

Aplicación de la ozonoterapia en diferentes enfermedades oftalmológicas: estudio de 59 casos (Ozone therapy application in different ophthalmologic diseases: study of 59 cases).

Ivan Vigna¹, Silvia Menéndez-Cepero^{2,c}

¹Clínica Veterinaria Dr. Vigna. Vía Primo Maggio, 34 40026, Imola, Italia.
ivanvigna@tele2.it

²Clínica Internacional de Ozono, Centro de Investigaciones del Ozono, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba.

^cClínica Internacional de Ozono, Centro de Investigaciones del Ozono, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba. Tel:+537-2719264.
silviamenendez@infomed.sld.cu

RECVET: 2007, Vol. II, Nº 11

Recibido: 16.07.07 / Referencia: 110702_RECvet / Aceptado: 15.10.07 / Publicado: 01.11.07

RECVET® Revista Electrónica de Clínica Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con RECvet® - <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet>

Resumen

El uso satisfactorio de la ozonoterapia en la Oftalmología ha sido ya descrito. Se ha aplicado, tanto en humanos como en animales, la inyección de ozono por vía conjuntival, la insuflación de ozono rectal y el uso del colirio de aceite de girasol ozonizado (OLEOZON®) para la terapia de alteraciones de estructuras localizadas en el segmento anterior del ojo (sobretudo en la queratitis herpética). Teniendo en cuenta el carácter germicida del OLEOZON®, su capacidad de favorecer la cicatrización y su efecto anti-inflamatorio, el objetivo de este trabajo es evaluar su eficacia en gatos afectados de queratitis herpética y clamidiosis, así como en úlceras corneales (herpéticas o traumáticas) y en úlceras corneales tratadas con trasplantes conjuntivales. Este estudio se realizó en gatos de diferente origen y edad. Se aplicó colirio de OLEOZON®, cada 8 horas, como tratamiento local sobre las lesiones. La evaluación se realizó cada 72 horas y en el caso de los trasplantes conjuntivales cada 4 horas. El criterio de curación fue la desaparición de la inflamación y la cicatrización de la úlcera. En comparación con las terapias farmacológicas convencionales conocidas, el tratamiento con el colirio de OLEOZON® fue superior, siendo más simple y más rápido en alcanzar los resultados. En un gato, donde la queratoconjuntivitis herpética indujo un simblefaron, el OLEOZON® lo acentuó, debido a su capacidad de incrementar la expresión de fibroblastos. Esto puede considerarse como una contraindicación de este medicamento. Es interesante considerar la buena cicatrización corneal obtenida con este tratamiento. No se observaron reacciones adversas durante el estudio.

Palabras claves: Ozonoterapia | OLEOZON® | gatos | queratitis herpética | clamidiosis | úlcera corneal | trasplantes conjuntivales.

Abstract

The satisfactory use of ozone therapy in the field of Ophthalmology has been described. For the therapy of alterations in structures localized in the eye anterior segment (mainly in herpetic keratitis), in humans and Veterinary, the subconjunctival application of ozone and the use of ozonized sunflower oil (OLEOZON[®]) collyrium, in conjunction with ozone rectal insufflation, thanks to its immunomodulatory effect, are well known. Taking into account the OLEOZON[®] germicide power, its capacity to favor cicatrization and anti-inflammatory effect, the aim of this paper is to evaluate its efficacy applying it in cats affected by herpetic keratitis and chlamydiosis, as well as in corneal ulcer (herpetic or traumatic) and in corneal ulcer treated with conjunctival grafts. This study was performed in cats of different origin and age. Local treatment over the lesions was applied using OLEOZON[®] collyrium, every 8 hours. Evaluation was performed every 72 hours and every 4 hours in conjunctival grafts. The healing criteria were inflammation disappearance and ulcer cicatrization. In comparison with known pharmacological conventional therapies, the OLEOZON[®] collyrium treatment was superior, more simple and more rapid in achieving results. In one cat, where the herpetic queratoconjunctivitis induced a symblepharon, OLEOZON[®] accentuated it, due to its capacity to increase fibroblast expression. This can be considered as a contraindication of this medication. It is interesting to consider the good corneal cicatrization obtained with this treatment. No side effects were observed during the study.

Key words: Ozone therapy | OLEOZON[®] | cats | herpetic keratitis | chlamydiosis | corneal ulcer | conjunctival grafts.

1. Introducción

En Cuba, la Ozonoterapia en Oftalmología ha sido principalmente estudiada, como alternativa al tratamiento de retinosis pigmentaria,¹⁻⁴ del glaucoma,⁵⁻⁷ de la degeneración macular asociada a la edad,⁸⁻¹¹ de la queratoconjunctivitis y de la úlcera corneal.¹²⁻¹⁴

En el caso de presentarse una enfermedad en el segmento anterior del ojo, sus estructuras necesitan de una vascularización y de una rápida cicatrización, así como de requerir de una acción antibacteriana y antiviral.¹⁵ Teóricamente en este caso, la ozonoterapia puede ser indicada considerando que estas patologías son difíciles de solucionar usando las terapias convencionales y necesitan además de tiempos prolongados de tratamiento.

En Japón han sido realizados algunos trabajos¹⁶ interesantes con soluciones (agua destilada o suero fisiológico) ozonizadas para la desinfección pre-quirúrgica. En Polonia se ha utilizado un colirio de agua destilada ozonizada en conjunctivitis virales y degeneración corneal, después de eventos inflamatorias y quemadas químicas.¹⁷ Estas soluciones ozonizadas deben ser utilizadas tan pronto sea ozonizada, pues con el tiempo y de acuerdo a la temperatura, el ozono se convierte en oxígeno y por tanto, se pierden sus cualidades desinfectantes.

El OLEOZON[®] se obtiene por la reacción del ozono con el aceite de girasol en condiciones apropiadas, obteniéndose aldehidos, ácidos carboxílicos, junto a hidroperóxidos, ozónidos y otras especies peroxídicas.¹⁸ Ya ha sido registrado en Cuba para el tratamiento de la tinea pedis, impétigo y giardiasis. Este producto presenta un gran carácter germicida. Se ha comprobado tanto, *in vitro* como *in vivo*, su efecto antimicrobiano contra virus, bacterias y hongos,¹⁹⁻²² incluido el tratamiento de infecciones producidas por cepas multiresistentes.²³ Por otro lado, los estudios toxicológicos han demostrado que este producto no es mutágeno ni genotóxico y no presenta efectos adversos en los pacientes

tratados.²⁴⁻²⁷ Además tiene una estabilidad de más de 2 años guardado el medicamento entre 8 y 10 °C.

Teniendo en cuenta el gran poder germicida del OLEOZON[®], su capacidad de favorecer la cicatrización y su efecto anti-inflamatorio, el objetivo de este trabajo es evaluar su eficacia en gatos afectados por queratitis herpética y conjuntivitis por *Chlamidiophila Felis*, así como en úlceras corneales profundas y úlceras corneales tratadas con trasplantes conjuntivales.

2. Materiales y métodos

Este estudio retrospectivo se llevó a cabo en 59 gatos con diferentes problemas en el segmento anterior del ojo. Muchos de estos gatos vivían en un asilo en Imola (32 gatos), los otros fueron traídos por sus dueños a nuestra clínica para una visita oftalmológica.

Se realizó una evaluación oftalmoscópica completa que incluía oftalmoscopia directa e indirecta, test de Schirmmer, examen con lámpara de hendidura, medición de la presión intraocular (PIO) con tonómetro de Schotz, test de retención de la fluoresceína y tinción con rosa de Bengala.

Las enfermedades tratadas fueron:^{15,28-38}

- Queratoconjuntivitis Herpética (24 casos)
- Conjuntivitis por *Chlamidiophila Felis* (17 casos)
- Queratoconjuntivitis mixta por herpes virus, *Chlamidiophila Felis* y micoplasma (7 casos)
- Úlceras corneales profundas de diferentes causas (herpéticas y traumáticas) tratadas médicamente (7 casos)/ quirúrgicamente mediante colgajo (4 casos).

Todos los casos fueron tratados con OLEOZON[®] colirio. En las úlceras corneales se usó también un midriático (Tropicamida 0.12%), tres veces al día, para evitar las sinequias. El seguimiento se realizó cada 4 horas después de la operación del trasplante conjuntival, cada 24 horas en las úlceras corneales y cada 72 horas en los otros casos.

Los resultados se compararon con los descritos en la literatura científica.^{15,28-30, 38}

3. Resultados

3.1. Queratoconjuntivitis herpética

En total 24 gatos, de ellos 15 pertenecían al asilo. El diagnóstico se hizo observando los síntomas clínicos, con coloración por tintura de bengala y en ciertos casos usando el PCR del material conjuntival.^{15,28-43}

Sintomatología: 9 gatos presentaban solo una queratitis simple o úlcera superficial y los otros 15 gatos presentaban queratoconjuntivitis con rinotraqueitis herpética con síntomas inflamatorios de las primeras vías aéreas. En estos 15 casos, para el tratamiento de los síntomas respiratorios, se usó también la terapia de aerosol con solución salina fisiológica.

La terapia tradicional recomienda el uso de colirios o pomadas antivirales y antibacterianas, antibióticos sistémicos y aerosoles.^{15,29,44,45} Usualmente la mejoría es lenta,^{15,36,38} además son frecuentes las úlceras corneales perforadas y las recidivas son extremadamente frecuentes.

En nuestro estudio, el OLEOZON® colirio, administrado con una posología de dos gotas en cada ojo, tres veces al día, nos permitió una rápida mejoría en 5-6 días, no se presentaron casos de úlceras perforadas y un porcentaje bajo de recidivas (8 %), limitadas a la reaparición de una rinoconjuntivitis subaguda en dos gatitos.

Solo en un caso el OLEOZON® colirio resultó contraindicado: cuando el herpes ha inducido un simblefaron. Pensamos que este comportamiento se relaciona con las propiedades del aceite ozonizado de estimular la expresión de fibroblastos y por tanto de acentuar el simblefaron.

3.2. Conjuntivitis por *Chlamidiophila felis*

En total 17 casos, 13 eran gatitos viviendo en la enfermería del asilo, los otros 4 fueron enviados a nuestra clínica por colegas, para una visita especializada.

Chlamidiophila felis es una bacteria intracelular que puede infectar al hombre. Es uno de los más importantes agentes patógenos en el gato. Es responsable de la conjuntivitis aguda severa con quémosis, fotofobia y secreción ocular. Los gatitos de 5 a 9 semanas de nacido son más afectados y no se asocia nunca con queratitis. El diagnóstico se hace por PCR o inmunofluorescencia del raspado conjuntival.^{15,38}

En los casos severos, como los que hemos descubierto, la terapia consiste en tetraciclina por vía sistémica y tópica cada 8 horas por al menos 2 semanas después de la curación clínica.^{15,38,42,43}

Estos gatitos fueron tratados con OLEOZON® colirio, dos gotas cada 8 horas, en el fornix o fondo del saco. Estos 4 gatitos, que fueron traídos a nuestra clínica para una visita oftalmológica, fueron previamente tratados con la asociación cloranfenicol-tetraciclina sin mejoría alguna, por el contrario la situación empeoraba.

Después de 3 días de tratamiento, todos los gatitos, inclusive los refractarios al tratamiento con antibióticos, mostraron una gran mejoría y después de 10 días de terapia todos los gatos curaron. No ocurrieron recidivas.

3.3. Queratoconjuntivitis mixta (herpesvirus + clamidia + micoplasma)

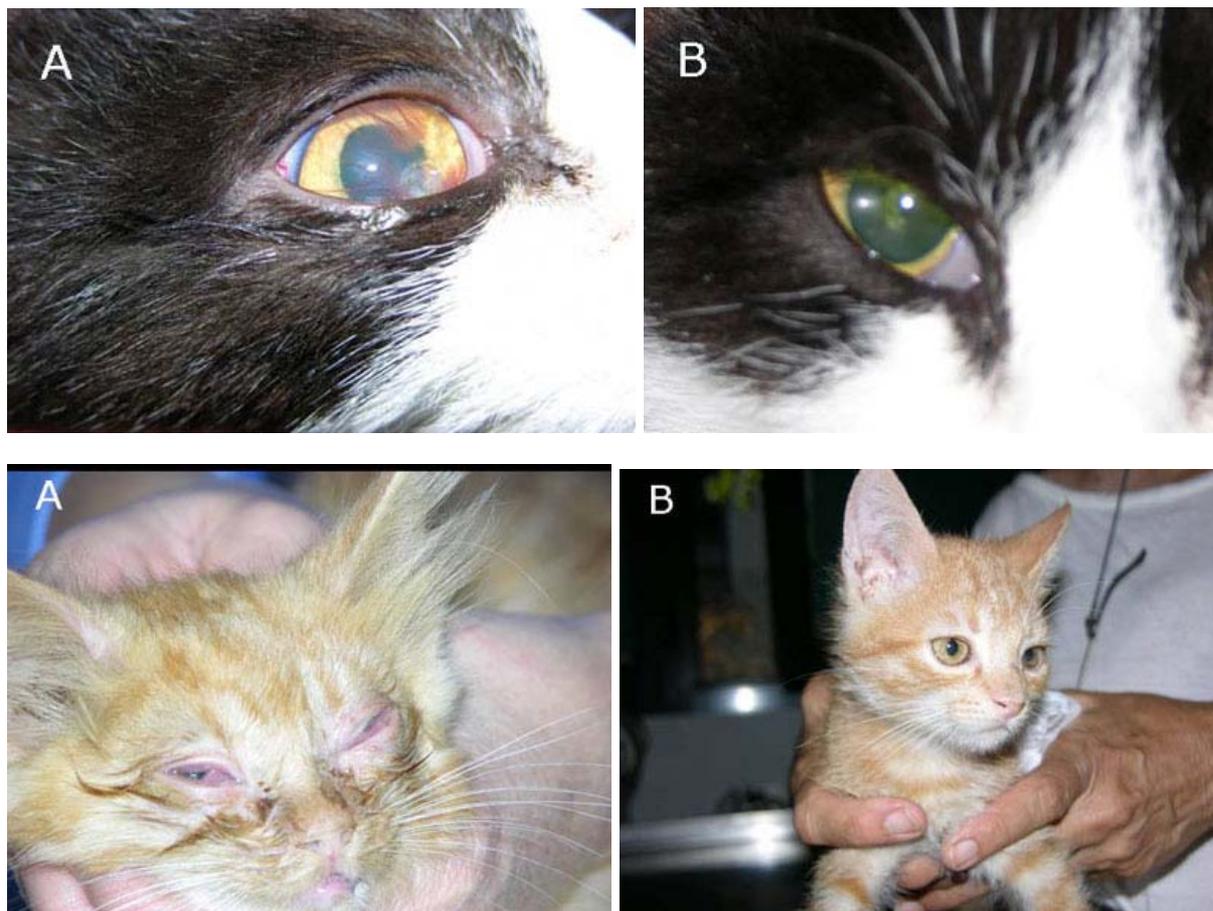
En 7 gatitos tratados por una queratoconjuntivitis se encontró la presencia de:

1. Herpes virus
2. *Chlamidiophila felis*
3. Micoplasma

La sintomatología observada fue similar a una rinoconjuntivitis con quemosis severa, secreción ocular y úlcera corneal.^{15,38} La terapia consistió en OLEOZON® colirio, dos gotas cada 8 horas, además Tropicamida 0.12% (una gota dos veces al día) para evitar probable sinequia. Después de 6 días de terapia, el edema desapareció y después de 15 días se registró una completa resolución de los síntomas con curación de las úlceras corneales. Las figuras 1 y 2 son ejemplos de la evolución de una úlcera corneal y una conjuntivitis aguda severa, debido a la bacteria *Chlamidiophila felis*, respectivamente, después del tratamiento con OLEOZON® colirio.

La importancia de la presencia de Mycoplasma en las queratoconjuntivitis no se conoce,^{15,44} se piensa que es un gregario en presencia de infecciones múltiples.³⁷ No hay literatura específica que relacione estas formas mixtas, por tanto no se pudo comparar estos datos con otros, pero si se puede concluir que estos resultados son también buenos

en comparación con los tratamientos convencionales utilizados para las formas simples de queratoconjuntivitis herpética o de Chlamidiosis.^{15,38,43,45}



La importancia de la presencia de Mycoplasma en las queratoconjuntivitis no se conoce,^{15,44} se piensa que es un gregario en presencia de infecciones múltiples.³⁷ No hay literatura específica que relacione estas formas mixtas, por tanto no se pudo comparar estos datos con otros, pero si se puede concluir que estos resultados son también buenos en comparación con los tratamientos convencionales utilizados para las formas simples de queratoconjuntivitis herpética o de Chlamidiosis.^{15,38,43,45}

3.4. Úlceras corneales profundas (úlceras estromales profundas), descemetocel, úlceras perforadas.

Las úlceras corneales profundas se conocen como las estromales con dimensiones superiores a 1/3 del espesor de la córnea.³⁰⁻³² Usualmente deben ser tratadas con cirugía,^{27,30-32,38} sin embargo, por razones de apuro usamos OLEOZON® colirio, pero solo en aquellos casos en donde la cirugía no fue autorizado por los dueños del animal; en total 7 casos.

Se trataron 2 úlceras perforadas, 1 descemetocel y 4 úlceras profundas. La terapia consistió en OLEOZON® colirio, tres gotas cada 6 horas y Tropicamida 0.12 %, una gota cada 8 horas. Se obtuvo curación en 6 casos; en uno (una úlcera perforada), la córnea cicatrizó, pero no pudimos evitar las sinequias. Una completa curación se obtuvo en las úlceras profundas entre los 7-9 días; para el descemetocel, en 7 días, mientras que para las úlceras perforadas después de 10 días la córnea estaba cicatrizada y en 30 días tenía una apariencia perfectamente transparente (ver figura 3)



3.5. Trasplantes conjuntivales libres y pedunculados tratados con aceite ozonizado

Como regla, cuando tratamos una úlcera profunda se debe escoger la cirugía,^{34,35,38} utilizando una sutura simple con trasplantes conjuntivales pedunculados o utilizando generalmente trasplante con tejidos autólogos. Los trasplantes conjuntivales pueden ser libres o pedunculados, como un puente. A veces la pérdida del tejido corneal es tan importante que resulta difícil de hacer un trasplante pedunculado y solo un trasplante libre puede realizarse.^{34,35,38,40,41}

El problema principal de los trasplantes libres es la pérdida de vascularización, por eso pensamos tratar esos ojos con aceite ozonizado para estimular la creación de una nueva vascularización y a su vez eliminar la bacteria responsable de la colagenolisis, gracias al carácter germicida del OLEOZON®.

Se trató por esta vía a un gato que presentaba una luxación del cristalino en la cámara anterior; el lente estaba subsecuentemente proyectado produciendo una pérdida de tejido corneal enorme.^{15,35,38} Algunos colegas sugirieron la enucleación, pero nosotros tratamos de salvar el ojo a través de una cirugía de trasplante libre tratado con aceite ozonizado. Se trató el trasplante 6 veces por día con 3 gotas de OLEOZON® colirio y Tropicamida 0.12 %, una gota cada 8 horas. Después de 48 horas el trasplante estaba vascularizado y luego, tratándolo 3 veces por día con 3 gotas del OLEOZON® colirio, la córnea se tornó transparente y el ojo se pudo conservar.

En 3 gatos, con úlcera perforada muy grande (uno de ellos presentando luxación del cristalino y proyección del mismo), se aplicó el trasplante pedunculado tratándolo 3 veces por día con 3 gotas del aceite ozonizado. Después de 4 días se cortó el pedúnculo y se continuó la terapia con OLEOZON® colirio, 3 gotas 4 veces al día en el trasplante libre. Este trasplante libre vascularizó en 2 días y en 10 días se obtuvo una integridad corneal (ver figura 4).





4. Discusión

La introducción del ozono en el campo de la Medicina, condicionó la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas relacionadas con la ozonoterapia, tomando en consideración las propiedades químicas que posee este gas y su interacción con las biomoléculas. De esta forma, los aceites de origen vegetal ozonizados se han convertido en un medio adecuado para el tratamiento local de cierto número de enfermedades.⁴⁶⁻⁵¹ Desde el punto de vista terapéutico, el empleo del aceite de girasol ozonizado OLEOZON[®] en lugar del ozono gaseoso, para el tratamiento de enfermedades infecciosas, presenta la ventaja de la mayor estabilidad del mismo, si se compara con el ozono. Esto permite que pueda aplicarse el tratamiento a pacientes de forma ambulatoria, sin requerir la asistencia diaria de estos a la consulta.

La interacción del ozono con moléculas insaturadas, entre ellas, los aceites vegetales, genera la formación de una mezcla de compuestos químicos tales como ozónidos o 1,2,4-trioxolanos y peróxidos.⁵²⁻⁵⁴ Los ozónidos y peróxidos poseen carácter germicida, propiedad que los hace útiles para el tratamiento de heridas infectadas, fístulas y otros procesos sépticos locales.^{21,47,55-58}

Al estudiar el efecto del OLEOZON[®] sobre los microorganismos, se demostró en pruebas *in vitro* e *in vivo* que el mismo presenta un fuerte carácter germicida sobre diferentes bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, cepas multiresistentes a los antibióticos, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922, hongos como *Trichophyton*, *Epidermophyton* and *Microsporium* y levaduras como *Candida albicans*, así como sobre algunos protozoos como la *Giardia lamblia*.^{19-22,59,60}

Del conjunto de estudios realizados puede concluirse que el aceite de girasol ozonizado OLEOZON[®] en cualquiera de sus formas terapéuticas, es un producto antimicrobiano de amplio espectro con actividad inhibitoria y letal sobre bacterias gram positivas, gram negativas, cepas multiresistentes a los antibióticos, especies de *mycobacterium*, levaduras del género *Cándida*, así como de algunos protozoos como la *Giardia lamblia*.

Todas las investigaciones básicas en animales de experimentación sobre la toxicidad del aceite de girasol ozonizado administrado por vía tópica y oral han demostrado que este producto se clasifica entre los de menor toxicidad.^{23-26,61-64} Además, ha pasado satisfactoriamente la prueba de irritabilidad oftálmica.^{26,65}

En general es difícil comparar el OLEOZON[®] colirio con otro colirio, porque no existe uno que reúna todos los efectos que tiene el OLEOZON[®]. No obstante, sería recomendable hacer un estudio comparativo utilizando un grupo control con tratamiento convencional,

así como aumentar el número de casos estudiados, para evaluar la eficacia del OLEOZON®.

En ambos casos en los cuales necesitábamos un efecto antiviral y antibacteriano y en aquellos donde necesitábamos una rápida cicatrización y vascularización, los resultados con OLEOZON® colirio satisficieron las expectativas.

El OLEOZON® puede resolver usado como monoterapia o en terapia asociada al midriático, en las queratoconjuntivitis herpéticas con úlcera y sin úlcera, en la conjuntivitis por Chlamidiofila y en otras formas mixtas.

En la queratoconjuntivitis herpética normalmente hay necesidad de combinar muchas terapias: colirio antiviral cada 2 horas,^{38,45} colirio antibiótico cada 6 horas y para alcanzar la cicatrización, colirio con acetilcisteína o utilizar nandrolone y nucléosidos.^{15,38,45} A pesar de todos estos medicamentos necesarios, la mejoría es lenta y el resultado a veces no es satisfactorio^{15,38,45} y muchas veces hay recidivas.^{15,45} En nuestro estudio, la curación en solo 6 días de terapia con un por ciento de recidiva del 8 % (limitada a la reaparición de una rinoconjuntivitis subaguda) se puede considerar como un buen resultado, en comparación a los datos que aparecen descritos en la literatura.^{15,45}

A veces hay necesidad de combinar el OLEOZON® con el midriático para evitar sinequias, al igual que con la medicina convencional.³⁸

En la conjuntivitis por Chlamidiofila el resultado fue bueno, comparable a la terapia convencional,^{15,42,43} pero sin necesidad de utilizar una terapia sistémica y sin la presencia de recidivas.

Es importante también remarcar que cuatro gaticos con conjuntivitis por Chlamidiofila Felis fueron previamente tratados por 12 días con la asociación cloramfenicol-tetraciclina colirio y la doxiciclina sistémica^{15,42,43} sin mejoría alguna y que con el tratamiento con OLEOZON® se curaron en 10 días sin recidiva alguna.

Cuando se utiliza el OLEOZON® colirio en combinación con la cirugía se consigue estimular, en el postoperatorio, una rápida cicatrización y una adecuada vascularización. Es importante recalcar que en un caso donde la única alternativa era la enucleación, el OLEOZON® lo resolvió satisfactoriamente. Además este medicamento impide las complicaciones bacterianas y disminuye la inflamación.^{60,66}

El resultado con OLEOZON® es bueno sobre todo al considerar que con la terapia tradicional hay que utilizar muchas veces una gran cantidad de fármacos^{34,35,38,40,41} para el tratamiento de una enfermedad, como por ejemplo: colirio antibiótico 6 veces al día, desametazona 3 veces al día, acetilcisteína 6 veces al día.^{15,38} Sin embargo, con el OLEOZON® son solo suficiente 3 ó 4 aplicaciones al día. Por tanto, también debemos considerar la utilidad de este medicamento que solo necesita un número limitado de administraciones diarias, cada determinadas horas, para alcanzar sus resultados satisfactorios.

Esta terapia es también barata, principalmente si consideramos el precio del colirio antiviral, la cual al final no ofrece ventajas con respecto al OLEOZON® colirio.

5. Conclusiones

- En la mayoría de los casos los resultados fueron satisfactorios.
- No se observaron efectos adversos durante el estudio.
- El OLEOZON® colirio fue bien aceptado por los animales.

6. Bibliografía

4. Copello M, Eguía F, Menéndez S and Menéndez N. Ozone therapy in patients with Retinitis Pigmentosa. *Ozone-Sci Eng* 2003;25(3):223-32.
5. Menéndez S, Peláez O, Gómez M y Copello M. Aplicación de la ozonoterapia en la retinosis pigmentaria. *Rev Cubana Oftalmol (Cuba)* 1990;3(1):35-9.
6. Marmer R and Parks S. Ozone treatment in retinitis pigmentosa: effect on color perception and blood gasses. *Ann Ophthalmol* 1998;30(3):161-3.
7. Marmer R and Parks S. Ozone treatment in retinitis pigmentosa: effect on photo stress and contrast sensitivity. *Ann Ophthalmol* 1998;30(3):164-6.
8. Ferrer L, Santos D, Menéndez S y Pérez Z. Ozonoterapia y magnetoterapia: nuevos métodos en la rehabilitación del paciente con glaucoma crónico simple. *Rev Cubana Oftalmol (Cuba)* 1996;9(2):102-9.
9. Ibáñez M, Rodríguez A, Ferrer L y Fernández G. Estudio comparativo de dos métodos terapéuticos en el glaucoma crónico simple. *Rev Cubana Oftalmol (Cuba)* 1996;9(2):110-5.
10. Ferrer L, Varela F y Fernández I. Mecanismo de acción local de la ozonoterapia y su combinación con el campo magnético en pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto estadio inicial. *Rev Cubana Oftalmol (Cuba)* 2004;17(2):1-5.
11. Riva Sanseverino E, Meduri RA, Pizzini A, prantera M and martini E. Effects of oxygen-ozone therapy on age-related degenerative retinal maculopathy. *Panminerva Med* 1990;32:77-84.
12. Diadori A, Bocci V, Carraro F, Nuti A, Corradeschi F, Ferrari G *et al.* Ozonotherapy and age-related macular degeneration: a pilot study. In F. Ceccherelli and F. Giron, eds. *L'Ozonoterapia nel 2000*. Torino: Edizioni Libreria Cortina, 1999:33-45.
13. Viebahn R. Die Senile Makulopathie und Verwandre Erkrankungen. In: E.G. Beck and R. Viebahn-Hänsler, eds. *Ozon-Handbuch. Grundlagen. Prävention. Therapie.* Landsberg, Germany: Ecomed, 1999:1-25.
14. Incarbone F, Perone G, Franzini M, Bertè F and Schmidt M. Atti del Congresso New Developments in the Treatment of Age Related Macular Disease. Gardone Riviera, 22-24 Giugno 1997.
15. Diadori A, Nuti A, Ferrari G, Corradeschi F and Bocci V. Ozone therapy: a new perspective in ophthalmology. *Vision Res* 1996;36(suppl.):418.
16. Bocci V. Oxygen-Ozone Therapy. A critical evaluation. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2002;243-341.
17. Perone G, Incarbone F, Schmidt M and Franzini M. Case report: oxygen-ozone therapy in pigmentary epithelium detachment. *Annali di Ottalmologia e Clinica Oculistica* 1996;CXXII(N. 11):593-7.
18. Guandalini A, Peruccio C y Pizzirani S. *Oftalmologia*. Italia:Poletto Editore, 2006: 1-295.
19. Kashiwagi K, Saito K, Wang YD, Takahashi H, Ishijima K and Tsukahara S. Safety of ozonated solution as an antiseptic of the ocular surface prior to ophthalmic surgery. *Ophthalmologica* 2001;215(5):351-6.
20. Gierek-Lapinska A, Antoszewski Z, Myga B and Skowron J. Preliminary report on using therapeutic ozone in infectious conjunctivitis and keratitis and in corneal degeneration. *Klin Oczna (Poland)* 1992;94:5-6.
21. Díaz M, Hernández F, Alvarez I, Vélez I y Ledea O. 1-H-NMR studies of the ozonation of methyl oleate. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química (Chile)* 1997;42:349-53.
22. Mena L, Menéndez S y Omechevarría E. Efectos del ozono en el tratamiento de la gingivoestomatitis herpética aguda. *Revista Cubana Estomatol (Cuba)* 1994;31:14-9.
23. Lezcano I, Nuñez N, Molerio J y Gómez M. Actividad in vitro del aceite de girasol ozonizado frente a diferentes especies microbianas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1996;27(1-3):46 - 50.
24. Lezcano I, Molerio J, Gómez M, Contreras R, Roura G y Díaz W. Actividad in vitro del OLEOZON® frente a agentes etiológicos de infecciones en la piel. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1998;28(1-3):105-9.

25. Menéndez S, Falcón L, Simón DR and Landa N. Ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis, *Mycoses* 2002;45:329-32.
26. Lezcano I, Nuñez N, Espino M and Gómez M. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil, OLEOZON[®], against staphylococcus aureus and staphylococcus epidermitis. *Ozone-Sci Eng* 2000;22(2):207-14.
27. Llerena C, García G, Molerio J y Menéndez S. Irritabilidad dérmica del OLEOZON[®]. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1995;26:104-9.
28. Martínez G y León OS. Toxicidad aguda dérmica del OLEOZON[®] en ratas y conejos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1995;26:100-4.
29. Remigia A, González Y, Zamora Z y Molerio J. Evaluación genotóxica del OLEOZON[®]. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1998;28(1-3):65-70.
30. Díaz M, García G, García K, Sánchez Y y Tillán J. Evaluación de la irritabilidad dérmica, oftálmica y el efecto sensibilizante del OLEOZON[®] tópico. *Rev. Electrónica de Veterinaria REDVET Vol. VII No.11. Nov 2006.* Disponible en: URL:<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111106.htm>.
31. Dice P. Cornea. In: Gelatt KN, eds. *Veterinary Ophthalmology*. Philadelphia, USA: Lea & Febiger eds, 1981:370.
32. Gelatt KN. *Veterinary ophthalmology*. III Ed. Philadelphia,USA:Lipincott Williams & Wilkins eds,1999:1-50.
33. Barnett KC and Crispin SM. *Feline ophthalmology: an atlas and text*. London:Saunders, 1998:1-100.
34. Fini ME, Cook JR and Mohan R. Proteolytic mechanism in corneal ulceration and repair. *Arch Dermatol Res* 1998;290(Suppl):S12-23.
35. La Croix NC, Van Der Woerd A and Oliviero DK. Nonhealing corneal ulcers in cats: 29 cases (1991-1999). *J Am Vet Med Assoc* 2001;218:733-5.
36. Morgan RV and Abrams KL. A comparison of six different therapies for persistent corneal erosions in dogs and cats. *Veterinary & Comparative Ophthalmology* 1994;4:38-43.
37. Gelatt KN and Gelatt JP. *Small animal ophthalmic surgery*. Edinbourg: Butterworth-Heinemann, 2001:1-50.
38. Bussieres M, Krohne SG, Stiles J and Townsend WM. The use of porcine small intestinal submucosa for the repair of full-thickness corneal defects in dogs, cats and horse. *Vet Ophthalmology* 2004;7:352-9.
39. Nasisse MP, Guy JS, Davidson MG. Experimental ocular herpesvirus infection in the cat. Sites of virus replication, clinical features and effects of corticosteroid administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:1758-68.
40. Cole BC, Golightly L and Ward JR. Characterisation of Mycoplasma strains from cats. *J Bacteriol* 1967;94:1451-8.
41. Bernard C. *Ophthalmologie Vétérinaire*, France:Collection Médecine Vétérinaire; 1997:1-65.
42. Andrew SE. Ocular manifestations of feline herpesvirus. *J Feline Med Surg* 2001;3:9-16.
43. Andrew SE, Tou S and Brooks DE. Corneoconjunctival transposition for the treatment of feline corneal sequestra (1990-1998). *Vet Ophthalmology* 2001;4:107-11.
44. Featherstone HJ and Sansom J. Intestinal submucosa repair in two cases of feline ulcerative keratitis. *Vet Rec* 2000;146:136-8.
45. Rampazzo A, Appino S and Pregel P. Prevalence of chlamydia felis and feline herpesvirus 1 in cats with conjunctivitis in northern Italy. *J Vet Intern Med* 2003;17:799-807.
46. Ramsey DT. Feline Chlamydia and calicivirus infections. *Vet Clin N Am-Small Anim Pract* 2000;30:1015-28.
47. Cole BC, Golightly L and Ward JR: Characterization of Mycoplasma strain from cats. *J Bacteriol* 1967;94:1451-8.
48. Williams DL, Fitzmaurice T and Lay L. Efficacy of antiviral agents in feline herpetic keratitis: results of an in vitro study. *Curr Eye Res* 2004;29:215-8.
49. Herman S. Antiviral pharmaceutical compositions comprising a terpene ozonide. Patent US, 5,086,076, 4, 2, 1992.

50. Sánchez P, Díaz G, Rodríguez E y Leyva E. Acción del aceite ozonizado sobre la cicatrización de heridas de piel en animales de experimentación. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1998;29:181-6.
51. DeVille RL. Ozonide esters and topical compositions. Patent US, 4,591,602, 27, 5, 1986.
52. Viebahn R. The use of ozone in Medicine. 5th edition. Huegelsheim, Germany:Odrei-Publishers, 2007:63.
53. Pryor W and Wu M. Ozonation of methyl oleate in hexane, in a thin film, in SDS micelles and in distearoylphosphatidicholine liposomes: Yields and properties of Criegee ozonides. *Chem Research Toxicol* 1992;5:505-10.
54. Rebrovic L. The peroxidic species generated by ozonolysis of oleic acid or methyl oleate in a carboxylic acid medium. *JAOCS* 1992;69:159-65.
55. Díaz M, Lezcano I, Moleiro J and Hernández F. Spectroscopic characterization of ozonides with biological activity. *Ozone Science & Engineering* 2001;23(1):35-41.
56. Ledea O. Estudio de la composición química del aceite de girasol ozonizado OLEOZON[®]. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Químicas, CNIC (La Habana, Cuba), 2003.
57. Díaz MF, Gavín JA, Gómez M, Curtielles V and Hernández F. Study of Ozonated Sunflower Oil Using ¹H NMR and Microbiological Analysis. *Ozone Science & Engineering* 2005;28:1-5.
58. Molerio J, Contreras R, Tamame B, Gómez M y Roura G. Estabilidad térmica y carácter biocida de los compuestos peróxidos del aceite de girasol y su fracción ácida. *Revista CENIC Ciencias Químicas (Cuba)* 1989;20(1-2-3):125-9.
59. Cruz O, Menéndez S, Reyes O y Díaz W. Aplicación de la ozonoterapia en el tratamiento de conductos radiculares infectados. *Revista Cubana de Estomatología (Cuba)* 1994;31(2):47-51.
60. Cruz O, Menéndez S, Martínez ME y Clavera T. Aplicación de la ozonoterapia en el tratamiento de la alveolitis. *Rev Cubana Estomatol (Cuba)* 1997;34(1):21-4.
61. Falcón L, Menéndez S, Daniel R, Garbayo E, Moya S y Abreu M. Aceite ozonizado en Dermatología. Experiencia de 9 años. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1998;29(3):192-5.
62. Amoroto M, Fernández M, González ME, Escobedo A, Palomino A, Menéndez S et al. Eficacia del aceite ozonizado (Oleozone) en el tratamiento de la giardiasis. Ensayo clínico fase III, aleatorizado, abierto y controlado. *Rev. Cubana de Farmacia (Cuba)* 2002;36(Suplem. Especial No.2):173-5.
63. Sechi IA, Lezcano I, Nuñez N, Espim M, Dupre I, Pinna A et al. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (OLEOZON). *J Appl Microbiol* 2001;90:279-84.
64. Fernández SI, Quinsán C y Menéndez S. Evaluación mutagénica del aceite ozonizado administrado intragástricamente. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1989;20:14-8.
65. Noa M, Fernández F y Herrera M. Estudio histológico de vías digestivas de ratones tratados con aceite ozonizado. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1989;20:23-4.
66. Remigio A, González Y, Zamora Z, Fonseca G y Moleiro J. Evaluación genotóxica de OLEOZON[®] mediante los ensayos de micronúcleos en médula ósea y sangre periférica de ratón. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1998;29:200-6.
67. Acevedo F, González J y Moleiro J. Ensayo de toxicidad dérmica de 120 días del aceite ozonizado, OLEOZON[®], en ratas Cenp. SPRD. *Avances en Biotecnología Moderna (Cuba)* 1997;4:T-4.
68. Tillán J. Irritabilidad oftálmica del aceite de girasol en conejos. Registro médico OLEOZON[®] pinceladas. Aplicación en epidermofitosis. Registro Sanitario No. 1498, Centro para el Control Estatal de Calidad de los Medicamentos, 1999.
69. Martínez G, Merino N, Sam S y Cenarega T. Efecto histológico y bioquímico del OLEOZON[®] en el modelo de la cola de ratón. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)* 1997;28:31-5.