



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN THE AMERICAN BRITISH COWDRAY MEDICAL CENTER I.A.P.

Comparación entre Solución Salina Superoxidada de pH Neutro vs. Solución Isotónica para el Lavado Quirúrgico en Casos de Peritonitis Generalizada en Modelos Experimentales

TESIS DE POSGRADO QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN CIRUGÍA GENERAL

PRESENTA:

DR. CARLOS GUILLERMO MONDRAGON SALGADO
RESIDENTE 4TO AÑO CIRUGIA GENERAL

TUTOR

DR. ANGEL MARTINEZ MUNIVE

PROFESOR TITULAR

DR. CÉSAR DECANINI TERAN

PROFESORES ADJUNTOS

DR. MARTÍN VEGA DE JESUS
DR. RAUL ALVARADO BACHMANN
DR. FERNANDO QUIJANO ORVAÑANOS



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

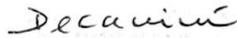
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**DR. JUAN OSVALDO TALAVERA
PIÑA**

**JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN CENTRO MÉDICO ABC DIVISIÓN DE
ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE MEDICINA, U.N.A.M.**



DR. CÉSAR ÓSCAR DECANINI TERÁN

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGIA GENERAL DIRECTOR MÉDICO DE LA LÍNEA DE
SERVICIO DE CIRUGÍA GENERAL CENTRO MÉDICO ABC**



**DR. ANGEL MARTINEZ MUNIVE
TUTOR DE TESIS**



Ciudad de México a 7 junio 2022

Dr. Carlos Guillermo Mondragón Salgado
Investigador Principal

Le informo que en la reunión del pasado 6 de junio del presente año, el Comité de Investigación, y el Comité de Ética en Investigación del Centro Médico ABC, han **EVALUADO Y APROBADO** el Protocolo:

“Comparación entre Solución Salina Superoxidada de pH Neutro vs. Solución Isotónica para el Lavado Quirúrgico en Casos de Peritonitis Generalizada en Modelos Experimentales”

Con número ABC-22-16

Se le solicita un informe semestral de avances, siendo su primer informe para **diciembre 2022**.

De ser terminado, suspendido o cancelado dicho protocolo deberá de emitir un informe de resultados y conclusiones de forma inmediata a los Comités de Investigación y Ética en Investigación con la finalidad de dar cierre al protocolo.

Atentamente,



Dr. Juan Osvaldo Talavera Piña
Presidente del Comité
de Investigación
Centro Médico ABC



Dr. José Eduardo San Esteban Sosa
Presidente del Comité de Ética
en Investigación
Centro Médico ABC

CENTRO MÉDICO ABC

Campus Observatorio

Sur 136 No. 116
Col. Las Américas
01120, Álvaro Obregón, Cd. de México.
5230-8000
Licencia Sanitaria 2001003633

www.centromedicoabc.com

Campus Santa Fe

Av. Carlos Graef Fernández 154
Col. Santa Fe
05300, Cuajimalpa, Cd. de México.
1103-1600
Licencia Sanitaria 1005001030

ABCare

Clinica de Primer Contacto
En Zona Esmeralda
C.C. Espacio Esmeralda. L-70
Av. Jorge Jiménez Cantú M.1. L.1 Fracc. Bosque Esmeralda
52930, Atizapán, Estado de México.
5230-3831



Investigadores participantes:

Dr. Carlos Guillermo Mondragón Salgado.

Residente 4to año, Cirugía General, CM ABC

Dr. Ángel Martínez Munive.

Adscrito Cuerpo Médico Cirugía General, CM ABC

Dr. Andric C. Perez-Ortiz, MPH.

Residente 2ndo Año, Cirugía General, CM ABC

Dr. Alberto Chousleb Kalach.

Jefatura de Centro de Investigación y Cirugía Experimental BRIMEX, CM ABC

Adscrito Cuerpo Médico Cirugía General, CM ABC

Dr. Jesús Javier Baquera Heredia.

Jefatura de Laboratorio de Patología Quirúrgica, CM ABC

Dra. Denise Herrerías Ordoñez.

Médico Pasante Servicio Social, Universidad La Salle

Dra. Selene Martínez Cuevas.

Residente 1er año, Patología Quirúrgica, CM ABC

Dra. Laura Montserrat Bernal López

Adscrito Cuerpo Médico Patología Quirúrgica, CM ABC

Centros Participantes participantes:

Centro de Investigación y Microcirugía BRIMEX, CM ABC

Bioterio de la Facultad Mexicana de Medicina, La Salle

Agradecimientos.

A mis padres por el apoyo incondicional.

A mi hermana por los consejos tan necesarios.

A mis profesores por la confianza y la paciencia, por su interés y su conocimiento.

A mis compañeros, que hicieron que los momentos más duros no pesaran.

Al Dr. Ángel Martínez y al Dr. Alberto Chousleb, les agradezco por creer en el proyecto.

Al Centro de Investigación y Microcirugía BRIMEX y al Bioterio de la Facultad Mexicana de Medicina La Salle por su apoyo en el desarrollo y aplicación del experimento.

ÍNDICE

Marco teórico	9
Planteamiento del problema.	16
Justificación.	17
Factibilidad y sensatez del cuestionamiento generado a partir de una observación	17
Ausencia de una respuesta previa	17
Relevancia	17
Aplicabilidad	18
Pregunta de Investigación.	19
Pregunta investigación general	19
Preguntas de investigación específicas	19
Objetivos.	20
Objetivo General	20
Objetivos Específicos	20
Hipótesis	22
Hipótesis general	22
Hipótesis específicas	22
Metodología	23
Diseño del estudio	23
Figura 1. Esquema del diseño experimental realizado en 53 ratas Wistar.	24
Cálculo Tamaño de Muestra	25
Modelo de peritonitis fecal generalizada	25
Lavado quirúrgico	26
Figura 2. Flujograma de lavado quirúrgico, imágenes representativas de la técnica quirúrgica y colección de biopsias peritoneales.	27
Figura 3. Flujograma de la técnica quirúrgica y colección de biopsias peritoneales en el segundo tiempo quirúrgico.	28
Colección de biopsia de peritoneo parietal y caracterización histológica	28
Tabla 1. Caracterización de biopsia en reportes de histopatología.	29
Complicaciones postquirúrgicas	29
Operacionalización de variables	30
Tabla 2. Operacionalización de las variables.	30
Análisis Estadístico	31
Tabla 3. Pruebas estadísticas implementadas en el protocolo de estudio.	32
Aspectos éticos	33
Resultados	35
Análisis general de la población	35
Objetivo 1. Efecto del lavado con solución salina superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre el grado de inflamación	35
Figura 4. Peritoneo sano tratado con inyección intraperitoneal de 129 ml/kg/dosis de solución salina al 0.9% (Panel A) y solución salina superoxidada de pH neutro (Panel) por 24 horas y su descripción histológica.	36
Figura 5. Cortes representativos de biopsias pre- vs. post-lavado teñidas con hematoxilina y eosina (10x).	37
Figura 6. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre el grado de inflamación.	38
Objetivo 2. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre la sobrevida general a 5 días	40
Figura 7. Experiencia de sobrevida entre los grupos durante el seguimiento.	40

Objetivo 3. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina sobre las complicaciones postquirúrgicas	41
Figura 8. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre las complicaciones postquirúrgicas.	42
Figura 9. Comparación características macroscópicas, segundo procedimiento. El mismo inóculo fecal utilizado en este grupo de modelos experimentales murinos. (Sacrificio + Toma de Biopsias).	43
Discusión	44
Conclusiones	47
Bibliografía	48

Marco teórico

El lavado peritoneal con soluciones isotónicas ha marcado una pauta en el manejo de peritonitis generalizada de diversos orígenes. La irrigación y lavado de los tejidos en casos de contaminación de la cavidad peritoneal con peritonitis resultante se ha probado con distintos tipos de agentes para disminuir la contaminación, la tasa de complicaciones postquirúrgicas y la mortalidad. Históricamente se han utilizado desde soluciones yodadas, isotónicas y con diferentes agentes antibióticos como imipenem y tigeciclina. En los últimos 20 años las soluciones electrolizadas, o también conocidas como soluciones salinas superoxidadas, se han utilizado en algunos estudios para reducir la contaminación de la cavidad peritoneal en casos de peritonitis pero nunca lograron un auge comercial. Esto debido a que tienen un efecto bactericida importante in vitro pero son corrosivas para los tejidos in vivo, además de que poseen una vida media corta por ser soluciones inestables, lo cual disminuyó su utilización en el medio.[\(1\)](#)

El concepto de soluciones electrolizadas se refiere a un espectro de soluciones con un pH variable según el proceso de creación utilizado. De acuerdo a las condiciones de la electrólisis y el equipo empleado se pueden obtener soluciones superoxidadas de pH neutro, alcalino o básico.[\(2\)](#) Estas soluciones se crearon desde 1931 en Japón y se han estudiado desde entonces utilizando distintos procesos de electrólisis para manipular el pH del agua. Japón y otros países de Europa las han incorporado en varios procesos en la industria agropecuaria pero en los últimos años se ha buscado su aplicación clínica como microbicida.[\(2\)](#),[\(3\)](#)

Estas soluciones se producen por la electrólisis de sodio diluido el cual pasa a través de 3 celdas de electrólisis con un ánodo y un cátodo separados por un diafragma,

produciendo diferentes tipos de agua. Por una parte produce agua electrolizada ácida con un pH de 2-3, del lado del ánodo. Del lado del cátodo se produce agua básica electrolizada con un pH de 10-13. Cuando se quiere producir agua electrolizada de pH neutro (pH 7-8) se utiliza solo una celda de electrólisis en el proceso.(3)

Se ha utilizado el agua electrolizada con pH ácido (2.2-2.7) para distintas aplicaciones de esterilización debido a que su componente principal, el ácido hipocloroso, puede inactivar a la mayoría de los microorganismos patógenos por lo cual se utiliza proceso de esterilización de diversos equipos y materiales en varias industrias comerciales. El ácido hipocloroso, después de actuar sobre la pared celular de los microorganismos, se disocia en agua y sodio, lo cual inactiva su efecto. (2) Dentro del espectro del pH ácido se encuentran también las soluciones superoxidadas de pH ácido débil, las cuales cuentan con un pH (5.0-6.5), con un efecto bactericida menor que las soluciones de pH ácido (2.2-2.7). Esta última no tiene olor ni sabor, por lo que se utilizan como fungicidas en la industria alimentaria.(4) También se ha estudiado el impacto de las soluciones superoxidadas básicas sobre distintos procesos de esterilización. Estas poseen una menor actividad microbicida en comparación a las soluciones superoxidadas ácidas, lo cual ha limitado su uso en procesos en la industria alimentaria, pero aun poseen cierto efecto microbicida por lo que se han utilizado para la prevención de enfermedades. Ya que suprime el crecimiento de bacterias anaeróbicas en la cavidad oral. Estas también son efectivas aun en casos de bacterias productoras de biofilm. Recientemente se ha estudiado su aplicación en el campo de la odontología. (4)

El pH afecta la permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos al ácido hipocloroso (HClO). Este último aumenta su permeabilidad a medida que disminuye el pH. Su actividad sobre la pared celular y la membrana celular aumenta la permeabilidad y causa fuga de material intracelular como potasio, proteínas y DNA causando un cambio en la morfología celular. (4). Se sabe que este tipo de soluciones no presentan permeabilidad a células eucariotas y multicelulares, por lo cual se piensa que tiene un efecto dirigido contra las células procariotas.

Se cree que además del efecto microbicida derivado del ácido hipocloroso, los radicales libres que se forman durante el proceso destruyen la estructura celular de los microorganismos. El efecto desinfectante depende del efecto sinérgico del pH con el ácido hipocloroso y los radicales libres. (4)

Además de ácido hipocloroso (HClO), también se forman Cl_2 , H_2O_2 e Hidroxilo (OH^-). El H_2O_2 y el OH^- causan daño a las membranas celulares lipídicas, desnaturalizan proteínas e inhiben las propiedades enzimáticas de las bacterias. (4) Esto hace que las membranas de los microorganismos pierdan la capacidad protectora que les confiere la membrana celular.

Debido a esto, se ha estudiado su aplicación en el campo de la medicina como agente desinfectante. Diversos autores han administrado agua electrolizada por diferentes vías de absorción, en busca de un efecto benéfico para tratar diversos padecimientos infecciosos e inflamatorios.

Además de la aplicación del agua electrolizada en padecimientos infecciosos, se ha estudiado su efecto sobre la cicatrización. Se sabe que la tasa de cicatrización del agua electrolizada es significativamente más alta en comparación con la utilización de solución salina cuando se utiliza de manera tópica sobre heridas en la piel. (5)

Se ha demostrado que la reepitelización completa de la piel en quemaduras en modelos experimentales se puede ver desde los 46 días desde la aplicación de agua electrolizada, a los 48 días desde la aplicación de solución salina, y hasta los 70 días cuando no se aplica ninguna solución sobre la herida. [\(6\)](#)

Estos estudios se vieron limitados por la capacidad del agua electrolizada ácida y básica de causar daño a los tejidos in vivo, por lo cual se trató de buscar una solución que disminuyera el efecto corrosivo en los tejidos.

Posteriormente se centró la atención en las soluciones salinas superoxidadas de pH neutro las cuales poseen el beneficio teórico de no lesionar los tejidos in vivo. Estas se crean en una cámara de electrólisis que contienen cloruro de hidrógeno en solución o sodio diluido (NaCl). Su uso se encuentra avalado para la prevención de COVID-19 como desinfectante de superficies. [\(3\)](#)

En distintos estudios recientes se ha reportado que la irrigación con soluciones super oxidadas de pH neutro, en casos de peritonitis, disminuye la carga bacteriana, tasa de infecciones de sitio quirúrgico y dolor postquirúrgico. Singal y colaboradores en el 2016 realizaron un estudio controlado aleatorizado doble ciego donde incluyó a 240 pacientes con peritonitis, de los cuales 120 se lavaron con solución salina y 120 con soluciones superoxidadas de pH neutro. [\(7\)](#) Reportó que la incidencia de infección de sitio quirúrgico superficial era mayor en el grupo de solución salina vs el grupo de lavado con soluciones superoxidadas de pH neutro. También midió la carga bacteriana en ambos posterior al lavado con ambas soluciones y reportó una carga menor en el grupo de soluciones superoxidadas de pH neutro. Comenta que estas soluciones poseen un espectro microbicida amplio que tiene acción contra bacterias, virus, hongos y esporas

reportado en otros estudios. Además reporta menor dolor en el grupo del lavado con soluciones superoxidantes de pH neutro. Finalmente reporta una menor mortalidad en el grupo de soluciones superoxidadas comparado con el grupo de solución salina. En este caso no reporta estudios histopatológicos de ningún tipo. (7) Este estudio presenta algunas variables confusoras ya que se utilizaron antimicrobianos de amplio espectro postquirúrgicos y se lavó ambos grupos con una pequeña cantidad de solución salina previo al lavado de una hora con soluciones salinas superoxidadas de pH neutro. Comenta que existen estudios donde se ha visto que presenta un efecto sinérgico al combinar las soluciones para el lavado.

Garg et al. reportó una disminución en la tasa de infecciones de sitio quirúrgico en pacientes que fueron lavados con soluciones superoxidadas (incidencia 14%) vs. isotónicas (40%). (8) Distintos estudios prospectivos han utilizado la tasa de complicaciones, la mortalidad y la carga bacteriana como parámetros para determinar la eficacia de las soluciones super oxidadas de pH neutro (3).

Una área de estudio que ha tenido gran auge en los últimos años es el efecto de las soluciones superoxidadas de pH neutro en cavidades contaminadas. Pocas publicaciones han investigado el rol que tienen las soluciones superoxidadas de pH neutro sobre el tejido peritoneal inflamado desde un punto de vista histológico.

La diferencia entre las soluciones superoxidantes de pH neutro e isotónicas se ha mantenido en un terreno ambiguo ya que la mayoría de las publicaciones basadas en humanos presentan variables que impactan en los resultados finales, por ejemplo la utilización de antimicrobianos dirigidos en casos de peritonitis al

mismo tiempo que se realiza lavado con soluciones superoxidantes. Además, no todos los casos de peritonitis que reciben lavado quirúrgico con soluciones superoxidadas de pH neutro requieren de re-intervenciones donde se puedan evaluar los tejidos de manera macroscópica durante el evento quirúrgico y microscópicamente con cultivos y biopsias.

Una solución superoxidante de pH neutro que ha aumentado su uso intrahospitalario ha sido el Microdacyn® (Sanfer), solución superoxidada de pH neutro el cual se crea a partir de un proceso de electrólisis que disocia las moléculas de agua y cloruro de sodio y selecciona específicamente moléculas reactivas de estos compuestos que se encuentran activas con una solución superoxidante resultante. (9) La composición final incluye moléculas de sodio (55 ppm), cloro (80 ppm) y una combinación de moléculas de HClO (ácido hipocloroso), ClO (dióxido de cloro), H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) cuantificado en 55ppm. Se considera una solución hipotónica (osmolaridad 13 mOsm/kg) (Microdacyn®, Sanfer). Los fabricantes reportan su seguridad y eficacia cuando se utiliza en distintas superficies corporales sin causar efectos adversos.(9)

Históricamente, no hay estudios donde se haya reportado un aumento en la incidencia de efectos adversos cuando se utilizan soluciones superoxidadas de pH neutro comparado con la irrigación con solución salina al 0.9% para el lavado intraperitoneal en casos de peritonitis generalizada de diversa severidad. Aunque no se ha demostrado que cause daño directo a los tejidos en humanos y se ha utilizado en diferentes superficies corporales como piel, mucosa y peritoneo, aún se cuestiona su toxicidad, por lo que no se ha estandarizado su uso. En la literatura, no se han reportado casos de toxicidad secundario al lavado con

soluciones superoxidantes de pH neutro. Más bien existen casos anecdóticos sobre reacciones adversas con respuestas inflamatorias variables.

Para evaluar esto, Aras et al. en el 2017 estudió la toxicidad de las soluciones superoxidantes de pH neutro en modelos experimentales cuando se infunden de manera intraperitoneal en cavidades limpias. No reportó cambios macroscópicos y microscópicos patológicos. También reportó que no existe impacto bioquímico en los niveles de hemoglobina, hematocrito, plaquetas, AST, ALT, urea y creatinina. Únicamente reporta una disminución en cuenta leucocitaria en múltiples infusiones de soluciones superoxidantes de pH neutro.[\(10\)](#)

Históricamente, hemos intentado utilizar diversos agentes de manera intraperitoneal para disminuir la contaminación sin lograr hacer un cambio en el lavado quirúrgico tradicional con soluciones isotónicas.[\(11\)](#) Es importante dilucidar el efecto que tienen las soluciones salinas superoxidadas de pH neutro en el tejido peritoneal inflamado ya que existen pocos estudios que reporten sobre el tema. Se requieren de estudios prospectivos que busquen los efectos benéficos y detrimentales que pudieran existir con la aplicación de las soluciones salinas superoxidadas de pH neutro lo cual podría tener algún impacto en los estándares actuales para el lavado quirúrgico en casos de peritonitis generalizada.

Planteamiento del problema.

No se han realizado estudios experimentales que evalúen los efectos de las soluciones superoxidadas sobre el peritoneo a nivel histológico además de compararlas con el efecto de las soluciones isotónicas para el lavado quirúrgico en casos de peritonitis generalizada. Se requieren de estudios controlados que puedan evaluar las diferencias a nivel histológico sin que existan otras variables que afecten el desenlace como el uso concomitante de antimicrobianos. Aunque el lavado quirúrgico con soluciones isotónicas es eficaz en la mayoría de los casos de peritonitis generalizada, en ocasiones se requiere de agentes con acción microbicida que ayuden a disminuir la contaminación y la carga bacteriana para disminuir la morbimortalidad a corto plazo. De mayor importancia es que se necesitan agentes que sean inertes para los tejidos humanos y que no contribuyan a la respuesta inflamatoria sistémica y local. Por tanto este estudio trata de dilucidar si las soluciones salinas superoxidadas de pH neutro tienen un efecto benéfico o deletéreo en la respuesta inflamatoria sobre el peritoneo parietal en casos de peritonitis generalizada.

Justificación.

1) Factibilidad y sensatez del cuestionamiento generado a partir de una observación

La irrigación de los tejidos con solución isotónica no ha demostrado un aumento en la toxicidad en casos de lavado peritoneal en pacientes con diagnóstico de peritonitis generalizada. No existe evidencia significativa que demuestre que las soluciones superoxidantes aumentan la toxicidad cuando entran en contacto directo con las superficies corporales en pacientes con diagnóstico de peritonitis generalizada.

2) Ausencia de una respuesta previa

La utilización de soluciones superoxidantes de pH neutro en peritonitis generalizada para realizar lavado quirúrgico es controversial ya que no se conoce el grado de toxicidad y las resultantes complicaciones que se pueden presentar.

3) Relevancia

El lavado quirúrgico es una técnica ampliamente utilizada en todo el mundo en casos de peritonitis generalizada de diversas causas sin que exista un protocolo específico validado de manera global.

4) Aplicabilidad

Dado que no se cuenta con estudios concluyentes en cuanto a cuál es la mejor solución para realizar lavado quirúrgico en casos de peritonitis generalizada, se plantea un estudio prospectivo controlado que analice el impacto del lavado quirúrgico con soluciones superoxidantes de pH neutro en animales experimentales sobre el peritoneo a nivel histológico. Además se pretende conocer la mortalidad a corto plazo, y la relación entre las complicaciones y la solución utilizada para realizar el lavado intraabdominal.

Pregunta de Investigación.

Pregunta investigación general

En modelos experimentales murinos, ¿Las soluciones salinas superoxidadas de pH neutro para realizar lavado quirúrgico en casos de peritonitis generalizada tienen algún impacto sobre el grado de inflamación histopatológica, la incidencia de complicaciones post quirúrgicas y la mortalidad?

Preguntas de investigación específicas

1. En modelos experimentales murinos con peritonitis fecal generalizada, ¿Hay alguna diferencia significativa en grado de inflamación histopatológica entre el lavado quirúrgico con solución salina superoxidadas de pH neutro vs solución salina 0.9%?
2. En modelos experimentales murinos con peritonitis fecal generalizada, ¿Hay alguna diferencia significativa en complicaciones postquirúrgicas entre el lavado quirúrgico con solución salina superoxidadas de pH neutro vs solución salina 0.9%?
3. En modelos experimentales murinos con peritonitis fecal generalizada, ¿Hay alguna diferencia significativa en mortalidad entre el lavado quirúrgico con solución salina superoxidadas de pH neutro vs solución salina 0.9%

Objetivos.

Objetivo General

Evaluar algún cambio en el grado de proceso inflamatorio peritoneal, complicaciones postquirúrgicas y mortalidad posterior al lavado con solución salina superoxidada de pH neutro vs. solución isotónica a nivel histológico en modelos experimentales murinos con peritonitis fecal generalizada.

Objetivos Específicos

1. Medir el grado de inflamación histopatológica entre el grupo con lavado quirúrgico con solución salina superoxidada de pH neutro vs. solución isotónica en el modelo de peritonitis generalizada de origen fecal .
 - a. Esto se valorará por un patólogo experto el cual medirá el grado de infiltración celular a nivel histológico (cambio en el grado de proceso inflamatorio) en el tejido peritoneal obtenido al comparar las biopsias de peritoneo parietal previo al lavado y posterior al lavado quirúrgico.
2. Conocer la mortalidad a 5 días entre el grupo con lavado quirúrgico con solución isotónica vs salina superoxidada de pH neutro en el modelo de peritonitis fecal generalizada.
3. Evaluar las complicaciones postquirúrgicas entre el grupo con lavado quirúrgico con solución isotónica vs salina superoxidada de pH neutro en el modelo de peritonitis fecal generalizada.
 - Se evaluaron las siguientes complicaciones:

- Anorexia (registro de peso al diario hasta el final del estudio)
- Dehiscencia de herida
- Adherencias
- Infección de herida
- Datos de Dolor Postoperatorio
- Disminución en la actividad
 - Movimiento
 - Acicalamiento
 - Letargia
 - Disminución en el interés del entorno

Hipótesis

Hipótesis general

Hay algún cambio entre el lavado quirúrgico con soluciones salinas superoxidadas de pH neutro vs. solución salina 0.9% en grado de inflamación, mortalidad e incidencia de complicaciones en casos de peritonitis fecal generalizada en el modelo experimental murino.

Hipótesis específicas

1. Hay alguna diferencia en grado de inflamación histopatológica entre el lavado quirúrgico con soluciones salinas superoxidadas de pH neutro (Microdacyn®, Sanfer), vs. solución salina 0.9% en el modelo experimental murino de peritonitis fecal generalizada.
2. Hay alguna diferencia en mortalidad a 5 días entre el lavado quirúrgico con soluciones salinas superoxidadas de pH neutro vs. solución salina 0.9% en el modelo experimental murino de peritonitis fecal generalizada.
3. Hay alguna diferencia en complicaciones postquirúrgicas entre el lavado quirúrgico con soluciones salinas superoxidadas de pH neutro vs. solución salina 0.9% en el modelo experimental murino de peritonitis fecal generalizada.

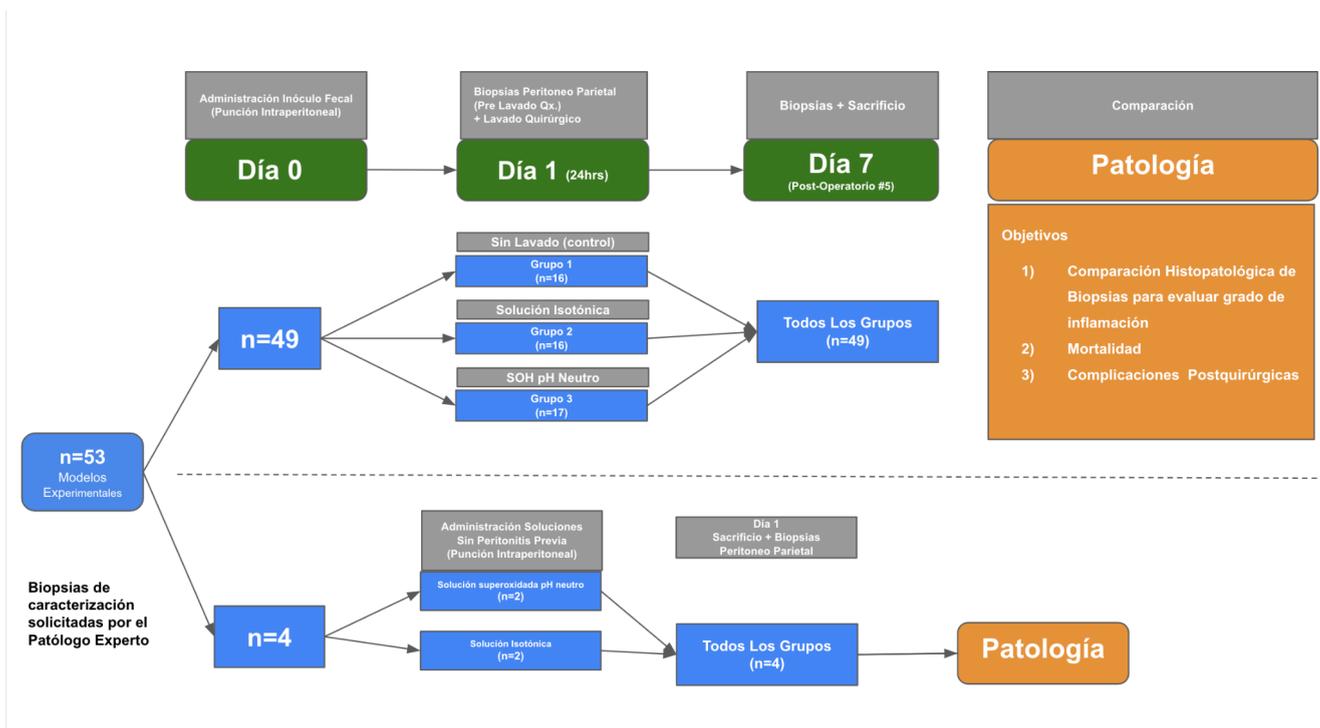
Metodología

Diseño del estudio

Se realizó un estudio experimental en el Centro de Investigación y Microcirugía BRIMEX del CM ABC y en el Bioterio de la Facultad Mexicana de Medicina de la Universidad La Salle con 53 ratas especie Wistar, 30 machos, 19 hembras, con peso entre 250 ± 60 gr. Los modelos experimentales se compraron en el bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) y en el Bioterio Certificado Bioinvert. Los modelos experimentales fueron sometidos a inyección intraperitoneal de 0.55 gr/kg de un inóculo fecal (preparado previamente en laboratorio clínico del CM ABC con 2 gr materia fecal diluido en 15 ml solución Hartmann, centrifugado y filtrado) para desarrollar peritonitis generalizada. A las 24 horas, se realizó en 17 ratas lavado intraperitoneal de solución salina superoxidada de pH neutro (Microdacyn®, Sanfer) calculado a 129 ml/Kg/dosis, en 16 ratas se realizó lavado peritoneal con solución salina al 0.9% a 129 ml/Kg/dosis. Se tomaron 16 ratas controles donde se realizó laparotomía sin lavado peritoneal. Se siguieron durante cinco días para medir los desenlaces o hasta su mortalidad. Los animales se mantuvieron en jaulas con alimentación a demanda y ciclos de 12 horas. Se sacrificaron todos los modelos experimentales a los 5 días desde la intervención (PO 5) por sobredosis de opiáceos. El estudio se llevó a cabo conforme las normas establecidas por el Centro de Investigación y Microcirugía BRIMEX y el Bioterio de la Facultad Mexicana de Medicina de la Universidad La Salle para su manejo y disposición y la NOM-062-ZOO-1999 para uso de animales. Además se manejó a los modelos experimentales de forma humanizada según lo estipulado en la Declaración de Helsinki. El desglose fue el siguiente:

- Criterios de inclusión: Ratas especie Wistar con peso promedio de 250 +/- 50 gr.
- Criterios de exclusión: No aplicables.
- Criterios de eliminación: Enfermedades preexistentes detectadas al realizar la primera intervención quirúrgica que presenten inflamación peritoneal por causas ajenas o causas no relacionadas con el inóculo utilizado.
- Estratificación pronóstica: Entre los factores relacionados a las características del modelo experimental que puedan afectar el desenlace se encuentran: sexo, la técnica quirúrgica utilizada, el tipo de abordaje quirúrgico realizado, el tiempo quirúrgico, enfermedades preexistentes.

Figura 1. Esquema del diseño experimental realizado en 53 ratas Wistar.



Flujograma del desarrollo experimental realizado.

Cálculo Tamaño de Muestra

Para el cálculo de muestra se tomó como referencia la diferencia promedio en concentración de proteínas en cavidad peritoneal (marcador de inflamación) entre solución D3.86 (control) vs. Solución de lavado peritoneal (D3.86+HA). Con base en lo anterior el cálculo de muestra considera un tamaño del efecto (Cohen 's D) de 1.03.

Nivel de significancia	Poder	Tamaño de muestra
0.05	0.8	16 por grupo
0.05	0.9	21 por grupo
0.01	0.8	24 por grupo
0.01	0.9	30 por grupo

Modelo de peritonitis fecal generalizada

Se preparó un inóculo fecal en el Laboratorio de Microbiología del Centro Médico ABC con 2 gramos de materia fecal fresca de un donador humano en quién se descartó alguna patología por PCR multiplex gastrointestinal. La muestra se homogeneizó en 15 ml de solución salina 0.9%. Posteriormente se centrifugó a 3,000 rpm para coleccionar el sobrenadante. Finalmente se filtró con papel filtro para remover partículas libres. Se utilizó una alícuota en todos los modelos experimentales siguiendo un modelo previamente descrito. ([5](#), [13](#),[14](#))

Se realizó punción intraperitoneal como previamente descrito con 0.55 gr/kg de peso de inóculo fecal en dosis única con jeringas 3 ml Aguja 22Fr. La inoculación se llevó a cabo por uno de los autores y corresponde al Día 1 de seguimiento. Todos los autores contaban con experiencia en el manejo de Modelos Experimentales en microcirugía.

Lavado quirúrgico

Se realizó lavado quirúrgico mecánico vía laparotomía (supraumbilical e infraumbilical) con incisión de 3 cm por corte frío con tijeras iris previo asepsia con solución de clorhexidina (CHLORAPREP ®) a las 24 hrs desde la punción intraperitoneal (Figura 2a). Se documentó la presencia de adherencias, colecciones purulentas o algún otra complicación (Figura 2b). Previo al lavado se tomó biopsia incisional de peritoneo con corte frío (Figura 2c). El lavado se realizó con base en los siguientes grupos (Figura 2d):

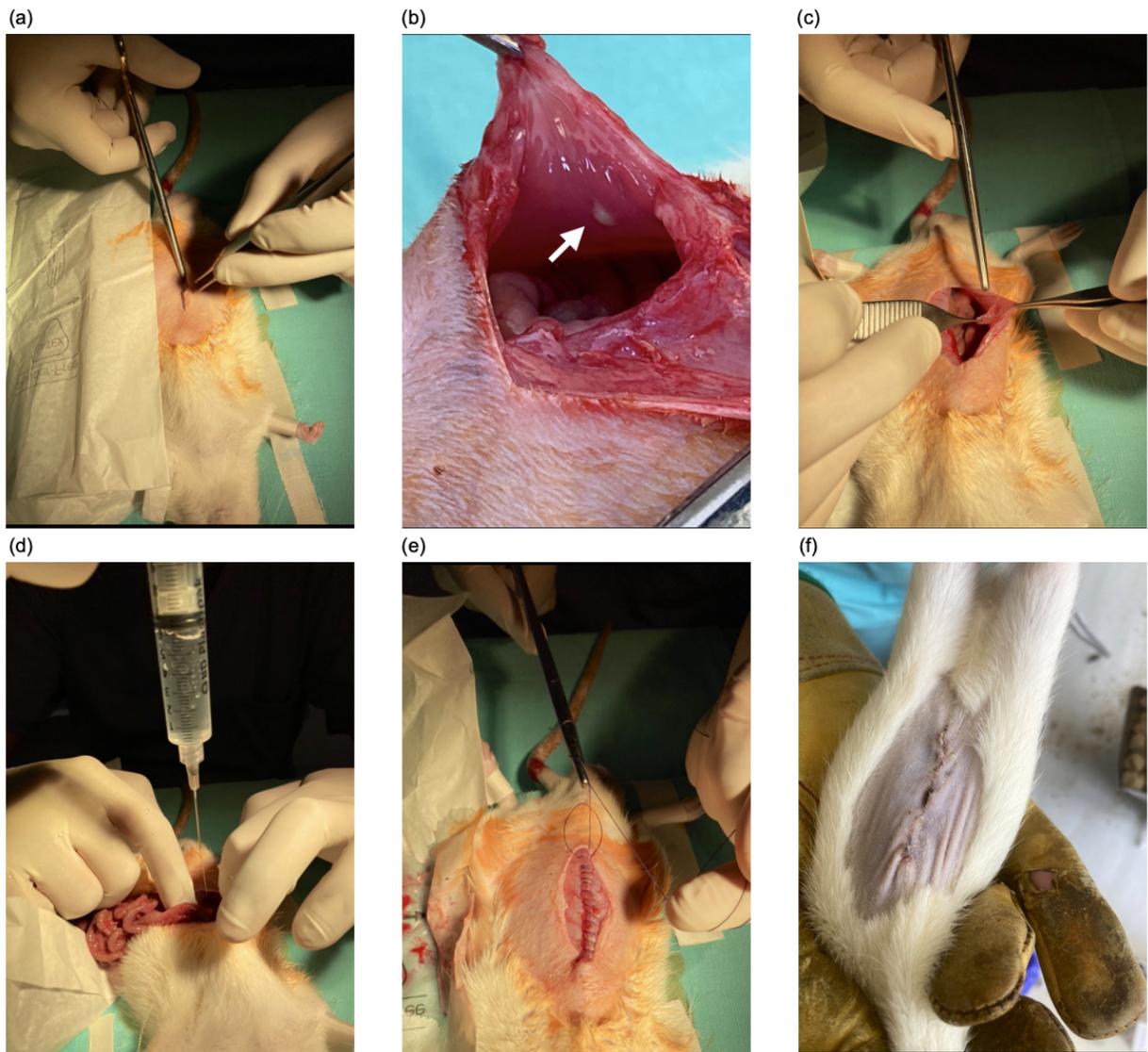
Grupo 1: Grupo Control, sin Lavado.

Grupo 2: Lavado mecánico intraperitoneal 20 ml Solución Isotónica (NaCl 0.9% Baxter, Pisa, Fresenius).

Grupo 3: Lavado mecánico intraperitoneal 20 ml Solución Salina Superoxidante de pH Neutro (Microdacyn ® , Sanfer).

Se realizó cierre de herida quirúrgica con surgete en musculatura abdominal y aponeurosis con Poliglactina 910 (VICRYL) 3-0 y puntos simples invertidos en piel con Poliglactina 910 (VICRYL) 3-0 (Figura 2e-f).

Figura 2. Flujograma de lavado quirúrgico, imágenes representativas de la técnica quirúrgica y colección de biopsias peritoneales.



Flujograma del primer tiempo de toma de biopsias y lavado quirúrgico en Modelo Experimental Murino lavado con Solución Salina Superoxidada de pH neutro: (a) Incisión en piel y disección por planos de manera cortante para acceder a cavidad. (b) Evidencia de peritonitis generalizada posterior a la aplicación del inoculo fecal. (c) Biopsia Incisional de Peritoneo Parietal (d) Lavado quirúrgico con solución superoxidada de pH neutro. (e) Cierre de Pared Abdominal con Vicryl 3-0 Surjete. (f) Cierre de piel con surjete subdérmico, características de herida día PostOperatorio 2.

Posterior al seguimiento, hasta por 6 días o su mortalidad, se realizó nuevamente laparotomía supra e infraumbilical, colección de muestras peritoneales y sacrificio por sobredosis de opiáceos, de acuerdo con estándares del cuidado de animales (Figura 3).

Figura 3. Flujograma de la técnica quirúrgica y colección de biopsias peritoneales en el segundo tiempo quirúrgico.



Flujograma del segundo tiempo de toma de biopsias y lavado quirúrgico en modelo experimental murino del Grupo 1: Control (a), Características Macroscópicas: Piel y Pared Abdominal (b), Revisión de Cavidad Abdominal (c), Adherencia Asa-Pared durante revisión macroscópica (d), Biopsia de Peritoneo Parietal (e), Cierre de pared abdominal (f)

Colección de biopsia de peritoneo parietal y caracterización histológica

Se realizaron biopsias incisionales de peritoneo parietal previo al lavado (Figura 2c) y al sacrificio o mortalidad (Figura 3) de acuerdo fuera el caso. Se realizó disección

del peritoneo parietal visceral con técnica roma. Las muestras fueron conservadas en paraformaldehído al 4% e inmediatamente procesadas por técnicos experimentados en el manejo de tejidos. Todas las muestras fueron incluidas en parafina, cortadas, y teñidas con hematoxilina y eosina en el laboratorio de patología quirúrgica y molecular del Centro Médico ABC. Dos patólogos expertos evaluaron las siguientes características en todos los grupos: Depósitos de fibrina, Infiltración por neutrófilos, Dilatación y congestión vascular, Edema, Presencia de abscesos, Tejido de granulación o Necrótico, Infiltrado por mononucleares, y desarrollo de granulomas; con base en la siguiente escala:

Tabla 1. Caracterización de biopsia en reportes de histopatología.

Grado	Definición
0	Sin Hallazgos Patológicos
1+	Leve
2+	Moderado
3+	Grave
4+	Severo

Complicaciones postquirúrgicas

Se evaluó durante todo el seguimiento la aparición de las siguientes complicaciones, los datos de dolor postquirúrgico fueron tomados con base en la escala propuesta por la Universidad de Michigan *Rat Grimace Scale* (14,15,16): Anorexia (registro de peso al inicio y al final del estudio), Dehiscencia de herida (Piel y/o Aponeurosis), Adherencias, Infección de herida, Disminución en la actividad: movimiento, acicalamiento, letargia, disminución en el interés del entorno.

Operacionalización de variables

El análisis estadístico se realizó con base en las siguientes variables.

Tabla 2. Operacionalización de las variables.

Variable	Definición	Tipo	Subtipo
Solución utilizada	Solución salina 0.9% vs. Solucion Salina Superoxidada de pH Neutro (Microdacyn ®)	Categórica	Dicotómica
Grupo de intervención	Grupo 1: Sin Lavado Grupo 2: 20 ml Solución Salina al 0.9% (NaCl 0.9%, Baxter, Pisa, Fresenius) Grupo 3: 20 ml Solución Salina Superoxidada de pH Neutro (Microdacyn ®)	Categórica	Nominal
Grado de inflamación histológica.	Depósitos de fibrina, Infiltración por neutrófilos, Dilatación vascular y congestión, Edema, Abscesos y tejido necrótico, Tejido granulación, Infiltrado mononuclear	Categórica	Ordinal
Complicaciones	Anorexia (registro de peso al	Categórica	Dicotómica

quirúrgicas	inicio y al final del estudio) Dehiscencia de herida (Piel y/o Aponeurosis) Adherencias Infección de herida Datos de Dolor Postquirúrgico Disminución en la actividad: movimiento, acicalamiento, letargia, disminución en el interés del entorno		
Mortalidad	Sí vs no.	Categórica	Dicotómica
Tiempo a mortalidad	Días	Númerica	Discreta
Peso	Durante el seguimiento, gramos	Númerica	Contínua
Pérdida de peso	Diferencia entre el peso inicial vs final	Categórica	Dicotómica

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico, la descripción de la muestra se realizó de acuerdo al tipo de variable y su distribución, para las variables continuas normalmente distribuidas con medias y desviación estándar, las continuas no normales con medianas y rangos intercuartiles, y categóricas con cuentas y proporciones relativas

o condicionales (según sea el caso). La normalidad se verificará con histogramas y con la prueba Kolmogorov–Smirnov evaluada a un alfa de 0.05.

Para los análisis bivariados, las variables dependientes se estratificaron por las independientes. En función de la normalidad para variables continuas normalmente distribuidas se realizarán T de Student, y las no normales con la prueba de U de Mann Whitney. Para las categóricas la diferencia entre proporciones se realizará con pruebas de chi cuadrada. Todas estas inferencias tomarán un valor de P ajustado por Bonferroni (en función del número de comparaciones que se realicen por objetivo).

Finalmente para evaluar la sobrevida de los modelos en función del grupo de intervención se evaluarán tiempo a mortalidad y se graficaron en curvas de Kaplan-Meier. La diferencia en sobrevida a lo largo del periodo se evaluará con la prueba de Log-Rank. Todos los análisis estadísticos se realizaron en SAS v.9.4.

En la Tabla se muestran las pruebas estadísticas propuestas por objetivo e hipótesis.

Tabla 3. Pruebas estadísticas implementadas en el protocolo de estudio.

Objetivo	Hipótesis	Prueba estadística
Mortalidad entre grupos de intervención	Hay algún cambio en la mortalidad con la administración de Solución salina superoxidada de pH	Log-Rank Test.

	neutro y solución salina al 0.9%	
Grado histológico de inflamación	Hay algún grado de inflamación diferencial entre las ratas expuestas a Solución salina superoxidada de pH neutro y solución salina al 0.9%	Chi cuadrada.
Complicaciones	Hay alguna diferencia en la proporción de complicaciones entre Solución salina superoxidada de pH neutro y solución salina al 0.9%	Chi cuadrada

Aspectos éticos

Todos los procedimientos experimentales con los animales se realizaron de acuerdo con la norma oficial mexicana (NOM-062-Z001999) para el uso de animales en investigación. Además se tratarán de manera humanizada acorde a lo estipulado en

la Declaración de Helsinki. El alimento y la ingesta hídrica administrada cumplirá con los estándares estipulados por El Centro de Investigación y Cirugía Experimental Brimex y el Bioterio de la Universidad La Salle, el cual se dará a libre demanda. Se colocaron 3 modelos murinos en cada jaula prediseñada. Se administró 0.1 ml de tramadol VO cada 24 hrs a cada uno de los modelos experimentales.

Resultados

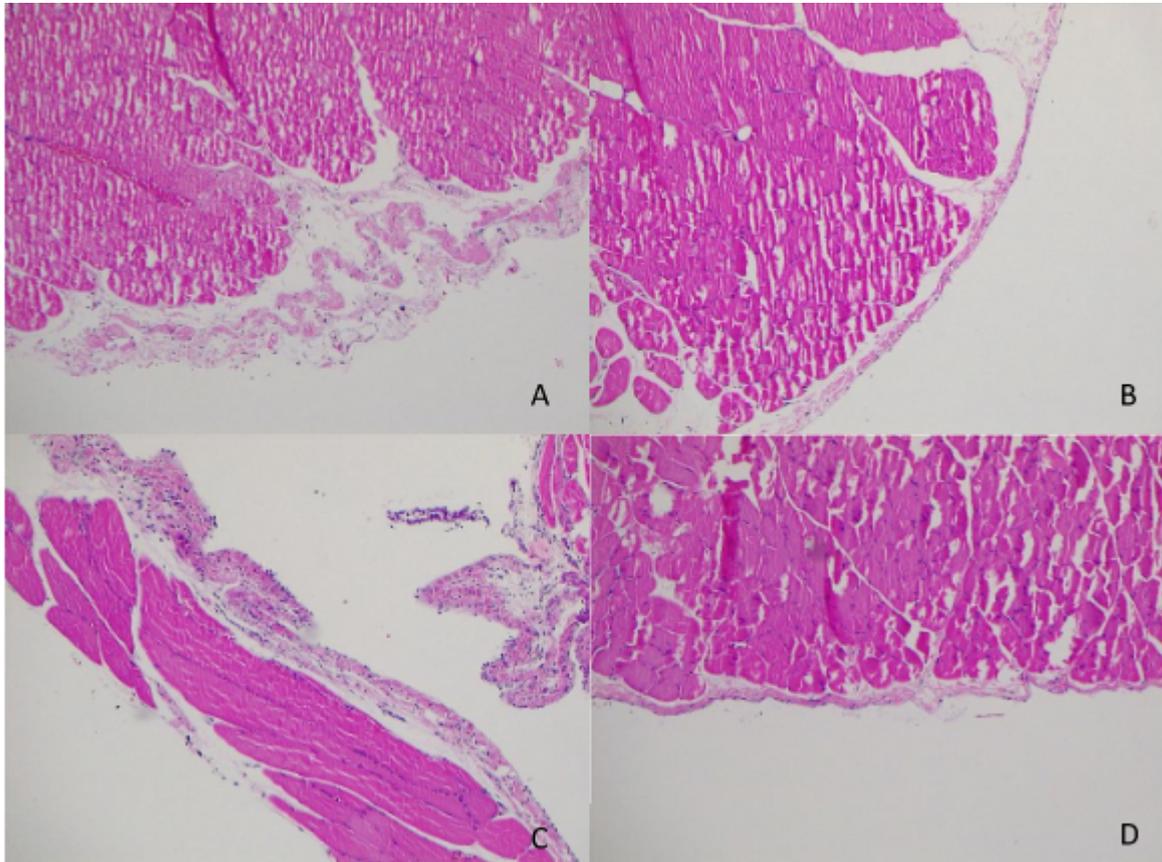
Análisis general de la población

Se analizaron 49 ratas Wistar con un peso promedio de 245 gr (± 28.7), 19 hembras y 30 machos. Los machos significativamente contaron con mayor peso (258.1 ± 23.7) con respecto a las hembras (228.2 ± 25.8) ($p < 0.0001$).

Objetivo 1. Efecto del lavado con solución salina superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre el grado de inflamación

Para evaluar el efecto de la solución salina al 0.9% (Grupo 2) o solución salina superoxidada de pH neutro (Grupo 3), sobre el peritoneo sano, se inoculó en dos modelos experimentales murinos 129 ml/kg/dosis cada solución. Se sacrificaron a las 24 horas y se evaluó por histología biopsias de peritoneo con base en la escala previamente descrita (Tabla 1) (Figura 4).

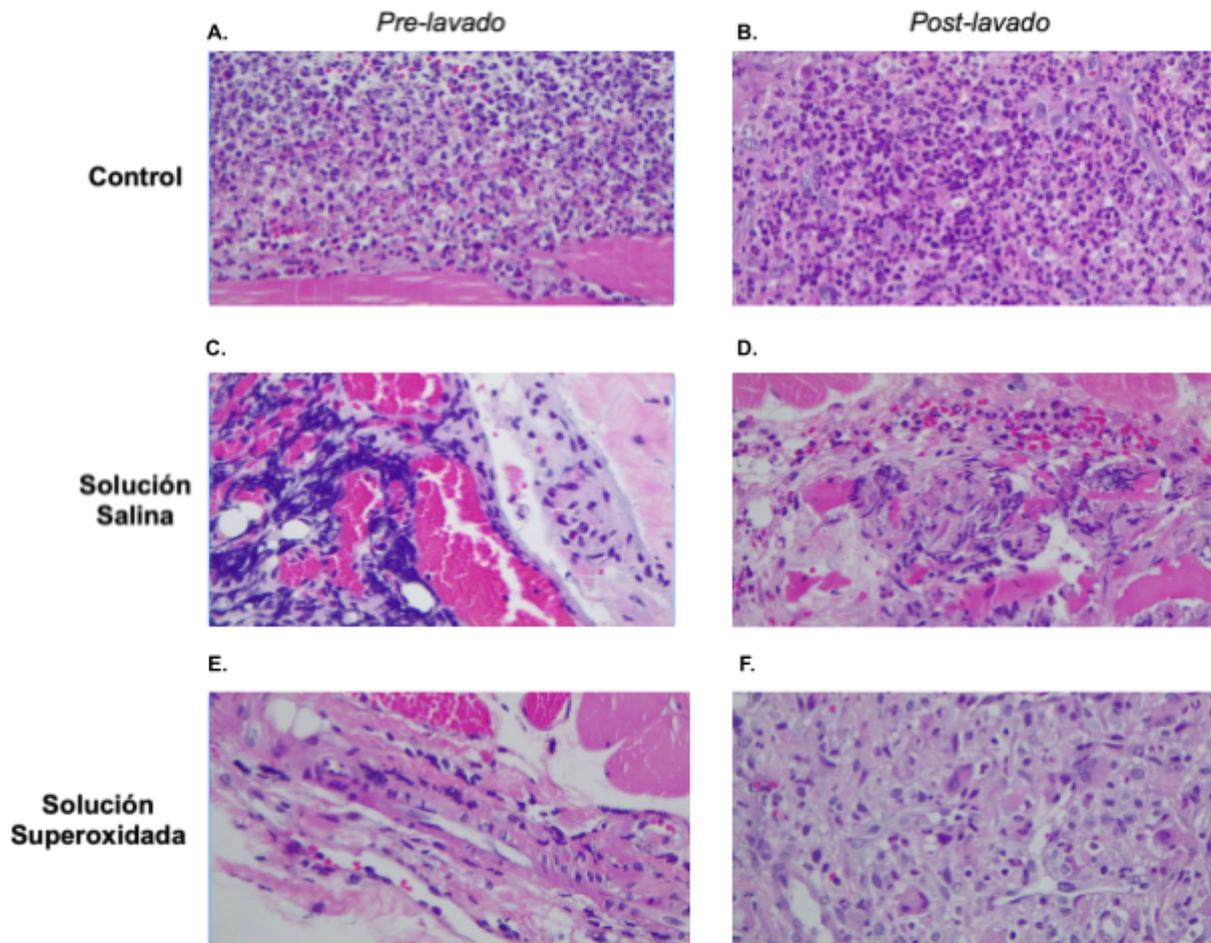
Figura 4. Peritoneo sano tratado con inyección intraperitoneal de 129 ml/kg/dosis de solución salina al 0.9% (Panel A) y solución salina superoxidada de pH neutro (Panel) por 24 horas y su descripción histológica.



Ratas de caracterización fisiológica 1 (A), Rata de caracterización fisiológica 2 (B), Rata de caracterización microdacyn 1 (C) Rata de caracterización microdacyn 2 (D). Cortes histológicos de pared abdominal sin alteraciones histológicas significativas, se observa capa circular externa preservada cubierta parcialmente por segmento de peritoneo en forma de monocapa de células mesoteliales. Tinción HyE. 10x.

Se observó que comparado con la solución salina al 0.9%, la solución salina superoxidada de pH neutro desarrolló algunos depósitos de fibrina, asociado con infiltración por neutrófilos y un absceso, probablemente relacionado con la técnica de punción (Figura 4 y 5).

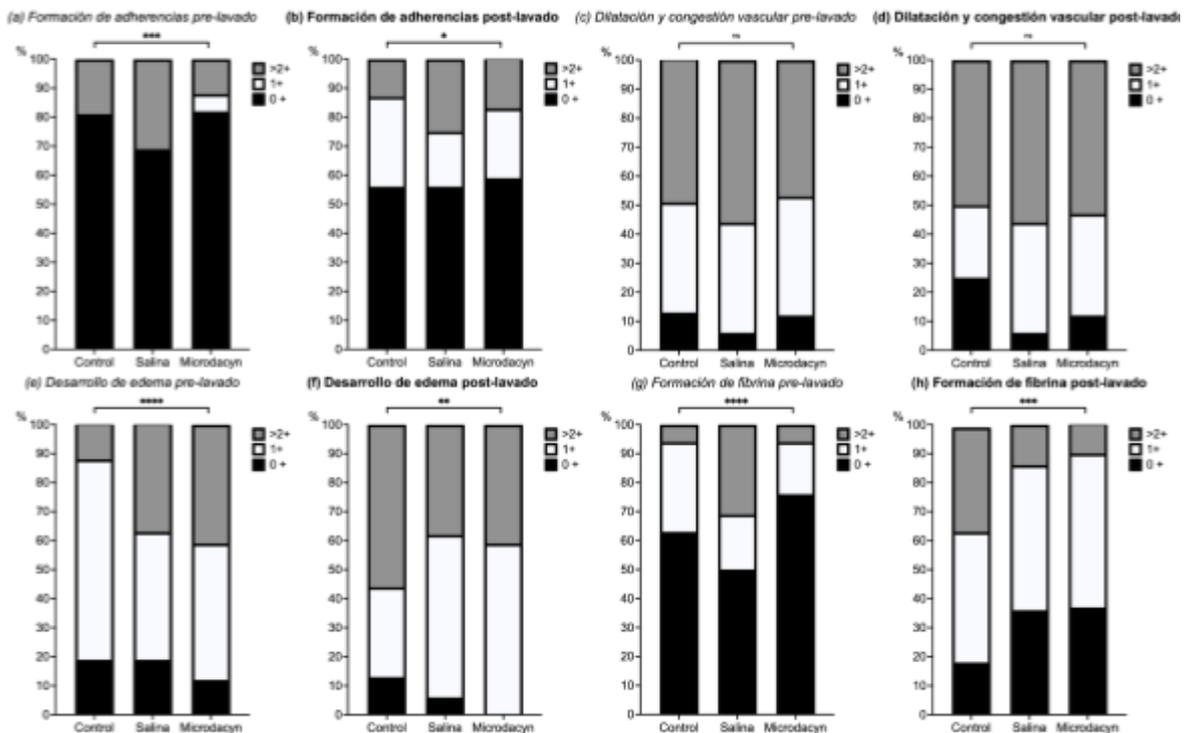
Figura 5. Cortes representativos de biopsias pre- vs. post-lavado teñidas con hematoxilina y eosina (10x).



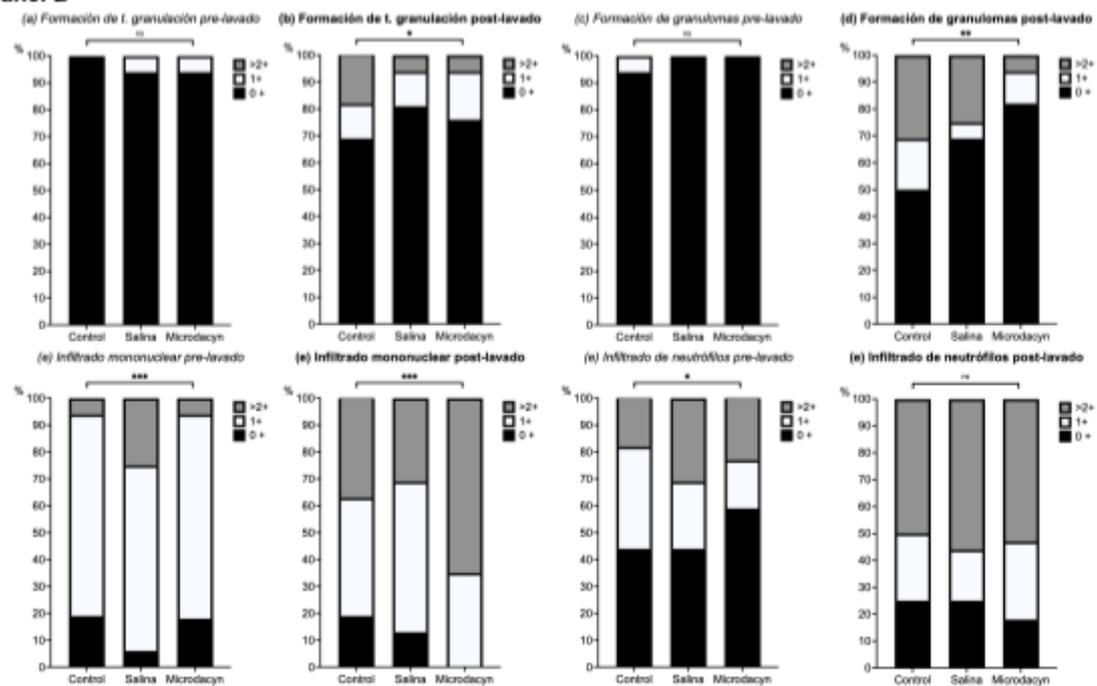
Caracterización de biopsias y cortes representativos por grupo. (a) Cortes histológicos de pared abdominal, se observa peritoneo con infiltración acentuada por polimorfonucleares mismos que forman agregados en capa y se acompañan con eritrocitos. Tinción HyE. 10x. (b) Cortes histológicos de pared abdominal, se observa peritoneo con mayor infiltración por polimorfonucleares mismos que forman agregados en capa y se acompañan con macrófagos. Tinción HyE. 10x. (c) Cortes histológicos de pared abdominal, se observa peritoneo con agregados focales de material granular acelular basofílico así como dilatación vascular y congestión. Tinción HyE. 10x. (d) Cortes histológicos de pared abdominal, se observa peritoneo con mayor infiltración por polimorfonucleares mismos que se extienden a la capa muscular con daño directo intenso a miofibrillas y atrofia secundaria de las mismas. Así mismo, se observan abundantes macrófagos epitelioides formando agregados dispersos. Tinción HyE. 10x. (e) Cortes histológicos de pared abdominal, se observa peritoneo con proliferación vascular reactiva y congestión, así como infiltrado mononuclear adyacente. Tinción HyE. 10x. (f) Cortes histológicos de pared abdominal, se observa peritoneo con infiltración leve por polimorfonucleares así como destrucción focal de la capa muscular con agregados de macrófagos. Tinción HyE. 10x.

Figura 6. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre el grado de inflamación.

Panel A



Panel B



ns $P > 0.05$, * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, **** $P \leq 0.0001$.

El lavado peritoneal con solución salina superoxidada de pH neutro (Grupo 3) vs. solución salina al 0.9% (Grupo 2) está asociada significativamente ($p = 0.0355$) con menor prevalencia de formación de abscesos de ≥ 2 cruces (+) (18% vs. 25%, respectivamente) de todas las biopsias analizadas (Panel A, Figura 7b). Comúnmente a las 24 horas post-inóculo fecal, 81% de la solución salina superoxidada de pH neutro y el 82% de la solución salina al 0.9% no desarrollaron ningún cambio (Panel A, Figura 7a). De igual forma, significativamente ($p = 0.0005$) el lavado con solución salina superoxidada de pH neutro (Grupo 3) vs. solución salina al 0.9% (Grupo 2) y control (Grupo 1) se asoció a menor prevalencia de fibrosis ≥ 2 cruces (+) (11% vs. 14% vs. 36%, respectivamente). No hubo diferencia significativa entre las soluciones con respecto a dilatación y congestión vascular (Panel A, Figura 7c-d). Se observó con respecto al control mayor prevalencia de edema peritoneal ≥ 2 cruces (+) en control vs. solución salina al 0.9% o solución superoxidada de pH neutro (56% vs. 38% vs. 41%, respectivamente) ($p = 0.0012$), aunque no hubo diferencia notable entre ambas soluciones (38% vs. 41%) (Panel A, Figura 7f).

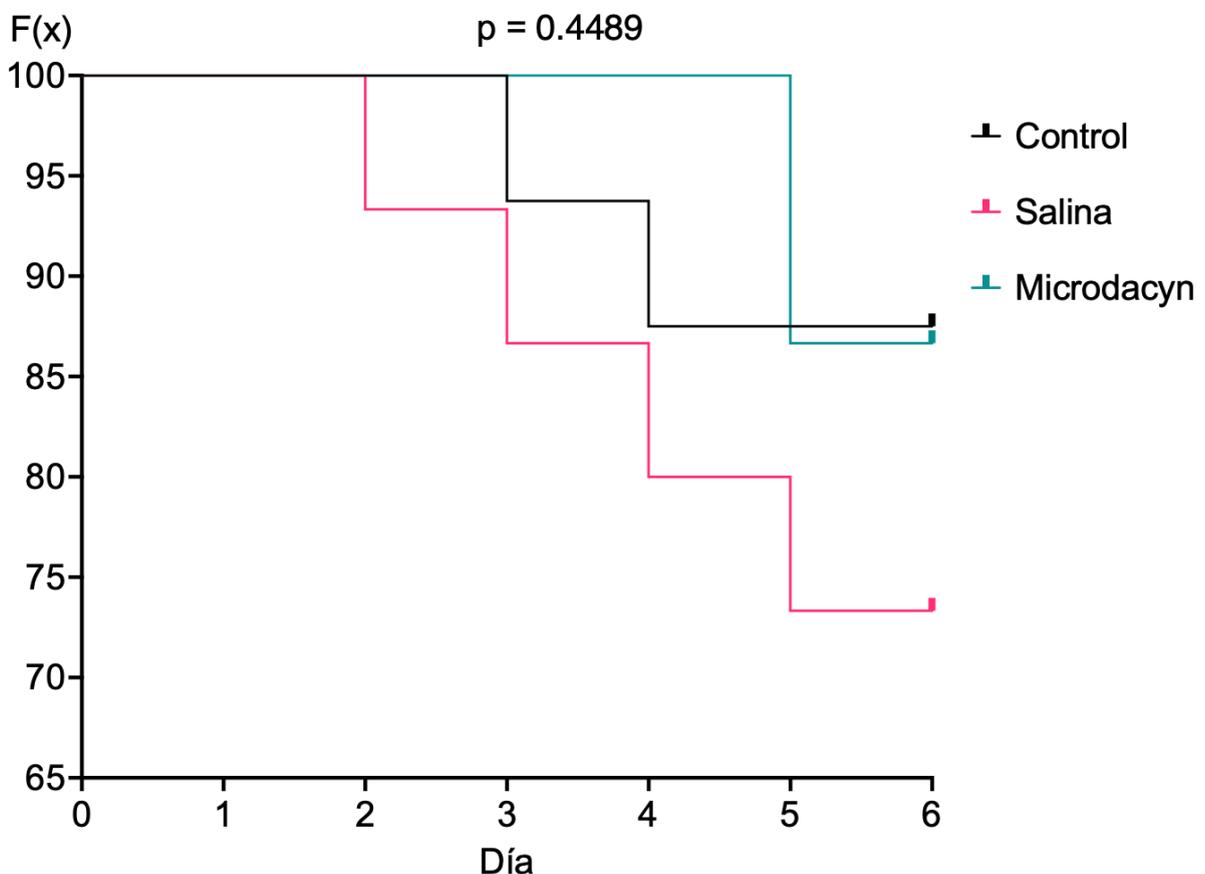
Con respecto al control, no se evidenció tejido de granulación en 81% (Grupo 2) y 76% (Grupo 3) vs. 69% (Grupo 1) ($p = 0.0215$) de las biopsias analizadas entre la solución salina al 0.9% y solución salina superoxidada de pH neutro (Panel B, Figura 7b). De forma similar, se documentó significativamente menor prevalencia de granulomas ≥ 2 cruces (+) con la solución superoxidada de pH neutro (6%) vs. solución salina al 0.9% (25%) y el control (31%) ($p = 0.0043$) (Panel B, Figura 7d). Se evaluaron también el infiltrado mononuclear y por polimorfonucleares. Notablemente, se observó mayor prevalencia significativa ($p = 0.0002$) de infiltrado de mononucleares ≥ 2 cruces (+) con la solución superoxidada de pH neutro (65%)

comparado con el control (38%) y salina (31%) (Panel B, Figura 7e). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos con respecto al infiltrado de polimorfonucleares ($p = 0.3665$).

Objetivo 2. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre la sobrevida general a 5 días

La sobrevida general a 5 días fue del 85.0%. Durante el seguimiento se presentaron ocho pérdidas, dos ratones del grupo 1 (Control) (4.1%), dos del grupo 2 (Solución salina al 0.9%) (4.1%), cuatro del grupo 3 (Solución superoxidada de pH neutro) (6.8%). No hubo diferencia significativa en la experiencia de sobrevida a lo largo de 6 días ($p = 0.4489$) (Figura 7).

Figura 7. Experiencia de sobrevida entre los grupos durante el seguimiento.



F(x) Función de sobrevivencia.

Objetivo 3. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina sobre las complicaciones postquirúrgicas

Entre los grupos, se evaluó la presencia o ausencia de: 1) formación de adherencias macroscópicas, 2) fibrosis, 3) engrosamiento peritoneal, 4) colecciones purulentas, 5) presencia de líquido peritoneal turbio, y 6) dehiscencia de la pared abdominal. Comparado con el grupo control (Grupo 1) y solución salina al 0.9% (Grupo 2), la solución superoxidada de pH neutro (Grupo 3) está significativamente asociada con menor formación de adherencias macroscópicas ($p < 0.0001$), engrosamiento peritoneal ($p = 0.0003$), y presencia de líquido turbio peritoneal ($p < 0.0001$). No se documentaron diferencias significativas entre las soluciones y el control en el desarrollo de fibrosis y presencia de colecciones purulentas peritoneales ni dehiscencia de pared (Figura 8).

La solución salina superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% significativamente disminuyó en 60% la prevalencia de adherencias peritoneales (40% vs. 67%, $p < 0.0001$) (Figura 8b, Figura 9). De igual forma sólo en 13% del grupo 3 vs. 27% del grupo 2 y el 38% del 1, desarrolló engrosamiento peritoneal ($p = 0.0003$) (Figura 8f, Figura 9). En ningún caso de lavado peritoneal con solución superoxidada de pH neutro presentó líquido turbio peritoneal residual comparado con 27% de la solución salina al 0.9% y 13% de los controles ($p < 0.0001$) (Figura 8l, Figura 9). Finalmente, al sacrificio o a hasta su mortalidad, no hubo diferencias entre ambas soluciones (80% solución salina al 0.9% vs. 73% solución superoxidada de pH neutro) en relación con dehiscencia de la pared, sin embargo el

grupo control de forma significativa ($p < 0.0001$) no desarrolló ninguna complicación en éste ámbito (Figura 8j).

Figura 8. Efecto del lavado con solución superoxidada de pH neutro vs. solución salina al 0.9% sobre las complicaciones postquirúrgicas.

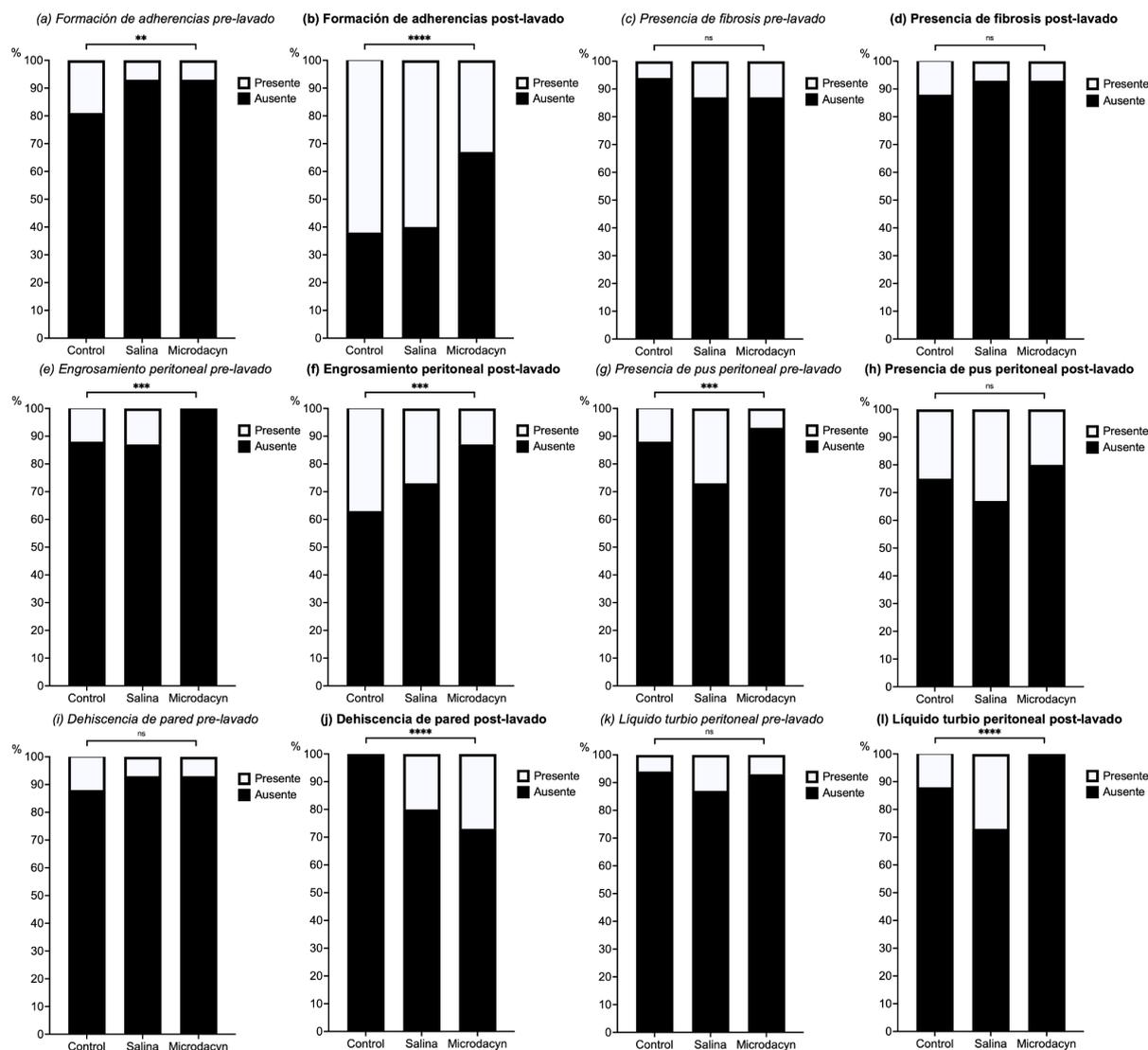
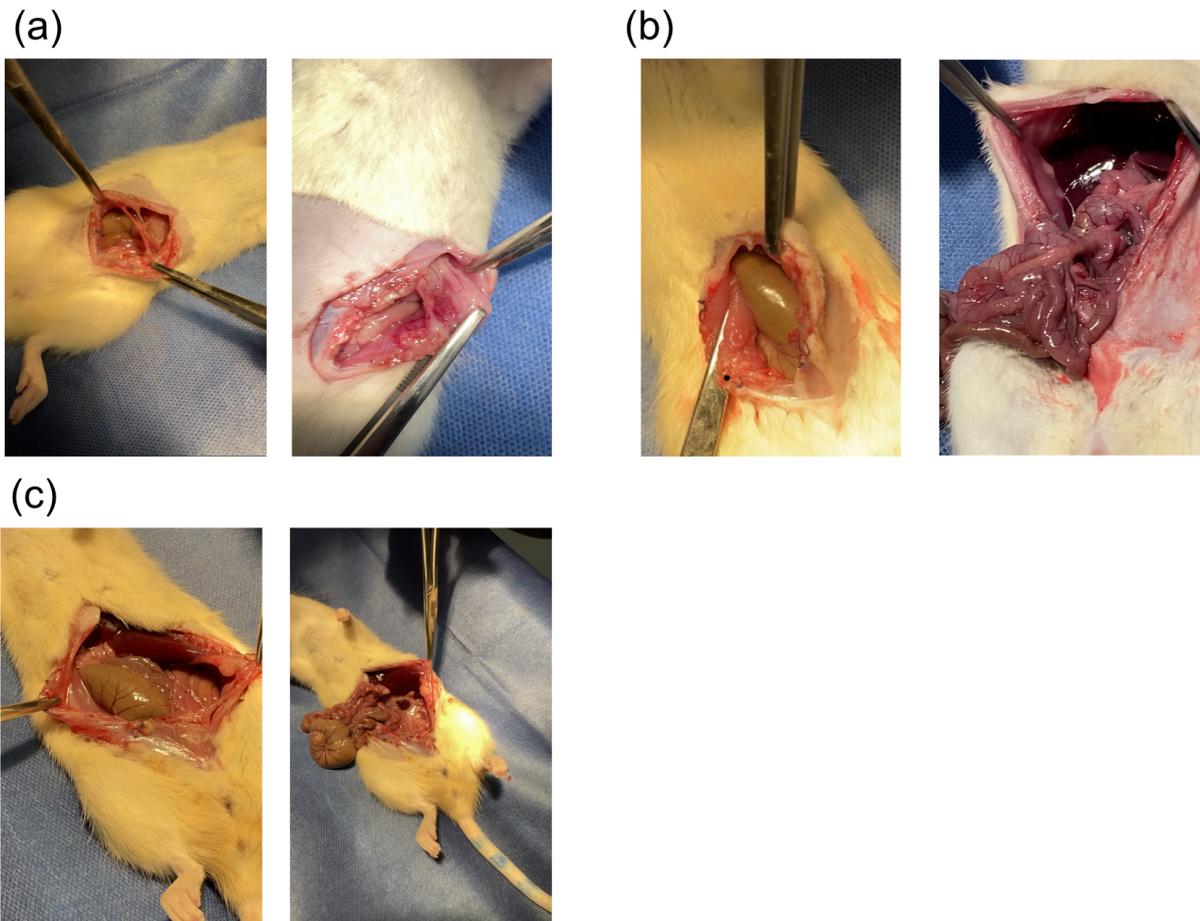


Figura 9. Comparación características macroscópicas, segundo procedimiento. El mismo inóculo fecal utilizado en este grupo de modelos experimentales murinos. (Sacrificio + Toma de Biopsias).



Grupo 1: Control (a), Rata Grupo 2; Solución Fisiológica 0.9% (b), Grupo 3: Solución Salina Superoxidada pH Neutro (c).

Discusión

Al momento no se han realizado estudios experimentales que evalúen los efectos de las soluciones superoxidadas a nivel histológico comparado con soluciones isotónicas para el lavado quirúrgico en casos de peritonitis generalizada. Por tanto, nuestro objetivo fue el evaluar algún cambio en el grado de proceso inflamatorio peritoneal por histología, en las complicaciones postquirúrgicas y la mortalidad posterior al lavado con solución isotónica vs salina superoxidada de pH neutro (Microdacyn®, Sanfer) en un modelo experimental murino. En este protocolo de estudio se estandarizó el modelo de peritonitis fecal, el seguimiento postoperatorio, cantidad y técnica de lavado quirúrgico, y se realizó una extensiva caracterización macro y microscópica de 49 ratas Wistar de ambos sexos. Además, dos ratas fueron ocupadas para replicar los hallazgos de Aras et al. (2017) quién evaluó la toxicidad de las soluciones superoxidantes de pH neutro en la cavidad peritoneal.

[\(10\)](#)

Con base en nuestros objetivos, en primera instancia se observó que comparado con la solución salina, la solución superoxidada de pH neutro en cavidad peritoneal sana, al análisis histológico, desarrolló pocos depósitos de fibrina, asociados con infiltración leve por neutrófilos y abscesos, cuando se comparaba con solución isotónica. Lo anterior, probablemente fue relacionado con la técnica de punción. En apoyo a lo anterior, Aras et al. (2017) no reportó cambios macroscópicos y microscópicos patológicos, ni algún impacto bioquímico en los niveles de hemoglobina, hematocrito, plaquetas, AST, ALT, urea y creatinina de la solución superoxidada de pH neutro sobre el peritoneo sano. [\(10\)](#) Sin embargo, mayor

evidencia experimental y clínica es necesaria para caracterizar por completo estas observaciones.

Importantemente, el lavado peritoneal a nivel histológico con solución superoxidada de pH neutro contra la solución salina al 0.9% está asociado significativamente con menor prevalencia de formación de abscesos, fibrosis, edema peritoneal. Notablemente, se observó mayor prevalencia significativa de infiltrado de mononucleares, aunque sin repercusión clínica, cuyo significado debería ser investigado en el futuro. Aún no hay evidencia experimental similar a la nuestra que muestre el efecto a nivel histológico de la solución salina superoxidada de pH neutro sobre peritonitis generalizada.

Con respecto al segundo objetivo, no hubo diferencia significativa en la experiencia de sobrevida a lo largo de 6 días ($p = 0.4489$) entre los diferentes grupos evaluados. De forma similar, Singal (2016) documentó menor mortalidad en un estudio controlado aleatorizado doble ciego donde incluyó a 240 pacientes con peritonitis, 120 lavados con solución salina y 120 con superoxidadas de pH neutro. Aunque el seguimiento pudiera haber limitado replicar éste hallazgo. (7) La mortalidad de nuestro estudio, sin el uso de antibioticoterapia, fue del 15% sólo con el lavado quirúrgico.

Finalmente, documentamos entre los grupos, hallazgos macroscópicos que incluyeron: formación de abscesos macroscópicos, presencia de fibrosis, engrosamiento peritoneal, colecciones purulentas, líquido peritoneal turbio y desarrollo de dehiscencia de pared abdominal. En este aspecto la solución salina superoxidada de pH neutro está significativamente asociada con menor formación de abscesos, engrosamiento peritoneal, presencia de líquido turbio peritoneal y

dehiscencia de la pared. A diferencia de Garg (2013), no se observó ninguna infección de sitio quirúrgico probablemente relacionado con el protocolo estricto de asepsia y antisepsia con solución de gluconato de clorhexidina (8). Aún más, a diferencia de Aras (2017), quien no documentó cambios macroscópicos (10), en este estudio reportamos efectos superiores a la solución salina 0.9% en cuanto a desenlace.

Conclusiones

Este es el primer estudio que documenta in vivo, en un modelo murino de peritonitis fecal generalizada, el desenlace clínico e histológico del lavado quirúrgico con solución salina superoxidada de pH neutro comparado contra solución salina al 0.9%. Se observó que la solución salina superoxidada de pH neutro disminuye la formación de abscesos, fibrosis, y edema peritoneal a nivel histológico, sin afectar de forma significativa la supervivencia a 5 días. Aún más, macroscópicamente tiene un efecto superior a la solución isotónica en complicaciones postoperatorias en relación a menor formación de adherencias, abscesos, engrosamiento peritoneal, presencia de líquido turbio peritoneal, y dehiscencia de la pared. Por tanto proponemos que la solución salina superoxidada de pH neutro no es inferior a la solución salina al 0.9% en relación a su actividad sobre el tejido peritoneal inflamado. En cambio tiene un efecto superior y benéfico en casos de peritonitis generalizada fecal a nivel clínico e histológico. Se requieren de más estudios prospectivos experimentales crónicos para evaluar el efecto in vivo de las soluciones salinas superoxidadas de pH neutro sobre el tejido peritoneal inflamado en casos de peritonitis generalizada, sin encontrar hasta el momento contraindicaciones para su uso clínico en humanos.

Bibliografia

1. Len, S. et al.-. Ultraviolet spectrophotometric characterization and bactericidal properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH. *J Food Prot*, 63: 1534–1537,2000.
2. Salisbury AM, Percival SL, The Efficacy of an Electrolysed Water Formulation on Biofilms, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2019
3. Pianpian Yan et al., New Clinical Applications of Electrolyzed Water: A Review, *Microorganisms* 2021, 9, 136.
4. Chen BK, Wang CK, Electrolyzed Water and Its Pharmacological Activities: A Mini-Review, *Molecules*, 2022.
5. Fadriquela, A.; Sajo, M.E.; Bajgai, J.; Kim, D.H.; Kim, C.S.; Kim, S.K.; Lee, K.J. Effects of strong acidic electrolyzed water in wound healing via inflammatory and oxidative stress response. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2020, 2020, 1–10.
6. Nakae, H.; Inaba, H. Electrolyzed strong acid aqueous solution irrigation promotes wound healing in a burn wound model. *Artif.Organs.* 2000, 24, 544–546.
7. R. Singal et al.- Comparative Evaluation of Intra-Operative Peritoneal Lavage with Super Oxidized Solution and Normal Saline in Peritonitis Cases; Randomized Controlled Trial, *Maedica (Bucur)*. 2016 Dec; 11(4): 277–285.
8. PK Garg, et al.- Peritoneal lavage with super-oxidized solution and normal saline, *Archives of International Surgery*, January-April 2013 / Vol 3 / Issue
9. Landa-Solis, C, Gonzalez-Espinosa, D, Guzman-Soriano, B, Snyder, M, Reyes-Teran, G, Torres, K and Gutierrez, A A. 2005. Microcyn: a novel super-oxidized water with neutral pH and disinfectant activity. *J Hosp Infect*,

61: 291–299.

10. A Aras et al.-Intraperitoneal Infusion of Neutral-pH Superoxidized Solution in Rats: Evaluation of Toxicity and Complications on Peritoneal Surface and Liver, *Med Sci Monit.* 2017; 23: 960–965.
11. Lally et al, Various Intraperitoneal Irrigation Solutions in Treating Experimental Fecal Peritonitis, *Southern Medical Journal*, Vol 74, No. 7, Julio, 1981.
12. Brocco MCEffects of peritoneal lavage with lidocaine on survival of rats with fecal peritonitis, *Acta Cir. Bras.*, 2008
13. Rodríguez ZZ, Preconditioning with ozone/oxygen mixture induces reversion of some indicators of oxidative stress and prevents organic damage in rats with fecal peritonitis, *Inflamm. Res.*, 2009, *Inflamm. Res.*, 2009
14. The Rat Grimace Scale images and accompanying descriptions are borrowed verbatim from: Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, et al. 2011. The Rat Grimace Scale: A Partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain* 7:55.
15. Behavioral indicators from: Roughan JV, and Flecknell PA. 2001. Behavioral effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. *Pain* 90 (1): 65-74.
16. Roughan JV, and Flecknell PA. 2005. Training in behavior-based post-operative pain scoring in rats – An evaluation based on improved recognition of analgesic requirements. *Applied Animal Behavior Science* 96 (3-4): 327-342.