

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 microorganismo 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).

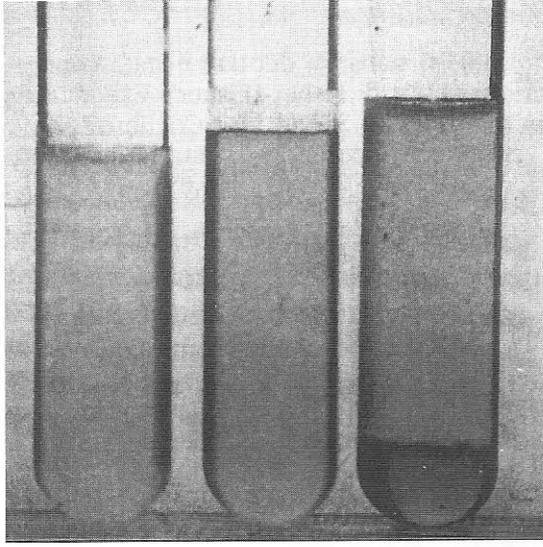


Fig. 1. — *P. aeruginosa*. Brodocolture di 24 h a 37 °C. A sinistra: leggera colorazione verdastra, dovuta a ossidazione della piocianina, alla superficie. Al centro: dopo agitazione della provetta, la diffusione nel terreno della piocianina ossidata impartisce colorazione verdastra a tutta la coltura. A destra: dopo aggiunta di 1 ml di cloroformio e agitazione della provetta, il pigmento blu viene estratto nel cloroformio.

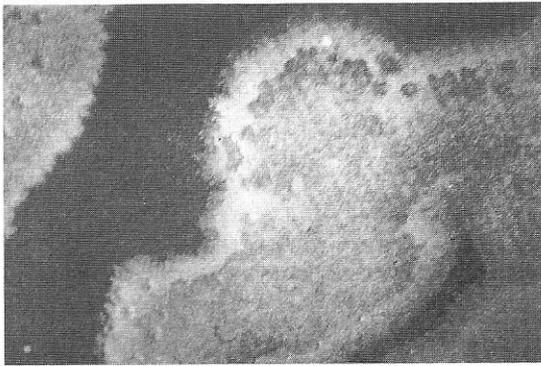


Fig. 2. — *P. aeruginosa*. Area di crescita confluenta su piastra di agar-brodo incubata per 24 h a 37 °C.

Preliminarmente si confermava l'avvenuta infezione sottocutanea prelevando con punzoni da biopsia (Stiefel Laboratories, Wycombe Brucks, UK) di 4 mm di diametro, zolle di cute interessata dal fenomeno infettivo. Soltanto gli animali per i quali si confermava l'avvenuta induzione dell'infezione, venivano arruolati per lo studio sperimentale.



Fig. 3. — Ratto infettato con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via sottocutanea. Dopo 30 h dall'inoculazione, presenza di ectima gangrenoso estendentesi in profondità fino ai piani aponeurotici e muscolari.

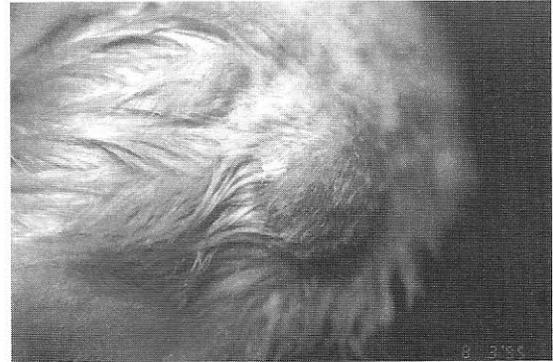


Fig. 4. — Particolare della figura 3.

Procedure tecniche per indurre l'infezione per via polmonare

I ratti sono stati anestetizzati, previa premedicazione con atropina solfato (0,01 mg/kg sottocute), con 30 mg/kg di pentobarbital sodico per via intraperitoneale. Visualizzata la trachea con un otoscopio si è proceduto all'instillazione endotracheale di 100 μ l di brodocoltura di *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) tramite tubo di polietilene (P.E. 50; Clay Adams USA) superando i muscoli laringei¹.

La cannula tracheale veniva rimossa velocemente e gli animali venivano posti in gabbie individuali ed assistiti nel loro risveglio. Preliminarmente si confermava l'avvenuta infezione polmonare da *P. aeruginosa* attuando un lavaggio endobronchiale

e successivo broncoaspirato di 0,5 ml ottenuto 24 h dopo l'induzione dell'infezione.

Soltanto gli animali per i quali si confermava l'avvenuta induzione dell'infezione, venivano arruolati per lo studio sperimentale.

Procedure tecniche per l'analisi dei campioni prelevati dal sangue e dai tessuti infetti

Subito dopo l'induzione dell'infezione e dopo 8 giorni di trattamento, con antibiotici e/o HBO, in tutti i gruppi sperimentali è stato eseguito esame emoculturale su un campione di 0,5 ml di sangue arterioso prelevato dall'arteria femorale. Inoltre veniva eseguito sempre all'inizio dell'infezione e dopo 8 giorni di trattamento, l'esame culturale del broncoaspirato per i ratti infettati per via polmonare e di un frammento biptico sottocutaneo per i ratti infettati per via sottocutanea.

Trattamenti

Trattamento con HBO — I ratti sono stati trattati a 2 Atm (202,6 kPa) per 35 min e per 8 giorni a partire dalla 24^a ora dopo l'induzione dell'infezione. La pressione dell'ossigeno raggiungeva le 2 Atm in 3 min mentre la decompressione, a fine trattamento, avveniva in 4 min. Nelle nostre ricerche l'esposizione all'ossigeno iperbarico avveniva in una camera cilindrica di acciaio 40 cm di diametro e 65 cm di lunghezza chiusa ai lati da vetri spessi che consentono l'osservazione degli animali durante l'esperimento (modello Galeazzi, La Spezia). La camera iperbarica, durante gli esperimenti è stata costantemente ventilata in misura di 6 litri/min per evitare l'accumulo di biossido di carbonio durante la pressurizzazione. Le concentrazioni di ossigeno, mantenute sempre > del 99% così come quelle di biossido di carbonio stabili al di sotto dello 0,2% sono state analizzate durante tutti gli esperimenti (Taylor Servomex OA272; Medical gas analyzer, LB-2-240M-Beckman).

Trattamento antibiotico. — È stata utilizzata amikacina solfato alle dosi di 15 mg/kg/die x 8 giorni per via intraperitoneale (i.p.) a partire dalla 24^a ora dall'induzione dell'infezione.

Analisi statistica

L'analisi statistica dei dati è stata condotta con il test di Fisher (Fisher's Exact Test), in accordo con Snedecor e Cochran 2.

Sono stati considerati statisticamente significativi i valori con $p < 0,05$.

Risultati

I nostri risultati hanno documentato:

a) nel I gruppo di ratti (controllo) infettati per via sottocutanea (*P. aeruginosa*, 5×10^6 UFC/100 μ l) si è verificata in 8 giorni una mortalità del 10% con una persistenza della lesione cutanea nell'80% dei casi (fig. 5, tab. D). L'emocoltura e l'esame biptico del sottocutaneo, negli animali sopravvissuti, risultavano positivi per la *P. aeruginosa* nel 100% dei casi, così come subito dopo l'induzione dell'infezione (tab. II);

b) nel II gruppo di ratti (controllo) infettati per via polmonare (*P. aeruginosa*, 5×10^6 UFC/100 μ l) si è verificata in 8 giorni una mortalità pari all'80% (fig. 6, tab. II). L'emocoltura e il broncoaspirato nei sopravvissuti risultavano positivi per *P. aeruginosa* nel 100% dei casi così come subito dopo l'induzione dell'infezione (tab. III);

c) nel III gruppo di ratti infettati per via sottocutanea e trattati con amikacina alla dose di 15 mg/kg/die per 8 giorni, somministrata per via intraperitoneale (i.p.), si constatava una mortalità del 10% con regressione degli ascessi cutanei nel 90% dei casi (fig. 5, tab. I). L'emocoltura e l'esame biptico del sottocutaneo eseguiti alla fine del trattamento nei sopravvissuti risultavano positivi per la *P. aeruginosa* nel 20% dei casi, mentre subito dopo l'infezione erano positivi per il 100% (tab. II);

d) nel IV gruppo di ratti infettati per via polmonare e trattati con amikacina (15 mg/kg/die per 8 giorni i.p.), abbiamo osservato che vi era una mortalità del 20% degli animali (fig. 6, tab. IV). L'emocoltura e il broncoaspirato risultavano positivi per *P. aeruginosa* nel 100% dei casi dopo l'induzione dell'infezione; dopo il trattamento l'emocoltura risultava positiva per la presenza di *P. aeruginosa* nel 50% dei casi,

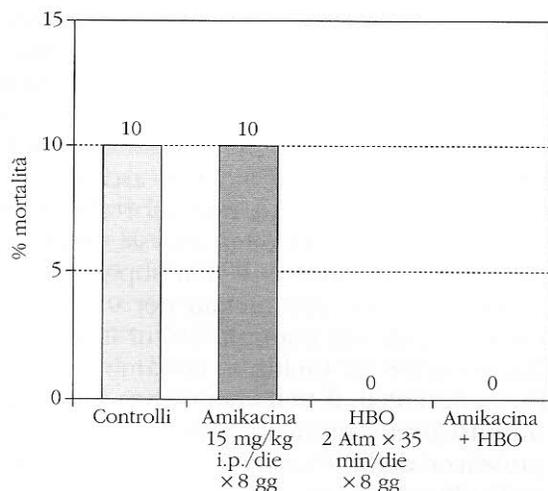


Fig. 5. — Valutazione percentuale della mortalità in ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via sottocutanea e trattati con amikacina, HBO e amikacina+HBO. Sono stati utilizzati 6 animali per ogni gruppo sperimentale.

TABELLA I. — Valutazione percentuale della sopravvivenza e della regressione degli ascessi sottocutanei in ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via sottocutanea e trattati con amikacina (15 mg/kg/i.p./die per 8 giorni), HBO (2 Atm x 35 min/die per 8 giorni) e amikacina+HBO. Sono stati utilizzati 6 animali per ogni gruppo sperimentale.

Trattamento	% della sopravvivenza	% della regressione degli ascessi dopo 8 giorni
Controlli	90	20
Amikacina	90	90*
HBO	100	80
Amikacina+HBO	100	100*

*) $p < 0,05$ rispetto ai controlli.

mentre il broncoaspirato era positivo nel 25% dei casi (tab. II);

e) nel V gruppo di ratti infettati per via sottocutanea e trattati con amikacina+HBO (2 Atm x 35 min/die per 8 giorni) la sopravvivenza era del 100% degli animali trattati. Tale percentuale di sopravvivenza si accompagnava alla completa regressione degli ascessi cutanei (fig. 5, tab. I). Non vi era presenza di *P. aeruginosa* nell'emocoltura e nell'esame biotico eseguiti alla fine del trattamento nei sopravvissuti (tab. II).

TABELLA II. — Valutazione percentuale della presenza di *P. aeruginosa* nell'emocoltura e nel prelievo biotico sottocutaneo in ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via sottocutanea e trattati con amikacina (15 mg/kg/i.p./die per 8 giorni), HBO (2 Atm x 35 min/die per 8 giorni) e amikacina+HBO. Sono stati utilizzati 6 animali per ogni gruppo sperimentale.

Trattamento	Emocoltura (% di presenza di <i>P. aeruginosa</i>)	Esame biotico (% di presenza di <i>P. aeruginosa</i>)
Controlli	100	100
Amikacina	20*	90*
HBO 100	10**	0**
Amikacina+HBO	0**	0**

*) $p < 0,05$ rispetto ai controlli. **) $p < 0,01$ rispetto ai controlli.

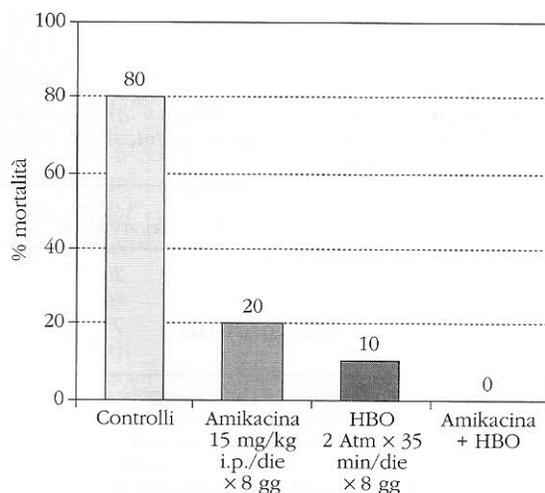


Fig. 6. — Valutazione percentuale della mortalità in ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via polmonare e trattati con amikacina, HBO e amikacina+HBO. Sono stati utilizzati 6 animali per ogni gruppo sperimentale.

f) nel VI gruppo di ratti infettati per via polmonare e trattati con amikacina+HBO, la percentuale dei sopravvissuti era del 100% (fig. 6, tab. IV). La ricerca della *P. aeruginosa* nell'emocoltura e nel broncoaspirato, eseguita alla fine dei trattamenti, non denunciava la presenza del microorganismo (tab. III);

g) nel VII gruppo di ratti infettati per via sottocutanea e trattati con HBO, la sopravvivenza degli animali risultava essere del 100% con regressione degli ascessi

TABELLA III. — Valutazione percentuale della presenza di *P. aeruginosa* nell'emocultura e nel broncoaspirato in ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via polmonare e trattati con amikacina (15 mg/kg/i.p./die per 8 giorni), HBO (2 Atm \times 35 min/die per 8 giorni) e amikacina+HBO. Sono stati utilizzati 6 animali per ogni gruppo sperimentale.

Trattamento	Emocultura (% di presenza di <i>P. aeruginosa</i>)	Broncoaspirato (% di presenza di <i>P. aeruginosa</i>)
Controlli	100	100
Amikacina	50	25*
HBO 100	20*	20**
Amikacina+HBO	0**	0**

*) $p < 0,05$ rispetto ai controlli. **) $p < 0,01$ rispetto ai controlli.

TABELLA IV. — Valutazione percentuale della presenza in ratti infettati con *P. aeruginosa* (5×10^6 UFC/100 μ l) per via polmonare e trattati con amikacina (15 mg/kg/i.p./die per 8 giorni), HBO (2 Atm \times 35 min/die per 8 giorni) e amikacina+HBO. Sono stati utilizzati 6 animali per ogni gruppo sperimentale.

Trattamento	% della sopravvivenza
Controlli	20
Amikacina	80
HBO	90*
Amikacina+HBO	100**

*) $p < 0,05$ rispetto ai controlli. **) $p < 0,01$ rispetto ai controlli.

nell'80% dei casi (fig. 5, tab. D). L'emocoltura risultava positiva alla *P. aeruginosa* soltanto nel 10% degli animali sopravvissuti; vi era assenza del microrganismo all'esame biotico del sottocutaneo eseguito alla fine del trattamento (tab. II).

h) nell'VIII gruppo di ratti infettati per via polmonare e trattati con HBO, la sopravvivenza degli animali era del 90% (fig. 6, tab. II) con emocoltura e broncoaspirato, eseguiti alla fine del trattamento, positivi per *P. aeruginosa* nel 20% degli animali sopravvissuti (tab. III).

Discussione

I nostri risultati hanno documentato che l'ossigenoterapia iperbarica presenta atti-

vità battericida e/o batteriostatica nell'infezione sperimentale sottocutanea e respiratoria indotta da *P. aeruginosa*. Infatti l'HBO ha indotto una sopravvivenza del 100% negli animali infettati per via sottocutanea con regressione dell'80% degli ascessi sottocutanei (rispetto ad una mortalità del 10% con persistenza degli ascessi dell'80% nel gruppo controllo), e una sopravvivenza dell'80% nei ratti infettati per via respiratoria rispetto ai controlli in cui la mortalità era dell'80%. Inoltre in entrambi i gruppi sperimentali, il trattamento con HBO ha indotto una significativa riduzione della presenza della *P. aeruginosa* nei reperti emocolturali, broncoaspirati e biotici sottocutanei.

I nostri risultati, inoltre, hanno documentato che l'HBO ha potenziato gli effetti terapeutici dell'amikacina, farmaco selettivo nelle infezioni da *P. aeruginosa*. Infatti in ratti trattati con HBO+amikacina si è riscontrato una sopravvivenza del 100% degli animali infettati sia per via sottocutanea che respiratoria con regressione completa degli ascessi e scomparsa assoluta della *Pseudomonas* dagli esami colturali eseguiti alla fine dei trattamenti sul sangue, broncoaspirato e prelievo biotico del sottocutaneo.

Tali dati sono anche in accordo con un recente lavoro di Izawa *et al.*³ i quali hanno documentato che l'HBO determina un significativo successo terapeutico in pazienti con ascessi peripancreatici in cui era stato isolato la *P. aeruginosa* associati a pancreatite acuta, rispetto a pazienti non trattati con HBO. Pertanto, in maniera chiara ed inconfutabile, i nostri dati hanno mostrato che l'ossigenoterapia iperbarica da sola, ed ancor di più in associazione a terapia antibiotica specifica, può favorire la risoluzione di processi infettivi determinati da germi aerobi come la *P. aeruginosa*.

Più difficile è trovare una spiegazione al meccanismo attraverso il quale l'HBO determina attività battericida e/o batteriostatica.

È stato ampiamente documentato che, in seguito ad una infezione, si verifica il processo della chemiotassi, cioè della migra-

zione, dai vasi al locus interessato, di neutrofilii e monociti⁴. Tale fenomeno è seguito da quello dell'opsonizzazione, grazie al quale il microorganismo, rivestito di proteine dette opsonine, si lega ai recettori superficiali del leucocita polimorfonucleato, avviando la fagocitosi. Contestualmente alla fagocitosi si verifica un processo che riflette l'aumento del metabolismo ossidativo, il cosiddetto «scoppio ossidativo», che porta ad aumento della formazione di perossido d'idrogeno (H_2O_2) e di anione superossido (O_2^-), che possiedono attività battericida⁵⁻⁷.

L'HBO può agire verso i microorganismi sia anaerobi che aerobi in maniera diretta e/o indiretta^{6,7}. Si può supporre che l' O_2 ad alta pressione induca un aumento dei livelli di anioni superossidi con funzioni di radicali tossici ai quali i microorganismi anaerobi, sprovvisti di enzimi (per esempio SOD) capaci di inattivare tali radicali, sono particolarmente sensibili per cui vanno incontro a morte⁸. Nel caso dell'infezione da aerobi (come da *P. aeruginosa*), l'HBO agirebbe in maniera indiretta favorendo, con l'aumento della tensione di O_2 a livello dei tessuti infetti, l'azione fagocitaria dei polimorfonucleati^{8,9} che è ridotta in ipossia e verrebbe ripristinata in condizioni di iperbarismo.

In conclusione questo lavoro rappresenta un importante contributo sperimentale, *in vivo*, atto a confermare l'attività antibatterica dell'HBO e a dimostrare che l'HBO ed antibiotici aminoglicosidi, come l'amikacina, presentano attività sinergica nei confronti delle infezioni sia dei tessuti molli che respiratorie sostenute da *P. aeruginosa*, batterio responsabile di importanti infezioni nosocomiali nei reparti di terapia intensiva e/o di rianimazione.

Resta da definire ulteriormente il meccanismo dell'azione battericida/batteriostatica dell'HBO; il prosieguo di tale lavoro si prefigge infatti, di identificare tale o tali meccanismi con prove sperimentali *in vitro* e *in vivo* atte a studiare il ruolo dell'HBO sulla migrazione ed attività dei polimorfonucleati, sulla produzione dei radicali tossici dell' O_2^- , di citochine.

Riassunto

L'80% circa delle infezioni nosocomiali sono sostenute da batteri aerobi.

La *Pseudomonas aeruginosa* è un batterio Gram-negativo, opportunistico, mobile, bastoncellare, aerobio obbligato, appartenente alla famiglia delle Pseudomonadaceae. *P. aeruginosa* da sola è responsabile del 6-22% di tutte le infezioni ospedaliere.

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare l'efficacia della ossigenoterapia iperbarica (H.B.O. 2 Atm \times 35 min/die per 8 giorni) da sola e in associazione alla terapia chemioantibiotica (amikacina 15 mg/kg/die \times 8 giorni per via intratecale), in gruppi di ratti (Sprague-Dawley) infettati con *P. aeruginosa* 5 \times 10⁶ Unità Formanti Colonie (UFC)/100 μ l, sia per via sottocutanea che per via polmonare. I nostri risultati hanno documentato che l'HBO induce, in ratti infettati con *P. aeruginosa* per via sottocutanea e polmonare, riduzione significativa della mortalità e della morbidità con contemporanea eradicazione del batterio a livello dei reperti emoculturali, broncoaspirati e bioptici cutanei. Questi effetti erano sinergizzati dal contemporaneo uso di amikacina, antibiotico mirato per il trattamento delle infezioni sostenute da batteri gram negativi.

Parole chiave: Ossigenoterapia iperbarica - *Pseudomonas aeruginosa*.

Bibliografia

- Landesberger WJ, Kelly-Wintenberg KD, Montie TC, Knight LS, Hansen MB, Huntenburg CC *et al.* Inhibition of bacterial motility with human anti-flagellar monoclonal antibodies attenuates pseudomonas aeruginosa-induced pneumonia in the immunocompetent rat. *Infect Immun* 1994;62:4825-30.
- Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods*. VI Edition. Ames: The Iowa State University Press, Iowa, USA 1976:549-61.
- Izawa K, Tsunoda T, Ura K, Yamaguchi T, Ito T, Kanematsu T *et al.* Hyperbaric Oxygen therapy in the treatment of refractory peripancreatic abscess associated with severe acute pancreatitis. *Gastroenterol Jpn* 1993; 28: 284-91.
- Babior BM. Oxygen-dependent microbicidal killing of phagocytes. *N Engl J Med* 1988;298:659-721.
- Hohn DC, Mac Kay RD, Hunt TK. The effect of oxygen tension on the microbicidal function of leukocytes in wounds and *in vitro*. *Surg Forum* 1986;27:18.
- Muhvich KH, Anderson LH, Mehm WJ. Evaluation of antimicrobials combined with hyperbaric oxygen in a mouse model of clostridial myonecrosis. *J Trauma* 1994;36:7-10.
- Mc Cord JM, Keele BB jr, Fridovich I. An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis; the physiological function of superoxide-dismutase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;68:1024.
- Stossel TP, Phagocytosis. *N Engl J Med* 1994;290: 717-74.
- Yijiang L, Jamison D. Are Leukotrienes or PAF involved in Hyperbaric Oxygen Toxicity? *Agents Actions* 1993;38:65-75.