

Effetti dell'ossigenoterapia iperbarica nelle infezioni sperimentali cutanee e polmonari da *Pseudomonas aeruginosa*

M. MARMO*, G. CONTALDI, C. LUONGO*, F. IMPERATORE, M. A. TUFANO**, P. CATALANOTTI**, A. BARONI**, G. MANGONI, S. STEFANO e F. ROSSI

Effects of hyperbaric oxygen therapy in cutaneous and pulmonary infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*.

About 80% of nosocomial infections are caused by aerobic bacteria. The *Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative bacterium pertaining to the *Pseudomonadaceae* family. *P. aeruginosa* is responsible for 6-22% of all hospital infections. The aim of this paper is to evaluate the efficacy of both hyperbaric oxygen-therapy (HBO 2 Atm×35 min/day) alone for 8 days and when associated to the chemoantibiotic therapy (amikacine 15 mg/kg/day for 8 days intraperitoneal), in rats infected through pulmonary and subcutaneous intake. In rats affected by *P. aeruginosa*, HBO induces a significant reduction in mortality and morbidity with bacteria eradication in blood culture findings, bronchial aspirate and skin biopsies. These effects were increased by the use of amikacine which is an antibiotic used for the treatment of Gram-negative bacteria.

Key words: **Hyperbaric oxygen therapy - *Pseudomonas aeruginosa*.**

L'80 % circa delle infezioni nosocomiali sono sostenute da batteri aerobi. *Pseudomonas aeruginosa* è un batterio gram

Premio «Nicola Cocchia» per la Terapia Iperbarica al 49° Congresso Nazionale SIAARTI, Sorrento, 11-14 ottobre 1995.

Pervenuto l'11 aprile 1996.
Accettato il 19 luglio 1996.

Indirizzo per la richiesta di estratti: M. Marmo - Via Luca Giordano, 69 - 80129 Napoli.

II Università degli Studi - Napoli
Istituto di Farmacologia e Tossicologia
*Istituto di Anestesia, Analgesia, Rianimazione
e Terapia Intensiva
Servizio di Terapia Iperbarica
**Istituto di Virologia e Microbiologia

negativo, opportunisto, mobile, ba-stoncellare, aerobio obbligato, appartenente alla famiglia delle *Pseudomonadaceae*. Questo microrganismo ha acquistato un peso di rilievo nella patologia umana principalmente in epoca relativamente recente, e soprattutto in alcuni ambienti come reparti di terapia intensiva e/o di rianimazione.

P. aeruginosa da sola è responsabile del 6-22% di tutte le infezioni ospedaliere; in particolare delle infezioni delle basse vie respiratorie, ma è presente anche nelle infezioni urinarie, in quelle delle ferite chirurgiche, nelle batteriemie e nelle infezioni cutanee. Una volta contratta l'infezione, la mortalità risulta elevata: 70% nelle sepsi generalizzate, 80% nelle forme polmonari.

È stato documentato un aumento dell'incidenza delle infezioni da *P. aeruginosa* in rapporto anche alle nuove procedure invasive diagnostiche o terapeutiche e all'aumento della presenza e persistenza di pazienti immunodepressi nei reparti di Rianimazione e/o Terapia Intensiva.

Anche se pochi sono i dati in letteratura, da tempo è stato documentato che l'ossi-

genoterapia iperbarica (HBO) possiede attività battericida e/o batteriostatica. Infatti l'HBO è indicata in molte patologie ad etiologia infettiva, come la gangrena gassosa, sostenuta da anaerobi del genere *Clostridium*, osteomieliti da *Staphylococcus aureus*, infezioni miste dei tessuti molli, ecc.

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare sperimentalmente l'efficacia della HBO da sola e/o in associazione alla terapia chemioantibiotica, in gruppi di ratti infettati con *P. aeruginosa* per via sottocutanea e per via polmonare.

La terapia antibiotica è stata attuata con un antibiotico semisintetico appartenente al gruppo degli aminoglicosidi, l'amikacina che, non essendo degradato dalla maggior parte degli enzimi che inattivano gli altri aminoglicosidi, risulta essere uno degli antibiotici di prima scelta in tali infezioni.

Materiali e metodi

Animali

Sono stati utilizzati ratti albini (Sprague-Dawley) del peso di 250-300 g, maschi; le condizioni di stabulazione, conformi alle vigenti norme per la protezione degli animali usati a scopi sperimentali (D.M. 116/92) così come da regolamenti C.E.E. (O.J. del E.C.L 358/1, 18/12/1986), sono state: temperatura costante (21 ± 1 °C); umidità relativa 60%; regolare alternanza luce-buio (luce: 7,00-19,00); acqua e cibo ad libitum. Gli animali, infettati con *P. aeruginosa* 5×10^6 Unità Formanti Colonie (UFC)/100 μ l, sono stati suddivisi in otto gruppi di sei ratti ciascuno: 1° gruppo, ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via sottocutanea; 2° gruppo, infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via polmonare, instillando per via endotracheale 0,14 ml di soluzione infettante; 3° gruppo, infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via sottocutanea e trattati con amikacina (15 mg/kg/die per 8 giorni per via endoperitoneale); il trattamento

antibiotico è iniziato dalla 24^a ora dall'induzione dell'infezione; 4° gruppo, infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via polmonare e trattati con amikacina come prima descritto; 5° gruppo, ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via sottocutanea e trattati con amikacina come prima descritto in associazione ad H.B.O. (2 Atm. per 35 min/die \times 8 giorni); 6° gruppo, infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via polmonare e trattati con amikacina in associazione a HBO (2 Atm. per 35 min/die \times 8 giorni); 7° gruppo, infettati per via sottocutanea con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) e trattati con H.B.O. come prima descritto; 8° gruppo, infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via polmonare e trattati con HBO, come prima descritto.

Ceppo batterico utilizzato

È stato utilizzato un ceppo batterico di *P. aeruginosa* isolato dall'espettorato di un paziente affetto da fibrosi cistica. Il ceppo è stato isolato con le tecniche tradizionali e confermato biochimicamente con sistema miniaturizzato APE 20 E (Biomerieux, Italia).

Per l'infezione i ceppi venivano coltivati in terreno liquido per non oltre cinque generazioni; la brodocoltura veniva lavata in soluzione fisiologica sterile per tre volte e risospesa in modo da dare una densità ottica a 400 μ m di circa 0,400 nm corrispondente a 5×10^6 UFC/100 μ l (fig. 1, 2).

Procedure tecniche per indurre l'infezione per via sottocutanea

Previa tricotomia e disinfezione con ammonio quaternario della zona dorso-laterale della zampa venivano inoculati, sottocute, 100 μ l di una brodocoltura di *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l).

A distanza di 30 ore si sviluppava nella zona di inoculazione una forma di ectima gangrenoso, con ecchimosi, vescicole opalescenti e siero-emorragiche con bordi sottominati e fuoriuscita di materiale sanioso, estendentesi in profondità fino ai piani aponeurotici e muscolari (fig. 3, 4).

