

Detergente enzimático en peritoneo de ratas. Estudio comparativo con solución fisiológica

Rodolfo Arteaga-Torres,* Minerva Escartín-Chávez,** César Gutiérrez-Samperio,** Juan Manuel Ruiz-Acosta,** Marco Alonso-Gallegos,*** Ricardo Lerma-Alvarado^Δ

Resumen

Introducción: El lavado con solución fisiológica y diversas sustancias es útil en la infección peritoneal, pero se desconoce el efecto de detergentes enzimáticos como el cloruro de didecil-dimetil amonio cuaternario (DDAC), utilizado en la esterilización del material quirúrgico. Objetivo: conocer los cambios histológicos (inflamación, fibrosis y vasos de neoformación) en el peritoneo de ratas después de la aplicación de solución fisiológica o DDAC.

Material y métodos: Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de DDAC para *Escherichia coli* (512 µg/ml) y *Enterococcus faecalis* (128 µg/ml). Se estudiaron 63 ratas Wistar con peso de 200 ± 20 g, divididas en tres grupos: a siete ratas control se les instilaron 3 ml de solución fisiológica en cavidad peritoneal. A los grupos 1 y 2 se les instilaron 3 ml con CMI para *E. coli* y *E. faecalis*, respectivamente; estos grupos se dividieron en cuatro subgrupos de siete animales. En cada rata se obtuvo 1 cm² de peritoneo a los dos, siete, 14 y 21 días; para estudio histológico (hematoxilina-eosina), se evaluaron 10 campos. Los datos obtenidos se analizaron con U de Mann-Whitney.

Resultados: No existió diferencia significativa en la inflamación, fibrosis y vasos de neoformación con la solución fisiológica comparada con DDAC a los dos, siete, 14 y 21 días ($p > 0.05$), excepto en la inflamación a los dos días en el grupo 2 ($p = 0.026$), la cual remitió.

Conclusiones: No existió diferencia significativa en los cambios histológicos del peritoneo de la rata después de la instilación de solución fisiológica o DDAC.

Palabras clave: Peritoneo, ratas, inflamación, didecil-dimetil amonio cuaternario.

Abstract

Background: Peritoneal washing out with physiological solution added with different substances is useful in peritoneal infections, but the effect of enzymatic detergents such as quaternary didecyl-dimethyl ammonium compounds (DDAC) used in the sterilization of surgical material is unknown. We undertook this study to determine histological changes (inflammation, fibrosis and new vessel formation) in peritoneum of Wistar rats after the application of physiological solution or DDAC.

Methods: The minimum inhibitory concentration (MIC) of DDAC for *E. coli* (512 µg/ml) and *E. faecalis* (128 µg/ml) was determined. Sixty three Wistar rats weighing 200 ± 20 g were studied. They were divided into three groups: control—7 rats were instilled with 3 ml of physiological solution in peritoneal cavity; groups 1 and 2 were instilled with 3 ml of MIC for *E. coli* and *E. faecalis*, respectively. These groups were divided into four subgroups of seven animals. In every rat, 1 cm² of peritoneum was obtained at 2, 7, 14, and 21 days for histological study with hematoxylin-eosin. Ten fields were evaluated. Data obtained were analyzed with the Mann-Whitney test.

Results: There were no significant differences in inflammation, fibrosis and new vessel formation with the physiological solution vs. DDAC at 2, 7, 14, and 21 days ($p > 0.05$), except for inflammation at 2 days in group 2 ($p = 0.026$), which remitted.

Conclusions: There was no significant difference in changes in rat peritoneum after physiological solution or DDAC application.

Key words: Peritoneum, rats, inflammation, quaternary didecyl dimethyl ammonium compound.

* Hospital Médica TEC 100.

** Laboratorio de Biomedicina, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro.

*** Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro.

Δ Departamento de Cirugía, Hospital General de Querétaro, Secretaría de Salud del Estado de Querétaro. Querétaro, México.

Correspondencia:

Rodolfo Arteaga-Torres.

Hospital Médica TEC 100.

Prolongación Ignacio Zaragoza 16-A, consultorio 405,

Col Centro,

76030, Querétaro, México.

Tel.: (442) 242 4907.

E-mail: rodoldoc@gmail.com

Recibido para publicación: 13-07-2010

Aceptado para publicación: 03-11-2010

Introducción

La cavidad peritoneal es el mayor espacio extravascular del organismo; en el adulto tiene una superficie aproximada de 1.70 m², equivalente a la superficie cutánea. En condiciones normales tiene alrededor de 50 ml de un líquido citrino con densidad aproximada de 1.016, cuyo contenido proteico es inferior a 3 g, con predominio de la albúmina, sin fibrinógeno; su capacidad para coagular en forma espontánea es nula y su escasa actividad antibacteriana es mediada fundamentalmente por el sistema del complemento.¹

Las células mesoteliales peritoneales producen un surfactante que actúa como lubricante; entre la lámina parietal y visceral del peritoneo se interpone la cavidad peritoneal, virtual en estado normal pero aparente cuando existe neu-moperitoneo, hemoperitoneo u otro líquido, como sucede en las infecciones, diálisis o lavado peritoneal.² El peritoneo es un mesotelio formado por células escamosas con abundante retículo endoplasmático y vesículas, que indican transporte activo transmembranal; entre estas células se forman los desmosomas, que explican su capacidad absorbente.³

El mesotelio del peritoneo es muy sensible, basta la exposición a una solución salina por 30 minutos para causar su descamación, sensibilidad que tal vez sea uno de sus mecanismos de defensa más importantes. Ante un estímulo se produce fibrina, la cual localiza y aísla las zonas contaminadas de la cavidad. Las adherencias fibrinoides generalmente desaparecen en poco tiempo mediante fibrinólisis, sin embargo, ésta se suprime cuando hay contaminación bacteriana y se forman adherencias fibrosas en las que los fibroblastos se entrelazan con la colágena.⁴

La inflamación peritoneal aguda tiene una evolución breve, con una duración de minutos, horas, hasta dos o tres días y presenta tres componentes:

1. Modificaciones en el calibre de los vasos que originan aumento en el flujo sanguíneo.
2. Alteraciones en la estructura de los capilares que permiten la salida de las proteínas plasmáticas y leucocitos.
3. Emigración de los leucocitos hacia el foco de lesión, donde se acumulan. El edema, exudado de fluido y proteínas plasmáticas, con la emigración de leucocitos neutrófilos, caracterizan el proceso inflamatorio agudo.⁵

La inflamación crónica tiene una duración mayor, de semanas a meses; histológicamente se caracteriza por:

1. Infiltración por células mononucleares, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, lo que refleja una reacción persistente al agente agresor.

2. Destrucción tisular inducida principalmente por las células inflamatorias.
3. Intentos de reparación con vasos de neoformación, con proliferación de vasos sanguíneos de pequeño calibre, depósito de colágena y sustitución por tejido conectivo y fibrosis.⁶

Ante contaminación e infección existe rápida absorción de las bacterias a través de los desmosomas, las bacterias son destruidas por la cascada del complemento y los fagocitos, lo que limita la infección, aunque puede ocurrir la formación de colecciones purulentas localizadas.⁷ Cuando se superan estos mecanismos de defensa aparece la infección peritoneal, con cambios inflamatorios locales producidos por las bacterias y sus toxinas, el paso a la circulación de éstas y las sustancias intermedias de la inflamación dan lugar a una respuesta inflamatoria sistémica. Por las características y función del peritoneo, en la peritonitis bacteriana generalizada las repercusiones en diferentes órganos y sistemas son mayores.⁸

La peritonitis es una patología que continúa teniendo elevada morbilidad y mortalidad, si bien han disminuido por el advenimiento de los antibióticos, el progreso de las medidas de sostén y el tratamiento de la falla orgánica múltiple en las unidades de cuidados intensivos;⁹ sin embargo, lo anterior no excluye los viejos principios para que su tratamiento sea exitoso, como la eliminación rápida y permanente del agente patógeno y la limpieza de la cavidad peritoneal por medios mecánicos, durante la cirugía o en el posoperatorio.¹⁰

Para limpiar la cavidad peritoneal se ha utilizado solución fisiológica, a la que se han agregado diferentes sustancias con el afán de eliminar los agentes microbianos responsables de la infección con la menor respuesta inflamatoria posible y, como consecuencia, con menos fibrosis y formación de adherencias.¹¹ También se han usado soluciones neutras con alta selectividad, peróxidos, yodopovidona, polietilenglicol y diferentes antimicrobianos, con estos últimos se debe tener en cuenta su absorción a través de la membrana peritoneal.¹²⁻¹⁶

Los detergentes enzimáticos tienen un amplio rango de aplicación en la industria, lavado textil o de vajillas, limpieza y eliminación de residuos de desastres ecológicos y esterilización del instrumental médico-quirúrgico. La capacidad de limpieza de estas sustancias principalmente se debe a la acción de las distintas enzimas que contienen: proteasas, amilasas, lipasas y celulasas. Estas enzimas degradan y eliminan el material necrótico, como también lo hacen con la sangre, plasma y material proteico, con lo que disminuyen los factores que favorecen o prolongan una infección; sus propiedades en la desinfección del material quirúrgico han sido ampliamente comprobadas.^{17,18}

Los detergentes enzimáticos, como el cloruro de didecildimetil amonio cuaternario (DDAC), no producen irritación de mucosas ni tejidos; existen estudios que demuestran su seguridad en la aplicación a estructuras tan sensibles como la córnea y la esclerótica.¹⁹ Se ha utilizado para tratar heridas con tejido desvitalizado e infección, como el pie diabético o las infecciones de la pared abdominal, aunque no existen estudios controlados al respecto ni para valorar su acción en infecciones peritoneales.^{20,21}

Para utilizar los compuestos cuaternarios de amonio en el tratamiento de las infecciones es necesario conocer sus características, ventajas y desventajas en tejidos infectados y sanos, así como sus efectos colaterales,²²⁻²⁴ razón por la cual se planeó este trabajo experimental, con el objetivo de conocer el efecto en el peritoneo de la rata del DDAC a concentraciones efectivas sobre dos de los gérmenes más frecuentes en las infecciones peritoneales: *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*. En la primera fase del trabajo se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) del detergente enzimático sobre estas bacterias, para conocer los cambios histológicos producidos en el peritoneo de la rata por la aplicación del detergente, así como determinar si estos cambios difieren de los ocasionados por la aplicación de solución fisiológica.

Material y métodos

Determinación de la CMI

En el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, se determinó la CMI de las soluciones ante las dos bacterias seleccionadas. Se utilizó el método de macrodilución en tubo de acuerdo con las recomendaciones del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), actualmente *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI), como se hace con un antimicrobiano oral o parenteral.²⁵

Se utilizaron cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, así como cepas de campo aisladas de pacientes con infecciones genitourinarias. El inóculo se estandarizó con la técnica de McFarland²⁶ para obtener una concentración bacteriana de 10^4 a 10^6 por ml, y se preparó minutos antes de iniciar el proceso.

A partir de 1 ml de solución madre con una concentración de 128 µg/ml de DDCA utilizada en estudios previos,¹⁹⁻²² se realizaron diluciones sucesivas con un volumen igual al inicial: en el tubo 1 se diluyó 1 ml de DDCA con 1 ml de caldo de Mueller Hinton. De este líquido se pasó 1 ml al tubo 2, que nuevamente se diluyó con 1 ml de caldo de Mueller Hinton y así sucesivamente hasta el tubo 13, de

tal manera que a cada tubo con diferentes concentraciones de DDCA se agregó 1 ml del medio de cultivo y 1 ml del inóculo bacteriano. Todos los tubos se incubaron 24 horas a una temperatura de 37 °C, al cabo de las cuales se recopilaron resultados, comenzando con el tubo con concentración más alta; se identificó el tubo en el que no hubo desarrollo bacteriano, cuya concentración se tomó como CMI. El tubo 14 sirvió como control positivo (1 ml de inoculó y 1 ml del caldo de cultivo) y el tubo 15 sirvió como control negativo (1 ml de solución madre, 128 µg/ml y 1 ml de caldo de cultivo). Debido a que hubo desarrollo de *Escherichia coli* con la concentración de 128 µg/ml, para determinar la CMI para esta bacteria se partió de una solución madre con mayor concentración (8.192 µg/ml).

La CMI para *Enterococcus faecalis* tanto para cepas ATCC como para las de campo fue de 128 µg/ml, mientras que para *E. coli*, fue de 512 µg/ml. La concentración que se utiliza para la esterilización del instrumental quirúrgico o endoscopios es de 5 g por litro, es decir, 5000 mg por ml, por lo que una dilución de 1:10 de ésta da una concentración de 500 µg/ml, que cubre la CMI para *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*; en cambio, la dilución de 1:40 solo cubre *Enterococcus faecalis*.

Estudio experimental

Se utilizaron 63 ratas Wistar de ambos sexos, con peso de 200 ± 20 g, manejadas de acuerdo con las normas internacionales para animales de laboratorio, lo que fue corroborado por el Comité de Posgrado e Investigación y por el Comité de Bioética de la Facultad. Se mantuvieron en condiciones estables a 22 °C, con alimento y agua a libre demanda; se dividieron al azar en tres grupos:

- *Control*: siete ratas a las que se les instilaron 3 ml de solución fisiológica en la cavidad peritoneal.
- *Grupo 1*: a las ratas se le instiló 3 ml de solución de detergente enzimático DDAC a una CMI para *Escherichia coli* (512 µg/ml).
- *Grupo 2*: a las ratas se les instiló 3 ml de solución de DDAC a la CMI para *Enterococcus faecalis* (128 µg/ml).

Instilación y biopsia del peritoneo

Para la instilación intraperitoneal el animal fue sujetado firmemente y se traccionó la piel en la línea media infraumbilical. La punción a través de la pared abdominal se hizo con aguja número 25, se instilaron 3 ml de la solución fisiológica y diferentes concentraciones de DDAC. Para la

biopsia del peritoneo se aplicó como anestésico tiletamina y zolazepan por vía intramuscular, a dosis de 0.1 mg/kg de peso. Después de cinco minutos, con la rata fija en decúbito dorsal, previo rasurado, asepsia y antisepsia de la pared, se efectuó una incisión de 3 cm en la línea media infraumbilical, se identificó el peritoneo y se tomó una muestra de 1 cm²; la aponeurosis se cerró con surgete continuo de material de sutura sintético no absorbible 00 y la piel con puntos separados del mismo material.

Las alteraciones macroscópicas con formación de adherencias fue mínima en todos los animales, por lo que solo se realizó la valoración microscópica. En el grupo control se tomó una muestra de peritoneo a los dos días, debido a que en estudios previos y en el piloto no se identificaron cambios en las muestras después de 48 horas.^{9,10,14} Los grupos 1 y 2 se subdividieron en cuatro grupos de siete animales, a los que se les tomó una muestra de peritoneo a los dos, siete, 14 y 21 días.

Evaluación histopatológica

Las muestras se identificaron de acuerdo con el grupo y el lote al que pertenecían, según el tiempo transcurrido entre la instalación peritoneal y la toma de la biopsia de peritoneo, fijadas en formol a 10% e incluidas en parafina. De los bloques se hicieron cortes de 6 µm de espesor, teñidos con hematoxilina-eosina. Las variables histológicas analizadas fueron inflamación, fibrosis y vasos de neoformación; para la evaluación se tomaron en cuenta 10 campos de seco fuerte con aumento del objetivo (400×), divididos en cuadrantes por medio de una retícula, lo que dio un área de 180 µm² por cuadrante.

En la inflamación se consideró la presencia de leucocitos, neutrófilos y macrófagos en las respuestas agudas; y linfocitos y células plasmáticas en las respuestas crónicas. A la presencia de leucocitos en un cuadrante se le dio el valor de +, en dos cuadrantes de ++, en tres de +++ y en cuatro de ++++. La reparación fibroplástica se evaluó por fibras de colágena tipo 1 en el tejido conectivo laxo y la reparación tisular se valoró por la presencia de vasos sanguíneos de pequeño calibre sin la diferenciación adecuada, inmersos en un estroma fibroconjuntivo edematoso; en ambas su presencia en uno a cuatro cuadrantes se valoró con +, ++, +++ y ++++.

Valoración estadística

A los datos obtenidos se les aplicó valoración estadística inferencial, con un análisis bivariado para muestras independientes, comparando el grupo control con las muestras de los grupos 1 y 2, tomadas a los dos, siete, 14 y 21 días. Se utilizó la prueba de Mann-Whitney con un nivel de confianza de 95%.²⁷

Resultados

La diferencia de los cambios histológicos al comparar los producidos por la solución fisiológica en el grupo control con los producidos por el DDAC a diferentes concentraciones se ilustran en el cuadro I, al igual que las cifras obtenidas con la prueba Mann-Witney al comparar el número de cruces de las distintas variables (inflamación, fibrosis y vasos de neoformación, expresada como angiogénesis), con su correspondiente valor de p.

Como puede observarse, la diferencia estadística no fue significativa en los estudios histológicos en cuanto a inflamación, fibrosis y vasos de neoformación ($p > 0.05$), al comparar el grupo control con las muestras tomadas a los dos, siete, 14 y 21 días en los grupos 1 y 2, en los que se instiló DDAC a las concentraciones mínimas inhibitorias para las cepas de *Escherichia coli* (512 µg/ml) y *Enterococcus faecalis* (128 µg/ml), sin embargo, la diferencia fue estadísticamente significativa a los dos días en el grupo 2 para la inflamación ($p = 0.026$), cambio que remitió en las muestras tomadas a los siete, 14 y 21 días. Todas las ratas sobrevivieron durante los 30 días de observación posteriores a la biopsia.

En la figura 1 se muestra el peritoneo normal, en la figura 2 con cambios moderados (++) y en la figura 3 los cambios más importantes (+++); las flechas señalan los cambios más representativos.

Discusión

En el tratamiento de la peritonitis todavía existen muchos problemas por resolver, si bien es cierto que la mortalidad ha disminuido gracias a los avances en el manejo de los pacientes con sepsis de origen peritoneal, a las adecuadas y oportunas medidas de sostén cardiovasculares, respiratorias y renales, a la corrección de las alteraciones hemodinámicas y metabólicas, al uso apropiado de fármacos vasoactivos, antibióticos y de otros medicamentos, así como al apoyo nutricional.^{4,27,28} Sigue siendo válido el criterio de la eliminación de focos sépticos, con la extirpación de órganos infectados y drenado de abscesos, así como la limpieza de la cavidad peritoneal, sin embargo, no existe acuerdo unánime en cuanto a cuál es el mejor líquido para efectuar el lavado peritoneal.^{29,30}

A través de los años un reto para los cirujanos y los investigadores ha sido encontrar el líquido ideal para el lavado peritoneal, que tenga propiedades antisépticas pero que al mismo tiempo produzca el menor daño posible en el peritoneo parietal y en el visceral. Tradicionalmente se ha utilizado solución fisiológica con temperatura similar a la corporal, aunque en fiebre elevada puede utilizarse a una

Cuadro I. Análisis estadístico con prueba de Mann-Whitney

	Inflamación	p	Fibrosis	p	Angiogénesis	p
2 Días						
GC contra G1	14.0	0.209	21.0	0.710	21.0	0.710
GC contra G2	7.0	0.026	10.5	0.073	10.5	0.073
7 Días						
GC contra G1	10.5	0.073	21.0	0.710	21.0	0.710
GC contra G2	10.5	0.073	24.5	1.00	24.5	1.00
14 Días						
GC contra G1	14.0	0.209	14.0	0.209	14.0	0.209
GC contra G2	17.5	0.383	17.5	0.383	17.5	0.383
21 Días						
GC contra G1	14.0	0.209	14.0	0.209	24.5	1.0
GC contra G2	14.0	0.209	17.5	0.383	14.0	0.209

Comparación de las alteraciones (inflamación, fibrosis y angiogenesis) en los estudios histológicos de las muestras tomadas a los dos, siete, 14 y 21 días. Grupo control (GC) = solución fisiológica. Grupo 1 (G1) = concentración mínima inhibitoria de DDAC para *Escherichia coli* ATCC 25922 (512 µg/ml). Grupo 2 (G2) = concentración mínima inhibitoria de DDAC para *Enterococcus faecalis* ATTC 29212 (128 µg/ml).

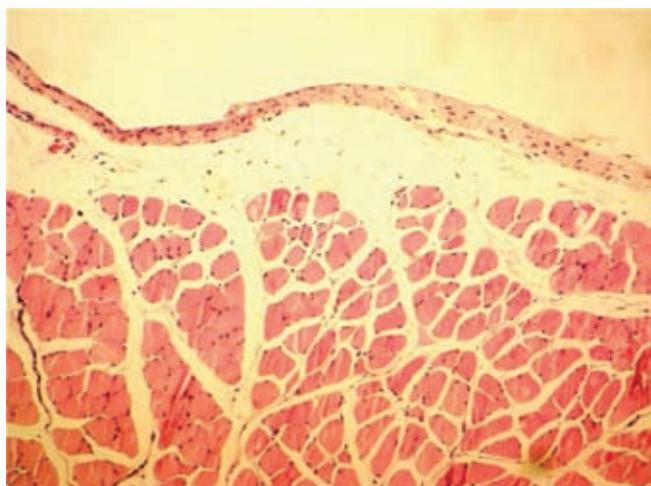


Figura 1. Peritoneo de rata normal, sin evidencia de proceso patológico. Hematoxilina y eosina (400×).

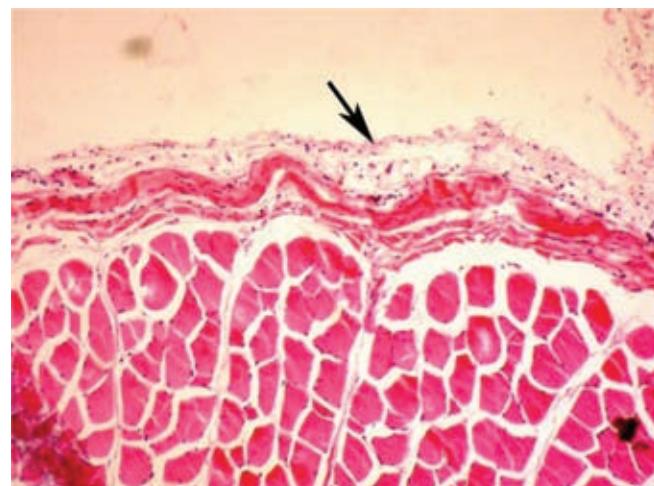


Figura 2. Peritoneo de rata con infiltrado de linfocitos y macrófagos con edema intersticial en el peritoneo parietal (inflamación +++). Hematoxilina y eosina (400×).

temperatura menor, al respecto existen investigaciones en las que se demuestra que la solución fisiológica produce daño mínimo del mesotelio peritoneal.³¹ Para mejorar las propiedades antisépticas de la solución fisiológica se le han agregado diferentes sustancias antisépticas y antimicrobianos, sin que exista un criterio unánime en cuanto a la sustancia ideal.^{10-15,24,30-33}

Por las propiedades de secreción y absorción de la membrana peritoneal es importante que las sustancias que se agregan produzcan el menor daño local posible y no se absorban, ya que al pasar a la circulación pueden ocasionar alteraciones en otros órganos.¹ En relación con los antibióticos, muchos de los que actúan sobre los gérmenes patógenos de la peritonitis, como los aminoglucósidos, pueden provocar daño

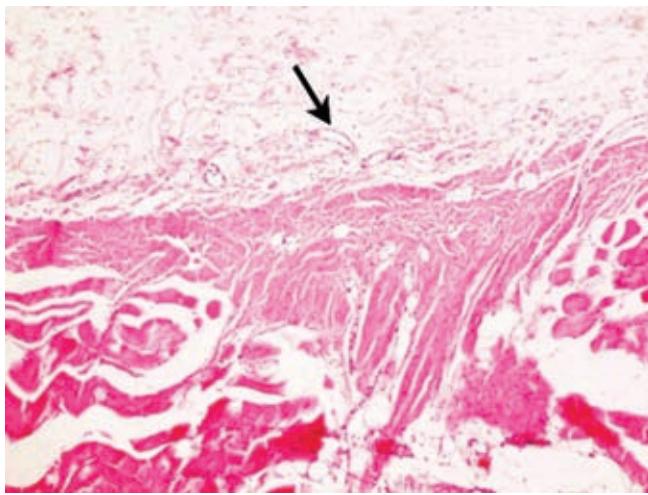


Figura 3. Reacción inflamatoria peritoneal con proliferación vascular y depósito de matriz extracelular (vasos de neoformación y fibroplasia). Hematoxilina y eosina (400×).

renal, por lo que es necesario valorar su función, calcular la depuración del antimicrobiano, tomar en cuenta la absorción peritoneal y, de ser posible, dosificarlo en sangre o sustituirlo por otro que no dañe al riñón. Otros antibióticos como la kanamicina y la neomicina dan lugar a inhibición del reflejo respiratorio, por lo que ya no se emplean.^{4,9,28,34}

Estudios bacteriológicos de control demuestran la utilidad de los detergentes enzimáticos como el DDAC en la limpieza, antisepsia y esterilización del instrumental quirúrgico y endoscopios.^{19-20,22,24} Existen informes de infecciones de tejidos blandos en extremidades de enfermos diabéticos y de infecciones de la pared abdominal por organismos anaerobios en las que los resultados fueron satisfactorios, pero no hay informes de su uso en individuos con peritonitis, del daño que pueda producir esta sustancia tanto en el peritoneo y en otros sitios distantes al absorberse y pasar a la circulación, lo que nos motivó para emprender esta línea de investigación.^{20,22,24}

En este estudio no se observó la formación de adherencias, por lo que no se incluyó la valoración macroscópica de las mismas. Los resultados demuestran que no existe diferencia con valor estadístico entre las alteraciones histológicas en el peritoneo de ratas Wistar ocasionadas por la solución fisiológica, al compararlas con la solución de DDAC a la CMI para *Escherichia coli* o *Enterococcus faecalis*, los gérmenes más frecuentes como causa de peritonitis; la única diferencia significativa fue en la inflamación del grupo 2 a los dos días, cambio que remitió y no se encontró a los siete, 14 y 21 días, sin embargo, consideramos que es necesario realizar más análisis con el fin de determinar la absorción del DDAC, su posible acción en órganos distantes y su posible daño.

Es importante destacar que la concentración del detergente enzimático DDAC recomendada para desinfección de material quirúrgico es de 5000 µg/ml, que se obtiene al disolver un sobre de 20 g de la presentación comercial en 4 l de agua; una dilución 1:10 cubre la CMI para *Escherichia coli* y una dilución 1:40 para *Enterococcus faecalis* pero no para *Escherichia coli*, por lo que para fines prácticos recomendamos para el tratamiento de heridas infectadas o el lavado peritoneal la dilución de 1:10 de la solución utilizada para la esterilización del material quirúrgico.

Conclusiones

No existe una diferencia significativa en relación con los cambios histológicos en el peritoneo de la rata Wistar al utilizar solución fisiológica o el detergente enzimático DDAC, a una dilución de 1:10 y 1:40 de la concentración utilizada para la limpieza y esterilización del material quirúrgico, sin embargo, es necesario realizar estudios para determinar posibles alteraciones en el pH, osmolaridad, electrólitos, su absorción y la toxicidad en otros órganos.

Referencias

- Hall JC, Heel KA, Papadimitriou JM, Platell C. The pathobiology of peritonitis. Gastroenterology 1998;114:185-196.
- Carrasco RA, Hernández CJR, García RLE. Fisiología de la peritonitis. En: AMCG, CMCG, eds. Tratado de cirugía general. Segunda edición. México: Manual Moderno; 2008. pp. 295-304.
- Wittman DH, Schein M, Condon R. Management of secondary peritonitis. Ann Surg 1996;24:10-17.
- Ordoñez C, Puyana J. Management of peritonitis in critically ill patient. Surg Clin North Am 2006;86:1323-1349.
- Broche F, Tellado JM. Defense mechanism of the peritoneal cavity. Curr Opin Crit Care 2001;7:105-116.
- Holzheimer RG, Dralle H. Paradigm change in 30 years peritonitis treatment: a review on source control. Eur J Med Res 2001;6:161-168.
- Foley JA, Herrick ES. Evidence for incorporation of free floating mesothelial cell as a mechanism of serosal healing. J Cell Sci 2002;115:1383-1389.
- Blot S, De Waele J. Critical issues in the clinical management of complicated intrabdominal infections. Drugs 2005;65:1611-1620.
- Salas RJ, Ruiz SO. Peritonitis. En: Gutiérrez-Samperio C, Arrubarrena AVM, Campos CSF, eds. Fisiopatología quirúrgica del aparato digestivo. Tercera edición. México: Manual Moderno; 2006. pp. 501-512.
- Van Goor H. Interventional management of abdominal sepsis: when and how. Arch Surg 2002;387:191-200.
- Anaya DA, Nathens AB. Risk factors for severe sepsis in secondary peritonitis. Surg Infect 2003;4:355-362.
- Alfa MJ, Jackson M. A new hydrogen peroxide-based medical-device detergent with germicidal properties: comparison with enzymatic cleaners. Am J Infect Control 2001;29:168-177.
- Selkon JB, Babb JR, Morris R. Evaluation of the antimicrobial activity of a new superoxidized water, Sterilox, for the disinfection of endoscopies. J Hosp Infect 1999;41:59-70.

14. Ayala LA. Lavado peritoneal como solución salina vs. yodopovidona en peritonitis experimental. En: Patino JF. Infección quirúrgica. Bogotá: Centro Médico de los Andes; 1989. pp. 191-198.
15. Mares SJ, Tejeda TH, Garibay GF, Valenzuela RM. Polietilenglicol vs. solución salina para la prevención de adherencias peritoneales postoperatorias en ratas. Estudio experimental. Rev Sanid Milit Mex 2006;60:401-405.
16. Marsall J, Innes M. Intensive care unit management of in abdominal infection. Crit Care Med 2003;3:2228-2237.
17. Rodríguez HR, Quintana ChR, Sánchez PM. El procedimiento de limpieza como garantía del proceso de esterilización. Rev Cubana Hig Epidemiol 2002;40:176-188.
18. Mona A, Therti A, Faik A. Assessment of enzymatic agents and disinfectants against bacterial films. J Pharmaceut Sci 2004;7:55-84.
19. Parikh C, Sippy BD, Martin DF, Edelhauser HF. Effects of enzymatic sterilization detergents on the corneal endothelium. Arch Ophthalmol 2002;120:165-172.
20. Hobson D, White E, Anderson L. Use of a new quantitative method to evaluate the action of enzymatic, wound debriding agents in vitro. Wounds 1996;73:15-22.
21. Woods A, Moyer S, Jackson S. Amazing stability of phosphate-quaternary amine interactions. J Proteom Res 2008;7:3423-342.
22. Hutchisson B, LeBlanc C. The truth and consequences of enzymatic detergents. Gastroenterol Nurs 2005;28:373-376.
23. Aguayo MJ. Cómo seleccionar correctamente un detergente enzimático. Desarrollo Científ Enferm 200;10:280-281.
24. Allen G. Enzymatic detergent use for gastroscope cleaning; surgical hand disinfectants; instrument decontamination; residual protein levels. Evidence Practice 2006;84:863-868.
25. NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. 4th ed. Approved Standard. NCCLS Document M7-A4; 1997 (ISBN 1-56238-309-4).
26. Baker CN, Thornsberry C, Hawkinson RW. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility tests: evaluation of the overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. J Clin Microbiol 1983;17:450-457.
27. Daniel WW. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Cuarta edición. México: Limusa Wiley; 2006. pp. 678-684.
28. Gutiérrez-Samperio C. El paciente quirúrgico en estado crítico. Avances en el proceso diagnóstico terapéutico. Gac Med Mex 2000;136:353-360.
29. Dellinger P, Carlet J, Masur H. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Crit Care Med 2004;32:858-873.
30. Rocha-Almazán H, Sánchez-Aguilar M, Belmares-Taboada J, Esmer-Sánchez D, Tapia-Pérez JH, Gordillo-Moscoso A. Infección en el sitio operatorio en cirugía abdominal no traumática. Cir Cir 2008;76:127-131.
31. Nachón GF, Díaz TJ, Nachón GG. Tolerancia peritoneal a la solución de alta selectividad iónica con pH neutro en ratas macho Wistar. Rev Med Univ Veracruz 2005;5:15-19.
32. Maleckas A, Daubaras D, Vaitkus V, Aniulene A, Dirzinauskas E, Rakauskas M, et al. Increased postoperative peritoneal adhesion formation after the treatment of experimental peritonitis with clothecidine. Arch Surg 2004;389:256-260.
33. Rutala AW, Weber JD. New disinfection and sterilization method. Emerg Infect Dis 2001;7:2-5.
34. Schein M, Saadia R. Peritonitis: contamination and infection, principles of treatment. In: Schein M, Rogers P, eds. Schein's Common Sense Emergency Abdominal Surgery. 2nd ed. New York: Springer; 2005. pp. 95-101