin olmaması sülük kaynaklı infeksiyonların artmasına neden olmaktadır. Mısır Çarşısı'ndaki marketlerin sülük temin yerleri ise ülkenin farklı yerlerindeki su ve havuzlarda üremiş sülüklerdir. Aydın ve ark.⁽¹⁾ bu sülüklerin genel floralarını ortaya koymuş ve transport sıvılarına düşük konsantrasyonda sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) ilave ederek eksternal dekontaminasyonun sağlandığını göstermişlerdir. Eksternal dekontaminasyon düşük dilüsyonda (12.5 ppm) sodyum hipokloritin eklendiği transport sıvılarında sülüklerin 10 dakika bekletilmesi ile sağlanmıştır⁽¹⁾.

Aeromonas cinsi bakteriler 1. kuşak sefalosporinlere sıklıkla dirençlidirler. Lineaweaver ve ark.⁽⁷⁾ sülük kullanılan hastaların antibiyotik profilaksisinde 3. kuşak sefalosporinlerin üstünlüğünü vurgulamışlardır.

Çamaşır suyu (sodyum hipoklorit) ile sülük taşıma suları ve sülüklerin oral floralarındaki *Aeromonas* cinsi bakteriler öldürülebiliyorsa, bu sülüklerin kullanıldığı hastalarda antibiyotik profilaksisinin daha eski kuşak sefalosporinlerle sağlanabileceği düşünülmüş, bu amaçla eksternal dekontaminasyon uygulanan ve uygulanmayan sülük kullanımı ile farklı antibiyotik profilaksi protokollerinin sonuçları karşılaştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar acil iş kazası olguları olup yaşları 19 ile 34 arasındaki genç erkek popülasyonudur. Sülük kullanılan 4 grup (4x5) hastadan sekizi pediküllü flep olguları iken, 12'si ven anastomozu yapılamayarak venöz problemle karşılaşılan distal parmak replantasyonu olgularıdır. Replantasyon ya da pediküllü flep uygulanan hastalardan rastgele seçilen, her biri beş hastadan oluşan 4 grup hastanın; ilk 2 grubunda antibiyotik profilaksisi amacı ile intravenöz sefazolin sodyum (2x1 g/gün), diğerlerinde ise intravenöz seftriakson (1x2 g/gün) kullanılmıştır. İkinci ve dördüncü gruplarda kullanılan sülüklere sodyum hipoklorit ile eksternal dekontaminasyon uygulanmıştır. Bu amaçla sülük taşıma kaplarına transport sıvılarındaki konsantrasyonu 12.5 ppm olacak şekilde sodyum hipoklorit (1 litre steril distile suya 0.25 ml çamaşır suyu) eklenmiştir. Sülükler 20°C'de 10 dakika bu sıvıda bekletildikten sonra distile su içeren steril kaplara alınmıştır. Sülükler bu protokolün uygulanmasından sonra hastalarda kullanılmıştır.

Her hastaya ortalama yedi adet sülük uygulanmıştır. Sülükler tekrar kullanılmamıştır. Sülükler kaplardan steril eldivenlerle ve travmatize edilmeden alınmıştır. Sülükler uygulandığı bölgede kendileri kan emmeyi bırakıncaya kadar serbest bırakılmış, zorlanarak ayrılmamıştır.

Hastalarda antibiyotik profilaksisi, sülük kullanımının devam ettiği ortalama üç gün dahil yedi güne tamamlanarak sonlandırılmıştır.

Hastalar, hastanede kalım süreleri ve sonrasında 14 gün boyunca replantasyon ve flep sağ kalımı ile sistemik ya da lokal infeksiyon açısından takip edilmiştir. Yara yerinde infeksiyon kriteri; akıntıdan alınan sürüntünün Gram boyanmasıyla mikroskopik incelemesinde polimorfonükleer lökositlerin hakimiyeti ile beraber bakteri görülmesi olarak alınmıştır. Bu şekilde infeksiyon olduğunu düşündüğümüz hastaların yara yeri akıntılarından eküvyonla alınan materyallerin 5 dakika içerisinde MacConkey ve kanlı agar ekimi yapılmıştır. Aerob kültürde üreyen bakterilerin klasik bakteriyel identifikasyon testleri ve Analytical Profile Index 32 GN (BioMérieux, Fransa) ile identifikasyonları yapılmıştır. Hastaların takiplerinde sistemik hastalığa rastlanmamıştır.

Alınan sonuçlar ki-kare istatistiksel testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Pediküllü flep olgularının üçünde total, birinde parsiyel flep kaybı; distal parmak replantasyon olgularının ise dördünde total nekroz görülmüştür. Bu hastaların tümünde nekrotik dokuya lokal infeksiyon eşlik etmiştir. Nekroz gelişmeyen iki hastada lokal infeksiyon görülmüştür. Yara yeri akıntısı mikroskopik incelemesinde; Gram boyamada polimorfonükleer lökosit hakimiyeti ile bakteri görülmesi infeksiyon olarak kabul edilmiştir. Hiçbir hastada ateş, tam kan sayımında lökosit artışı görülmediğinden bu infeksiyonlar lokal infeksiyon olarak değerlendirilmiştir. Eksternal dekontaminasyon yapılmayan sülük kullanılan gruplardan profilaksi için sefazolin kullanılan 5 olgunun 4'ünde (% 80), seftriakson kullanılan 5 olgunun 2'sinde (% 40); dekontaminasyon yapılan sülükler kullanıldığında ise sefazolin profilaksisinde 5 olgunun 3'ünde (% 60), seftriakson profilaksisinde 5 olgunun 1'inde (% 20) lokal infeksiyon görülmüştür (Tablo).

Dekontaminasyon ve profilakside kullanılan antibiyotikler ayrı ayrı ele alındığında eksternal dekontaminasyon yapılmayan sülüklerin kullanıldığı 10 olgunun 6'sında, dekontaminasyon yapılan sülüklerin kullanıldığı 10 olgunun 4'ünde; profilakside sefazolin kullanılan 10 olgunun 7'sinde, seftriakson kullanılan 10 olgunun 3'ünde lokal infeksiyon görülmüştür (Tablo). Bu farklılıkların hiçbirisi anlamlı bulunmamış ($p>0.05$), sadece dekontaminasyon yapılmayan sülüklerle sefazolinin kullanıldığı 1. grup ile dekontaminasyon ve seftriaksonun kullanıldığı 4. grup arasında sınırlı bir anlamlılık görülmüştür ($p=0.058$).

Lokal infeksiyon görülen 10 olgunun dördünden *Aeromonas hydrophila*, ikisinden *Aeromonas veronii biogroup sobria*, birinden *Staphylococcus aureus* üretilmiş, 3 olgudan etken üretilmemiştir.

TARTIŞMA

Hirudo medicinalis'lerin alternatif tıpta kullanımı

toplumlarda farklılık göstermesine karşın uzun geçmişe sahiptir. Sülüklerin kullanımındaki tarihi endikasyonlar; baş ve kas ağrıları, tonsillit, larenjit, epistaksis, rektal prolapsus, varis, alt ekstremitte hipertrofileri, hemoroid vb. şeklidir. Ondokuzuncu yüzyılda başlayan modern tıptaki kullanım, görülen infeksiyon ve aşırı kanamalar sebebi ile sekteye uğramıştır. Ancak farmakolojik çalışmalar ve antibiyotiklerin yaygınlaşması sülüklerin kullanımını modernize etmiştir. Öyle ki 1930'larda tromboembolik profilakside, 1943'de akut koroner trombozlarda sülüklerin sistemik kullanımı popüler olmuştur. Sülük salıvalarının enteresan farmakolojik özellikleri 1960'larda flep cerrahisinde sülüklerin sıklıkla kullanımına önderlik etmiştir⁽¹³⁾.

Flep yaşamasında geri dönüşümsüz hasarın en önemli nedenlerinden biri venöz yetmezliktir. Venöz yetmezliğin belirtileri hızlı kapillerite, normal veya artmış sıcaklık, koyu flep rengi ve iğne travması ile koyu kanamadır. Venöz akımda tıkanıklık; venöz tromboz ya da ödem ve hematoma sonucu gelişen vende basınç ile olabilir. Yaklaşık 8 saatlik venöz akım obstrüksiyonu tama yakın flep nekrozuna neden olur. Bunun sebebi; venöz akım obstrüksiyonu ile hızlı eritrosit ekstravazasyonu, perivasküler bölgede fibrin birikimi, endotelial yıkım, arteriovenöz kapiller şant artımı, tromboz gelişimi olabilir. Geri dönüşümsüz değişiklikler sebebi ile cerrahlar venöz yetmezlikte dikkatli olmak zorundadırlar⁽¹³⁾.

Araştırmacılar sülük uygulanmayan venöz yetmezliğe girmiş fleplerde ortalama % 72, uygulananlarda ise % 40.9 nekroz tespit etmişlerdir. Bu sebeple *H. medicinalis* venöz yetmezlik tedavisinde standart hale gelmiştir⁽¹³⁾.

Sülüklerin barsaklarından en çok izole edilen mikroorganizma *A. hydrophila*'dır. Sülüğün emdiği hemoglobinin *Aeromonas*'lar tarafından parçalanır. Parçalanma sonrası açığa çıkan hem *Aeromonas*, globulin ise sülük tarafından kullanılır. Yani sülükler *Aeromonas*'lar ile endosimbiotik yaşam ilişkisinde dirler^(9,12). Hermansdorfer ve ark.⁽⁵⁾ sülüklerin barsağından en çok bu mikroorganizmayı izole etmişlerdir. Mercer ve ark.⁽⁸⁾ ise sülük kullanımında tespit ettikleri

Tablo: Venöz yetmezlik sebebi ile eksternal dekontaminasyon uygulanan ve uygulanmayan sülüklerin kullanıldığı olgularda profilaksi rejimleri, uygulanan cerrahi ve lokal infeksiyon bulguları.

Grup	1. grup					2. grup					3. grup					4. grup				
Hasta no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Hipoklorit ¹	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Antibiyotik ²	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cerrahi ³	L	R	L	R	R	R	R	L	L	L	R	R	L	R	R	R	R	L	L	R
Lokal infeksiyon	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
Gram	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-			+	-						
<i>Aeromonas</i>	+	+	+			+		+								+				
Stafilokok										+										

¹:Sülüklerde sodyum hipoklorit ile eksternal dekontaminasyon; ²: C= Sefazolin ve S=Seftriakson ile antibiyotik profilaksisi; ³: L= Lokal flep, R= Replantasyon; Lokal infeksiyon saptanan 4., 13. ve 14. olgulardan alınan materyallerde üreme olmamıştır.

infeksiyonların % 20'sinde *Aeromonas*'ları etken mikroorganizma olarak izole etmişlerdir. Modern tıpta kullanılan sülüklerle (*H. medicinalis*) infestasyonlar nadirdir, ancak bazı sülük türleriyle infestasyonlar görülebilir. Bunlar sıklıkla *Limnatis nilotica* tarafından oluşturulur⁽²⁾. Uzunlukları 1-2 cm olan bu sülüklerin genç şekillerinin bulunduğu suların dikkatsizce içilmesi sonucunda farinks, larinks, özefagus ve burunda paraziter enfestasyonlar görülebilir. Atipik burun kanaması gibi kanama epizotları ile fark edilebilirler⁽²⁾. Ayrıca sülükler kontakt dermatit, multipl psödolenfoma gibi atipik klinik formlara yol açabilir^(3,11).

Aeromonas'lar sülük ısırık yerinden ya da çevre masere ciltten infeksiyona neden olabilirler. Bu mikroorganizmalarla oluşacak infeksiyonlar basit tedbirlerle azaltılabilir. Sülükler kaplardan pensetlerle alınmamalıdır. Çünkü bu minik görünen travmalar sülüklerin yara üzerine kusmasına neden olabilir. Bu sebeple sülükler mutlaka steril eldiven aracılığıyla travmatize edilmeden alınmalıdır. Yara üzerinden uzaklaştırma yine aynı şekilde travmatize edilmeden olmalıdır. Sülük doyduğunda kendiliğinden yara yüzeyini bırakır. Eğer bu dönem beklenmeden alınmaya zorlanırsa kusma riski yüksektir. Az miktarda sigara dumanı ya da ısı kaynağı zorunlu durumlarda sülüğün bırakmasını kolaylaştırmak için kullanılabilir. Sülük kullanımında rutin cerrahi antibiyotik profilaksisi değişir⁽⁶⁾. Lineaweaver ve ark.^(6,7) sülüklerin kullanıldığı cerrahi profilakside 3. kuşak sefalosporinleri tavsiye etmişlerdir.

Sodyum hipoklorit, içerdiği klor nedeniyle, ideal bir dezenfektandır. Geniş antimikrobiyal spektruma sahiptir. Hızlı bakterisidal etkisi vardır. Suda çözülebilir. Dilüe konsantrasyonlarda stabil ve insanlara nontoksiktir. Kullanımı kolaydır. Buna karşın mukozal membranlara irritatif olması, bazı kimyasallarla etkileşime girmesi, bazı metaller ile etkileşebilmesi dezavantajlarıdır⁽¹⁰⁾.

Çalışmamızda sülüklerin eksternal dekontaminasyonunda düşük dilüsyonda sodyum hipoklorit (düşük etkili dezenfektan olarak) kullanılmıştır. Bunun için; Aydın ve ark.⁽¹⁾'nin yaptığı çalışma temel alınmıştır. Bu çalışmada Aydın ve ark.⁽¹⁾'nin amacı mikroorganizmaları baskılayan, ancak sülüklerin yaşamasını ve davranışlarını değiştirmeyen sodyum hipoklorit konsantrasyonunu tespit ederek çiftlik üretimi olmayan yerlerdeki sülük kaynaklı infeksiyonları engellemektir. Bu sebeple transport sıvı ve sülüklerde oral florayı baskılayacak, ancak sülüklerin yaşam fizyolojisini değiştirmeyecek dezenfektan konsantrasyonlarını araştırdılar. Çalışmadaki eradikasyon, transport sıvı ve sülük oral florasını hedef almıştı. *Aeromonas*'lar emilen kanın sindirimindeki simbiyotik rolleri sebebi ile sülük barsak floralarında mutlaka bulunmalıdır. Bu sebeple barsaklardan eradikasyonu ile sülük fizyonomisinin korunması mümkün değildir. Çiftliklerde üretilmeyen sülükleri kullanmak zorunda olan kliniklerde; sülük kullanımı öncesi

taşıma kaplarına konsantrasyonu 12.5 ppm olacak şekilde sodyum hipoklorit konularak sülüklerin 10 dakika bekletilmesi ve sonrası distile su içeren kaplara konulması ile eksternal dekontaminasyon sağlanabilir⁽¹⁾.

Kan dolaşımı bozuk olan dokularda bakteriyel kolonizasyon ve infeksiyon kaçınılmazdır. Bunun yanı sıra oluşmuş infeksiyonun vasküler dolaşımı kötü yönde etkileyeceği de bir gerçektir. Dolayısıyla çalışmamızdaki parsiyel ya da total nekroz olgularında lokal infeksiyon ile nekroz oluşumu açısından sebep-sonuç ilişkisi açık değildir.

Hastalara antibiyotik profilaksisi 7 gün süre ile uygulanmıştır. Literatürde sülük uygulanan hastalarda profilaktik antibiyotik kullanım süresi açık değildir. Yani sülük uygulanım sürelerine ilave ne kadar süre antibiyotik kullanılması gerektiği bilinmemektedir. Bu amaçla ek çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmada lokal infeksiyon kabul edilen 10 olgunun 3'ünde yara yeri kültüründe üreme olmaması profilaktik antibiyotik baskısına bağlanmıştır. Bunun sebebi, mikroskopide yoğun polimorfonükleer lökositlere ilaveten bakteri (Gram pozitif/negatif) görülmesinin infeksiyonu düşündürmesiydi. Kültür ve biyokimyasal identifikasyon sonuçları infeksiyonda en sık rastlanan etkenin *A. hydrophila* olduğunu ortaya koymuştur. Bu literatürle uyumlu olarak beklenen bir sonuçtur.

Bu prospektif çalışmada; 12.5 ppm konsantrasyonluk sodyum hipoklorit ile eksternal dekontamine sülük kullanımında, profilaktik antibiyotik olarak 1x2 g intravenöz seftriakson uygulamasının ilave infeksiyon oluşumunu azalttığını gözlenmiştir. Bunun istatistiksel açıdan sınırlı anlamlı olmasının muhtemel nedeni hasta sayısının sınırlı olmasıdır. Kliniğimizde bu konuda prospektif bir çalışmamız devam etmektedir.

Sonuç

Birçok ülkede sülük kullanımı için üretim çiftlikleri bulunup, klinikler bu çiftliklerden 24 saat sülük temin edebilirler. Ülkemizde sülük çiftliği bulunmamaktadır. Sülükler çeşitli illerdeki sulak arazi ve hatta bataklıklardan elde edilmektedir. Kliniklerin bu sülükleri dikkatsizce kullanmaları bilinen ve bilinmeyen infeksiyonlar açısından büyük risk taşır. Ayrıca, sülüklerin toplumumuzda başağrısı, miyalji, varis, obezite vb. gibi sebeplerle sıklıkla kullanıldığı, hatta bazı yörelerde saç traşı olanlara promosyon olarak sülük uygulandığı unutulmamalıdır. Sülük satılan marketlerin esas alıcı olarak hedeflediği, klinikler değil bu popülasyondur. Bu nedenle gerek sağlık kuruluşları, gerekse bunların dışındaki yerlerde sülük kullanımı için pratik bilgilere ve dolayısı ile daha ileri çalışmalara ihtiyacımız bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Aydin A, Nazik H, Kuvat SV et al: External decontamination of wild leeches with hypochloric acid, BMC Infect Dis 2004;4:28.
2. Bergua A, Vizmanos F, Monzon FJ, Blasco RM: Unavailable epistaxis in the nasal infestation of leeches, Acta Otorhinolaringol Esp 1993;44(5): 391-3.
3. Blaise S, Le Brun V, Sparsa A, Delrous JL, Bonnetblanc JM: Contact dermatitis with *Hirudo medicinalis*, Ann Dermatol Vener 2002;129(12): 1380-2.
4. Evans J, Lunnis PJ, Gaunt PN, Hanley DJ: A case of septicemia due to *Aeromonas hydrophila*, Br J Plast Surg 1990;43(3):371-2.
5. Hermansdorfer J, Lineaweaver W, Follansbee S, Valauri FA, Buncke HJ: Antibiotic sensitivities of *Aeromonas hydrophila* cultured from medicinal leeches, Br J Plast Surg 1988;41(6):649-50.
6. Lineaweaver WC: *Aeromonas hydrophila* infections following clinical use of medicinal leeches: A review of published cases, Blood Coagul Fibrinolysis 1991;2(1):201-3.
7. Lineaweaver WC, Hill MK, Buncke GM et al: *Aeromonas hydrophila* infections following use of medicinal leeches in replantation and flap surgery, Ann Plast Surg 1992; 29(3):238-44.
8. Mercer NS, Beere DM, Bornemisza AJ, Thomas P: Medicinal leeches as sources of wound infection, Br Med J (Clin Res Ed) 1987;294(6577): 937.
9. Richerson JT, Davis JA, Meystrik R: *Aeromonas*, acclimation, and penicillin as complication when leeches are applied to flaps in rabbits, Laboratory Animals 1990;24(2):147-50.
10. Rutala WA, Weber DJ: Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities, Clin Microbiol Rev 1997;10(4):597-610.
11. Smolle J, Cerroni L, Kerl H: Multiple pseudolymphomas caused by *Hirudo medicinalis* therapy, J Am Acad Dermatol 2000;43(5):867-9.
12. Snower DP, Ruef C, Kuritza AP, Edberg SC: *Aeromonas hydrophila* infection associated with the use of medicinal leeches, J Clin Microbiol 1989;27(6):1421-2.
13. Utley DS, Koch RJ, Goode RL: The failing flap in facial plastic and reconstructive surgery: Role of the medicinal leech, Laryngoscope 1998; 108(8):1129-35.