

**EXPERIMENTAL STUDIES ON THE TREATMENT OF STREPTOCOCCAL INFECTIONS WITH
HYPERBARIC OXYGENATION**

**BADANIA DOŚWIADCZALNE NAD LECZENIEM ZAKAŻEŃ PACIORKOWCOWYCH HIPERBARIĄ
TLENOWĄ**

ОПЫТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ЛЕЧЕНИЮ СТРЕПТОКОККОВ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ

**EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG ZUR BEHANDLUNG VON STREPTOKOKKEN-INFEKTIONEN
MIT HYPERBAREM SAUERSTOFF**

**ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES ESTREPTOCÓCICAS
CON OXÍGENO HIPERBÁRICO**

Władysław Wolański¹, Kazimierz Ulewicz², Brunon Kierznikowicz²

¹ Diver Training Centre of the Polish Army, Poland

¹ Ośrodek Szkolenia Nurków i Płetwonurków WP

² Institute of Maritime Medicine of the Military Medical Academy, Poland

² Instytut Medycyny Morskiej Wojskowej Akademii Medycznej

STRESZCZENIA / ABSTRACTS

The article presents the results of research into the therapeutic effect of hyperbaric oxygenation on bacterial infections performed on an animal model. The studies were performed on Porton mice infected intraperitoneally with haemolysing streptococci and later subjected, over a 3-day period, to 5 exposures of hyperbaric oxygenation at a pressure of 2.8 ata. Depending on the research group, the treatment was commenced after 24, 48, 72 and 96 hours from the moment of infection. Some of the animals died during the experiment. 8 and 12 days from the date of infection, selected animals of each group were put to death and subjected to post mortem examination. A statistically significant positive effect of hyperbaric treatment on the survival rate, as well as on the development of complications (liver abscesses), was observed in those animals where the hyperbaric oxygenation was applied at an early stage. In groups where the therapy was initiated later, no positive effect was noted, and the complications tended to develop more rapidly.
Key words: oxybarotherapy, animal model, streptococci.

Artykuł przedstawia wyniki badań działania leczniczego tlenu hiperbarycznego w przypadku zakażeń bakteryjnych na modelu zwierzęcym. Badania przeprowadzono na myszach rasy Porton, które zakażano dootrzewnowo paciorkowcami hemolizującymi a następnie leczono tlenem hiperbarycznym w sekwencji 5-u ekspozycji do ciśnienia 2,8 ata w przeciągu 3 dni. Leczenie rozpoczynano w zależności od grupy badawczej po upływie 24, 48, 72 i 96 godzin od chwili zakażenia. Część zwierząt padła podczas doświadczenia. Po 8 i 12 dniach od momentu zakażenia część zwierząt każdej grupy uśmiercano i poddawano badaniu pośmiertnemu. Stwierdzono statystycznie znamienne pozytywne wpływy leczenia hiperbarycznego na przeżywalność zwierząt i rozwój powikłań (ropnie wątroby) u zwierząt u których podjęto wczesną terapię hiperbaryczną. W grupach gdzie terapia podjęta została później nie obserwowano pozytywnego efektu leczniczego, a nawet przyspieszenie rozwoju powikłań.
Słowa kluczowe: oksybaroterapia, model zwierzęcy, paciorkowce.

Статья представляет результаты лечебного воздействия гипербарической оксигенацией в случае бактериальных заражений на примере животной модели. Исследования проводились на мышах породы Портон, которые были интраперитонеально заражены гемолизирующими стрептококками, а затем получали лечение методом гипербарической оксигенации в последовательности 5 экспозиций под давлением 2,8 ата в течение 3 дней. Лечение начиналось в зависимости от исследуемой группы через 24, 48, 72 и 96 часов с момента заражения. Часть животных погибла во время опыта. Через 8 и 12 дней с момента заражения часть животных из каждой группы умерщвлялись и передавались для исследования. Было обнаружено статистически значимое положительное влияние гипербарической оксигенации на выживаемость животных и развитие осложнений (кисты печени) у животных, к которым была начата ранняя терапия методом гипербарической оксигенации. В группах, где терапия была начата позже, не был отмечен положительный лечебный эффект, а даже ускорение развития осложнений.
Ключевые слова: оксигенацией, терапия гипербарической оксигенацией, животная модель, стрептококки.

ARTICLE INFO

PolHypRes 2016 Vol. 56 Issue 3 pp. 37 - 42

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.1515/phr-2016-0018

Pages: 6, figures: 0, tables: 2

page **www** of the periodical: www.phr.net.pl

Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

**Typ artykułu: oryginalny
Original article**

**Publikowano w Roczniku Służby Zdrowia Marynarki Wojennej
1977**

Przyjęto do druku w PHR 06-09-2016



Der Artikel stellt Ergebnisse der therapeutischen Wirkungen von hyperbarem Sauerstoff im Fall von bakteriellen Infektionen in einem Tiermodell. Durchgeführt wurde die Untersuchung an Mäusen der Rasse Porton, die mit hämolytischen Streptokokken intraperitoneal infiziert worden waren und danach mit hyperbarem Sauerstoff in einer Sequenz von 5 Expositionen mit einem Druck von 2,8 Atmosphären drei Tage lang behandelt wurden. Die Behandlung wurde je nach der Forschungsgruppe nach Ablauf von 24, 48, 72 und 96 Stunden ab der Infizierung begonnen. Ein Teil der Mäuse kam bei dem Experiment ums Leben. Nach 8 und 12 Tagen ab dem Tag der Infizierung wurde ein Teil der Tiere jeder Gruppe eingeschläfert und einer posthumer Untersuchung unterzogen. Es wurde eine statistisch signifikante positive Wirkung der hyperbaren Therapie auf das Überleben der Tiere und die Entwicklung von Komplikationen (Leber, Abszesse) bei Tieren festgestellt, die früh einer hyperbaren Behandlung unterzogen wurden. In den Gruppen, bei denen die Therapie später angewendet wurde, wurde kein positiver Behandlungseffekt festgestellt, eher im Gegenteil, die Komplikationen beschleunigten sich.

Key words: hyperbare sauerstofftherapie, tiermodell, streptokokken.

El artículo presenta los resultados del tratamiento terapéutico con oxígeno hiperbárico en infecciones bacterianas sobre la base de un modelo animal. El estudio ha sido realizado en ratones de la raza Porton, que fueron infectados con estreptococo hemolítico por vía intraperitoneal y posteriormente tratados con oxígeno hiperbárico en una secuencia de 5 exposiciones con una presión de 2,8 atmósferas durante 3 días. El tratamiento se inició, dependiendo del grupo de estudio, transcurridas unas 24, 48, 72 y 96 horas desde el momento de la infección. Una parte de los animales fallecieron durante el experimento. Transcurridos 8 y 12 días tras la infección, una parte de los animales de cada grupo fueron sacrificados y sometidos a un examen post mortem. Se ha comprobado un efecto positivo, estadísticamente significativo, de la terapia hiperbárica en la supervivencia de los animales y en el desarrollo de complicaciones (abscesos hepáticos) en aquellos animales que fueron sometidos al tratamiento hiperbárico de forma temprana. En los grupos que fueron sometidos a terapia de forma más tardía no se han observado los efectos positivos del tratamiento, e incluso se han acelerado las complicaciones.

Palabras clave: oxigenobaroterapia, modelo animal, estreptococos.

WSTĘP

W ostatnich latach w wielu ośrodkach badawczych z jednej strony rozwijano stosowanie oksybaroterapii, a z drugiej prowadzono badania doświadczalne nad wpływem tejże drobnoustroje i ich metabolizm [1]. Podobnie przedmiotem badań wielu autorów było zagadnienie wpływu hiperbarii tlenowej na przebieg zakażenia oraz reakcje immunologiczne człowieka i zwierząt doświadczalnych [2, 3, 5, 8, 9].

Po okresie entuzjazmu kiedy uważano, iż zastosowanie hiperbarii tlenowej dla celów leczniczych jest wielkim osiągnięciem w leczeniu bardzo licznych schorzeń; czy to z dziedziny chorób wewnętrznych czy też zakaźnych, nastąpiło sprecyzowanie wskazań i przeciwwskazań do stosowania tej metody leczniczej. Ustalono, że najlepsze wyniki uzyskuje się w leczeniu zgorzeli gazowej szczególnie wywołanej zakażeniem laseczkami *Clodtridium perfringens*, nieco słabsze przy zgorzeli wywołanej innymi beztlenowcami.

Oksybaroterapia umożliwia uzyskiwanie korzystniejszych efektów leczniczych w zabiegach chirurgicznych, oraz przy leczeniu powierzchownych zakażeń powłok w następstwie urazów [5, 7, 9].

W przeglądzie piśmiennictwa opracowanym przez GOTTLIEBA w 1971 roku [3] a dotyczącym badań nad wpływem hiperbarii tlenowej na drobnoustroje wykazano w większości wypadków hamujący wpływ tlenu na wzrost drobnoustrojów *in vitro* – szczególnie *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dla nadciśnień powyżej 1,3 ata O₂. Jednocześnie stwierdzono różną wrażliwość bakterii na hiperbarie tlenową w zakresie zahamowania wzrostu w zależności od gatunku, jak i rodzaju bakterii.

Dane z piśmiennictwa wskazują, że można by uzyskać korzystne efekty leczenia przy zastosowaniu oksybaroterapii również w zakażeniach paciorkowcowych [1], jednak dane z tego zakresu wymagają jeszcze szczegółowych badań.

Celem pracy było wstępne zbadanie tego zagadnienia.

MATERIAŁ I METODA

Badania prowadzono na myszach białych Porton (samce i samice wagi 25-30 gramów), które celem wywołania zakażenia ogólnego zakażono dootrzewnowo ogólnego 18 godz. hodowlą na bulionie Todd-Hevitta paciorkowców hemolizujących grupy A typu serologicznego T-3 w ściśle określonej dawce po 0,5 ml, zawierającej 11x10⁷ drobnoustrojów obliczanej na podaną ilość hodowli paciorkowców [6]. Dawkę zakażającą oraz sposób podania określono uprzednio w osobnej grupie zwierząt.

Zakażone myszy podzielono na 3 grupy po 30 zwierząt, które i leczono oksybaroterapią w nadciśnieniu 2,8 ata O₂, stosowaną w 5 seansach hiperbarycznych, w trzech kolejnych dniach, z czego w pierwszym dniu stosowano dwa seanse po 90 min. w odstępach czterogodzinnych, w drugim dniu podobnie, zaś w 3 dniu 1 seans.

Zwierzęta leczono w skonstruowanej specjalnie dla małych zwierząt komorze hiperbarycznej. Komora została zaprojektowana w postaci zbiornika ciśnieniowego, hermetycznie zamykanego, o pojemności

INTRODUCTION

In recent years, numerous research centres have been concentrating on the development of hyperbaric oxygen therapy and, at the same time, on conducting experimental research on the effects thereof on micro-organisms and their metabolism [1]. Similarly, the subject of research carried out by many authors, consisted in the investigation of the effect of hyperbaric oxygenation on the course of infections and immunological reactions in both humans and laboratory animals [2, 3, 5, 8, 9].

After an initial period of enthusiasm, when the application of hyperbaric oxygenation for medicinal purposes was seen as a great achievement, allowing treatment of a wide number of conditions, internal and infectious diseases, the indications and contraindications for its use were specified in more detail. It was subsequently determined that the best results are obtained in treating gas gangrene, particularly that induced by *Clodtridium perfringens* bacilli, whereas slightly poorer outcomes were achieved in treating gangrene induced by other anaerobes.

Hyperbaric oxygenation enables the obtainment of more favourable medicinal effects in surgeries and in treating superficial infections to integuments occurring as a result of injuries [5, 7, 9].

In the literature review prepared by GOTTLIEB in 1971 [3] with regard to the effect of hyperbaric oxygenation on micro-organisms, we observe that in a majority of cases oxygen had an inhibitory effect on *in vitro* growth of micro-organisms – in particular *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* with overpressures above 1.3 ata O₂. At the same time a diversified bacterial sensitivity to hyperbaric oxygenation was noted with regard to growth inhibition depending on species and genus.

Literature data indicate that it is also possible to obtain favourable treatment results with hyperbaric oxygenation in streptococcal infections [1], however they still require more detailed studies.

The objective of the work was to conduct preliminary analysis of this topic.

MATERIAL AND METHOD

The research was carried out on white Porton mice (males and females of body weight between 25-30 grams) with the aim to inducing a general intraperitoneal infection with an 18-hour culture of hemolytic streptococci of group A in the Todd-Hevitt broth, serological type T-3, in strictly defined doses of 0.5 ml containing 11x10⁷ micro-organisms calculated per specified quantity in the streptococcus culture [6]. The infectious dose and the manner of administration was previously determined for a separate group of animals.

Infected mice were divided into 3 groups of 30 animals each and treated with hyperbaric oxygenation at an overpressure of 2.8 ata O₂ applied during 5 hyperbaric sessions over three consecutive days, with two sessions of 90 minutes conducted at four hour intervals on the first and second day, and 1 session on the third day.

The research was conducted in a hyperbaric chamber equipped with side and upper portholes that has been constructed specifically for small animals. The chamber was designed as a hermetically closed pressure

30 litrów, umożliwiającego stosowanie nadciśnień do 10 ata.

Umożliwia ona uzyskiwanie kontrolowanych nadciśnień, a zatem sprężanie zwierząt doświadczalnych, przetrzymanie ich przez dowolny czas w hiperbarii i powolne lub szybkie rozprężenie. Zawór upustowy został wyposażony w przepływomierz, umożliwiający dokładną kontrolę wentylacji komory. Komora wyposażona jest w iluminator boczny i górny. Manometr zapewnia możliwość stałej kontroli wartości nadciśnienia panującego wewnątrz komory.

Komora zasilana jest z zewnątrz, dowolnym gazem, bądź mieszanina gazową sprężoną w butlach wysokiego ciśnienia. Każda z butli podłączona jest do układu komory poprzez reduktor ciśnienia zawór i główny zawór odcinający.

Grupy kontrolne stanowiły zwierzęta nie zakażone, ale poddawane hiperbarii tlenowej i zwierzęta zakażone, lecz nie leczone hiperbarycznie. W poszczególnych grupach zwierząt leczenie rozpoczynano po 24, 48, 72 i 96 godz. od momentu zakażenia.

W przebiegu kontroli zakażenia i leczenia zwierzęta uśmiercano i wykonywano sekcje zwłok, a także posiewy bakteriologiczne wysięku otrzewnowego na podłoża do izolacji paciorkowców. Wykonywano także badania histopatologiczne preparatów barwionych standartowo hematoxyliną – eozyną oraz metoda Grama wykonanych z wycinków pobranych z płuc, serca, wątroby i nerek.

Po 8 i 12 dniach od zakażenia w każdej z badanych grup część myszy (leczonych i nie leczonych) uśmiercono i poddano badaniu pośmiertnemu. Wyizolowane paciorkowce badano pod względem właściwości fizjologicznych.

Celem określenia wpływu hiperbarii tlenowej na badany szczep paciorkowca *In vitro*, poddano jednorazowej ekspozycji 90 minutowej do ciśnienia analogicznego jak badane zwierzęta, płytki agarowe z dodatkiem 5% krwi konserwowanej, zasiane 18-godzinną hodowlą paciorkowca hemolizującego grupy A typu serologicznego T-3 (ten sam szczep co u zwierząt) w dawce 0,05 ml na płytkę w rozcieńczeniu 1/100.000, po 24-o godzinnej hodowli w cieplarni w temp. 37°C.

Na płytkach poddanych działaniu hiperbarii tlenowej, jak i kontrolnych, określono ilość wyrosłych kolonii bakteryjnych oraz ich wygląd.

WYNIKI

W poszczególnych grupach badanych część zwierząt padła podczas trwania doświadczenia. Odsetek w stosunku do liczebności grup przedstawia tab. 1.

container with a capacity of 30 litres, enabling the application of an overpressures of up to 10 ata.

The chamber enables the obtainment of selected controlled pressures, and thus the compression of experimental animals, maintaining them in hyperbaric conditions for various time spans, as well as slow or fast decompression. The breae valve is equipped with a flowmeter, enabling accurate control of chamber ventilation. The provided pressure gauge ensures constant control of overpressure values inside the chamber.

The chamber is supplied with the gas of choice from the outside or with a compressed breathing mix from high pressure cylinders. Each of the cylinders is connected to the chamber system through the pressure regulator and the main break valve.

Control groups consisted of non-infected animals that were subjected to hyperbaric oxygenation and infected animals that were not treated hyperbarically. The treatment of particular groups was commenced after 24, 48, 72 and 96 hours from the moment of infection.

In the course of infection control and treatment the animals were put to death and an autopsy was performed, along with bacteriological cultures of the peritoneal exudation on bases used for streptococci isolation. Moreover, histopathological tests were performed on standard heamatoxylin-eosin stained and Gram-method stained preparations from segments of lungs, heart, liver and kidneys.

Following 8 and 12 days after the infection, in each of the tested groups (treated and non-treated) some specimens were put to death and subjected to post mortem examination. Isolated streptococci were tested with regard to their physiological properties.

For the purpose of determining the effect of hyperbaric oxygenation on the *in vitro* tested streptococci strain, a single 90-minute exposure was performed on agar plates with an addition of 5% conserved blood, incubated with an 18-hour culture of haemolytic group A streptococcus of serological type T-3 (the same strain as in the animals), at a dose of 0.05 ml per plate in the dilution of 1/100,000, following a 24-hour cultivation in an incubator at 37°C.

The number of cultivated bacterial colonies and their appearance were defined for the plates subjected to hyperbaric oxygenation and the control plates.

RESULTS

In particular groups a number of animals died in the course of the experiment's duration. Their percentage in relation to group sizes is presented in tab. 1.

Tab. 1

Odsetek zwierząt w stosunku do liczebności grup.

Percentage animals in relation to group sizes.

	Group treated after 24 hours		Group treated after 48 hours		Group treated after 72 hours		Group treated after 96 hours	
	Hbt	Control	Hbt	Not treated	Hbt	Not treated	Hbt	Not treated
Number of dead animals in %	30	50	26.6	26.6	46.6	40	46.6	26.6

Tab. 2

Szczegółowe wyniki leczenia hiperbarią tlenową zakażonych myszy, w zależności od czasu rozpoczęcia leczenia po zakażeniu.

Detailed results of hyperbaric oxygenation treatment applied to infected mice depending on the time of treatment commencement following the infection.

	Hbo treatment after 24 hours		Hbo treatment after 48 hours		Hbo treatment after 96 hours	
	Hbo	control	Hbo	control	Hbo	control
Total number of infected mice	15	15	15	15	15	15
Died after 24 hours	1	1	1	1	-	-
Died up to 48 hours	<u>HBO exposure – 2x</u>		<u>HBO exposure – 2x</u>		<u>HBO exposure – 2x</u>	
	1	2	1	1	1	2
Died up to 72 hours	<u>HBO exposure – 2x</u>		<u>HBO exposure – 2x</u>		<u>HBO exposure – 2x</u>	
	2	2	1	-	1	1
Died after up to 96 hours	<u>HBO exposure – 1x</u>		<u>HBO exposure – 2x</u>		<u>HBO exposure – 2x</u>	
	-	2	-	-	2	-
Put to death after 8 days	<u>Total number of dead animals</u>		<u>HBO exposure – 1x</u>		<u>HBO exposure – 2x</u>	
	4	7	3	2	3	1
Put to death after 12 days	<u>Total number of fallen animals</u>					
					7	4
	6	3	7	8	3	6

W trakcie badań pośmiertnych obserwowano częstotliwość występowania ropni wątroby u zwierząt leczonych i nie leczonych hiperbarią tlenową – zaobserwowano obecność ropni wątroby w większej ilości u zwierząt nie leczonych hiperbarią tlenową. W hodowli paciorkowców hemolizujących grupy A typu serologicznego T-3 na płytce krwawej kontrolnej stwierdzono średnią ilość 78 kolonii bakteryjnych, podczas gdy w hodowli na płytce krwawej, poddanej działaniu hiperbarii tlenowej stwierdzono tylko 2 kolonie. Ponadto kolonie te wykazywały ledwie zaznaczoną strefę hemolizy beta (mniejszą niż w kontroli) przy braku zmian w teście Griffitha (aglutynacji ze swoistymi surowicami) oraz w testach biochemicznych.

Analiza statystyczna [4] podanych wyników w tabeli, przeprowadzona testem Studenta wykazała znamienność statystyczną w przedziale ufności 98% (alfa = 0,02) w zakresie różnic pomiędzy podgrupami zakażonych zwierząt a leczonych hiperbarią tlenową oraz nie leczonych po 24 i 96 godzinach (T obliczone w grupie leczonych po 24 godzinach – 2,7, w grupie leczonych po 96 godzinach 2,7, natomiast T odczytane z tabeli rozkładu Studenta wynosi 2,6).

Post mortem examinations allowed to observe a high rate of occurrence of liver abscess both in animals treated and those not treated with hyperbaric oxygenation – a more frequent occurrence of liver abscesses was noted in animals not treated with hyperbaric oxygenation. On a blood control plate housing a culture of group A hemolytic streptococci of serological type T-3, an average of 78 bacterial colonies were noted, whereas in the culture on a blood plate exposed to hyperbaric oxygenation only 2 such colonies were confirmed. Moreover, the said colonies indicated a barely demarcated zone of beta haemolysis (smaller as compared to the control group) with no changes in the Griffith test (agglutination with own sera) and biochemical tests.

Statistical analysis [4] of the results presented in the table (obtained with the use of the Student t-test), revealed a statistical significance in the confidence interval of 98% (alpha = 0.02) within the scope of differences between the subgroups of infected animals and those treated with hyperbaric oxygenation and not subjected to treatment after 24 and 96 hours (T calculated in the group of animals treated after 24 hours – 2.7, in the group treated after 96 hours 2.7, whereas T read from the Student distribution table was

DYSKUSJA

Na podstawie przeprowadzonych badań obserwuje się korzystniejszy efekt leczniczy w przypadkach, w których leczenie hiperbaryczne rozpoczęto w okresie wczesnym tj. do 24 godzin. W okresie późniejszym stwierdzono nawet szybszy rozwój zakażenia pomimo stosowania leczenia hiperbarią tlenową, a niekiedy i odwrotny efekt działania polegający na szybszym padaniu zwierząt leczonych.

Z powyższych wyników można wysnuć twierdzenie, że wczesny efekt leczniczy hiperbarii tlenowej u zwierząt, u których w przebiegu zakażenia ogólnego drobnoustroje krążą we krwi, może być spowodowany działaniem w pierwszym rzędzie na paciorkowce znajdujące się i namnażające we krwi czy płynach ustrojowych.

Za ta interpretacją wyników przemawiałyby efekt działania hiperbarii tlenowej *In vitro*, bezpośrednio na drobnoustroje rozwijające się w hodowli. Z chwilą, gdy zakażenie postąpiło znacznie dalej a drobnoustroje zlokalizowały się w tkankach, co potwierdzono badaniem histopatologicznym [10], korzystnego efektu leczenia nie stwierdza się a nawet ekspozycja hiperbaryczna jako dodatkowy bodziec może wywierać działanie negatywne, przyspieszające zgon. Efekt ogólnoustrojowy hiperbarii tlenowej, wywierającej wpływ na ustrój poprzez pobudzenie układu nerwowego wegetatywnego adrenergicznego i co za tym idzie wywierający wpływ na podwyższenie mian dopełniacza, opsonin itp. [9], nie jest w tych warunkach czynnikiem ułatwiającym walkę ustroju z zakażeniem.

Wyniki badań histopatologicznych materiału uzyskanego w tym doświadczeniu będą przedmiotem osobnego doniesienia.

equal to 2.6).

DISCUSSION

On the basis of the conducted studies it is possible to observe a more favourable treatment effect in the cases where the hyperbaric oxygenation was commenced in an early period, i.e. up to 24 hours. When treatment was commenced in a later period, a more rapid infection development was observed despite the application of hyperbaric oxygenation, and at times a reversed effect consisting in quicker death of the animals subjected to treatment.

The above results allow the putting forward of a thesis that an early medicinal outcome of applying hyperbaric oxygenation, to animals with micro-organisms circulating in the blood in the course of infection, may result from its effect first on the streptococci proliferating in the blood or body fluids.

This interpretation of the results is supported by the direct effect of *In vitro* hyperbaric oxygenation on the micro-organisms growing in the culture. The moment the infection was more advanced and the micro-organisms were found in tissues, which was confirmed with a histopathological examination [10], a favourable treatment result was not noted and the hyperbaric exposure as an additional stimulus can have a negative effect that accelerates the death of the animals. The systemic effect of hyperbaric oxygenation that stimulates the vegetative adrenergic nervous system and, what follows, has an effect on an increase of complement, opsonin level, etc. [9], which in such conditions is not a factor facilitating the organism's fight with the infection.

The results of histopathological examinations on the material obtained in this experiment will be a subject of a separate work.

BIBLIOGRAPHY

1. McAllister T., Stark J., Norman J., Ross R.: Hyperbaric oxygen and aerobic microorganisms. In: Hyperbaric Oxygenation. Prec. of the Second Int. Congr. ed. by J. Mc A. Ledingham. 1965. Edinburgh and London;
2. Boerema J., Brummelkamp W., Meijne N. (ed.) – Clinical Application of Hyperbaric Oxygen. Prec. of the First Int. Congr. September 1963. Amsterdam, London, New York;
3. Gottleb S.: Effect of hyperbaria oxygen on microorganisms. *Ann. Rev. Microb.* 1971. 25:111-152;
4. Krupczyński J., Grzelak E.: Health care statistics. PZWL Warsaw 1957;
5. Moretti G., Fontanesi S., Ghittoni L. – Prospettive attuali di impiego della ossigenoterapia iperbarica. *Ann. di Med. Nav. e Trop.* 1973. LXXVIII. 1:11-32;
6. Rotta J.- *Streptococcus pyogenes*. Scientific Information. 5/74. Prague 1974;
7. Schreiner H. – Quantitative evaluation of effects of hyperbaric oxygen and antibiotic drugs on *Staphylococcus*. w *Hyperbaric Oxygenation*. Prec. of the Second Int. Congr. ed. by J. Mc A., Ledingham, 1965. Edinburgh and London;
8. Tooley A., Watt J. – Hyperbaric oxygen therapy: Review of the present position and experience in the management of Naval patients, *J. Rey. Nav. Med. Serv.* 1968. Vol. 54:101-130;
9. Ulewicz K. – The application of hyperbaric oxygenation in infection treatment. In: *The basics of hyperbaric oxygenation*, ed. T. Doboszyński i T. Orłowski, Gdynia 1977;
10. Worms R., Reujeau J., Du Buit H. – The effect of a foreign body on the histological response to staphylococcal infection. In: *Staphylococci and Staphylococcal Infections*. Recent Progress by J. Jeljaszewicz., W. Hryniewicz. Warsaw 1973.

Władysław Wolański

Ośrodek Szkolenia Nurków i Płetwonurków Wojska Polskiego
Rondo Bitwy Pod Oliwą 1
81-103 Gdynia-Oksywie