



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“EFECTO DE LOS ACEITES DE OLIVA Y SOYA OZONIZADOS EN LA
CICATRIZACIÓN DE HERIDAS POSTQUIRÚRGICAS EN PERROS”**

Tesis previa a la obtención
del título de Médico
Veterinario Zootecnista.

AUTORES:

Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi C.I: 0302301106

José Luis Orellana Parra C.I: 0105525927

DIRECTOR:

Dr. Jaime Maldonado Rivera M.V.Z. Mg. Sc. C.I: 0103631248

CUENCA – ECUADOR

2017



RESUMEN

Algunos estudios clínicos y experimentales han sugerido un efecto beneficioso de la administración del ozono en diferentes patologías animales. El propósito del presente estudio fue evaluar el efecto del uso tópico de los aceites vegetales ozonizados en la cicatrización de heridas postquirúrgicas en perros; puesto no existen investigaciones al respecto. En los experimentos la muestra fue homogénea de 32 perros mestizos, machos, con una condición corporal de 3/5, de uno a cinco años, todos fueron sometidos a una orquiectomía (ORH) preescrotal con una incisión de tres centímetros de largo; se conformaron cuatro grupos: A, B, C, D con ocho animales en cada uno. Los tratamientos empleados fueron: Grupo A: aceite de oliva ozonizado (50 µg/ml), B: aceite de oliva sin ozonizar, C: aceite de soya ozonizado (50 µg/ml) y D: aceite de soya sin ozono. Todos los grupos recibieron 1 ml de los compuestos cada 12 horas durante siete días por vía tópica. Para evaluar la cicatrización macroscópica se utilizó la escala RESVECH V.1.0 al día 0, 2, 4 y 6, se realizaron estudios citológicos postquirúrgicos los días 1, 3 y 5.

Los resultados mostraron que la aplicación tópica del producto, no tuvo un efecto significativo a nivel estadístico. Pero numéricamente con la escala RESVECH V.1.0 se obtuvieron en general un 96,95 % de pacientes con un rango de buena cicatrización y el 3.05 % con una mala cicatrización. En cuanto a la citología se evaluaron la presencia de los polimorfonucleares, con un 93,8 % al día 1 y 3, al día 5 un 75 % indicando que la cicatrización avanza de forma normal para todos los tratamientos sin diferencia. En tanto la presencia células epiteliales, fibrina y bacterias es independiente a los tratamientos aplicados.

Palabras claves: OZONOTERAPIA, OZONO, ACEITE OZONIZADO, CICATRIZACIÓN, HERIDAS, CANINOS.



ABSTRACT

Some clinical and experimental studies have suggested a beneficial effect of the administration of ozone in different animal diseases. The purpose of the present study was to evaluate the effect of topical use of ozonated vegetable oils on the healing of postsurgical wounds in dogs; There are no investigations in this regard. In the experiments the sample was homogeneous of 32 half-blood male dogs, with a body condition of 3/5, from one to five years, all underwent a prescrotal orchiectomy (ORH) with an incision three centimeters long; Four groups were formed: A, B, C, D with eight animals in each. The treatments used were: Group A: ozonized olive oil (50 µg / ml), B: ozone-free olive oil, C: ozonized soybean oil (50 µg / ml) and D: ozone-free soybean oil. All groups received 1 ml of the compounds every 12 hours for seven days topically. RESVECH V1.0 scale at 0, 2, 4 and 6 was used to evaluate macroscopic healing. Postoperative cytological studies were performed on days 1, 3 and 5. The results showed that the topical application of the product did not have a statistically significant effect. However, numerically with the RESVECH V.1.0 scale, 96.95% of patients achieved a good healing range and 3.05% with bad healing. As for cytology, the presence of polymorphonuclear cells was evaluated, with 93.8% at day 1 and 3, at day 5 at 75% indicating that healing progresses normally for all treatments without difference. In as much the presence epithelial cells, fibrin and bacteria is independent to the treatments applied.

Key words: OZONE THERAPY, OZONE, OZONIZED OIL, HEALING, WOUNDS, CANINES.



Contenido

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 19 |
| 1.1. Objetivos | 20 |
| 1.1.1. Objetivo General | 20 |
| 1.1.2. Objetivos Específicos..... | 20 |
| 1.2. Hipótesis..... | 20 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 21 |
| 2.1. La Piel | 21 |
| 2.1.1. Anatomía de la piel | 21 |
| 2.1.2. Funciones de la piel..... | 21 |
| 2.2. La Herida..... | 22 |
| 2.2.1. Definición de herida | 22 |
| 2.2.2. Objetivos del cierre de la herida..... | 23 |
| 2.2.3. Clasificación de las heridas quirúrgicas | 23 |
| 2.3. Cicatrización | 24 |
| 2.3.1. Fases de la cicatrización..... | 25 |
| 2.3.1.1. Fase inflamatoria..... | 25 |
| 2.3.1.2. Fase proliferativa..... | 26 |
| 2.3.1.3. Fase de remodelación..... | 27 |
| 2.3.2. Tipos de cicatrizacion de la herida..... | 29 |



| | |
|---|----|
| 2.4. El Ozono..... | 30 |
| 2.4.1. Definición de ozono. | 30 |
| 2.4.2. Historia..... | 31 |
| 2.4.3. Propiedades físico- químicas del ozono..... | 32 |
| 2.4.4. Generación del ozono..... | 32 |
| 2.4.5. Mecanismo de acción del ozono. | 33 |
| 2.4.6. Acción biológica y efectos terapéuticos..... | 34 |
| 2.4.6.1. Fundamentos terapéuticos. | 38 |
| 2.4.6.2. Consideraciones sobre la dosis de ozono a emplear. | 39 |
| 2.4.7. Principales vías y métodos de aplicación..... | 39 |
| 2.4.8. Consideraciones de empleo..... | 43 |
| 2.4.9. Aplicaciones terapéuticas..... | 43 |
| 2.4.10. Toxicidad y efectos adversos. | 43 |
| 2.5. Aceites Vegetales Ozonizados | 45 |
| 2.5.1. Generalidades..... | 45 |
| 2.5.2. Formación de derivados de la ozonización de ácidos grasos..... | 45 |
| 2.5.3. Preparación de aceites ozonizados..... | 47 |
| 2.5.4. Estabilidad de los aceites vegetales ozonizados..... | 47 |
| 2.5.5. Indicadores de la calidad..... | 48 |



| | |
|--|-----------|
| 2.5.5.1. Técnicas analíticas empleadas en los aceites vegetales ozonizados. | 48 |
| 2.5.6. Mecanismo de acción de los aceites ozonizados..... | 49 |
| 2.5.7. Principales aceites vegetales ozonizados. | 50 |
| 2.6. Escala RESVECH V.1.0 | 52 |
| 2.6.1. Definiciones operacionales de las variables..... | 52 |
| 2.7. Citología..... | 54 |
| 2.7.1. Método de recolección de muestras | 55 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 57 |
| 3.1. Materiales | 57 |
| 3.1.1. Biológicos | 57 |
| 3.1.2. Físicos | 57 |
| 3.1.3. Químicos | 58 |
| 3.2. Métodos..... | 58 |
| 3.2.1. El área de estudio | 58 |
| 3.2.2. Metodología para la investigación experimental | 59 |
| 3.2.3. Tratamientos..... | 60 |
| 3.2.4. Variables a estudiar. | 60 |
| 3.2.5. Análisis de datos. | 60 |
| 3.2.6. Manejo del experimento..... | 61 |



| | |
|--|----|
| 3.2.6.1. Selección de los pacientes | 61 |
| 3.2.6.2. Ozonización de los aceites vegetales. | 61 |
| 3.2.6.3. Preparación del paciente quirúrgico | 62 |
| 3.2.6.4. Protocolo anestésico..... | 62 |
| 3.2.6.5. Intervención quirúrgica | 62 |
| 3.2.6.5.1. Técnica preescrotal..... | 62 |
| 3.2.6.6. Pacientes postquirúrgicos..... | 63 |
| 3.2.6.7. Aplicación de los tratamientos | 64 |
| 3.2.6.8. Escala RESVECH V.1.0 Escala de resultados | 65 |
| 3.2.6.9. Recolección de las muestras para citología..... | 65 |
| 3.2.6.10. Evaluación de los resultados | 66 |
| 4. RESULTADOS | 67 |
| 5. DISCUSIONES | 80 |
| 6. CONCLUSIONES | 85 |
| 7. RECOMENDACIONES | 86 |
| 8. LISTA DE REFERENCIAS | 87 |
| 9. ANEXOS..... | 98 |



Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1: Anatomía cutánea | 22 |
| Figura 2: Activación celular en las fases de cicatrización. | 29 |
| Figura 3: Cicatrización por primera y segunda intención. | 30 |
| Figura 4: Fórmula del ozono. | 31 |
| Figura 5: Generación de ozono por descarga silente..... | 32 |
| Figura 6: Generación plásmica del ozono. | 33 |
| Figura 7: Formación de neovasos con bioperoxoil. | 36 |
| Figura 8: Formación de fibroblastos con bioperoxoil. | 37 |
| Figura 9: Efectos biológicos y terapéuticos del ozono..... | 38 |
| Figura 10: Mecanismo de acción de los aceites ozonizados en el proceso de cicatrización.... | 51 |
| Figura 11: Porcentaje de cicatrización al día 0. | 68 |
| Figura 12: Porcentaje de cicatrización al día 2 | 69 |
| Figura 13: Porcentaje de cicatrización al día 4. | 70 |
| Figura 14: Porcentaje de cicatrización al día 6. | 71 |
| Figura 15: Porcentaje total de los polimorfonucleares..... | 73 |
| Figura 16: Porcentaje total de células epiteliales | 75 |
| Figura 17: Porcentaje total de fibrina..... | 77 |
| Figura 18: Porcentaje total de bacterias. | 79 |



Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Sistema de clasificación de la heridas..... | 24 |
| Tabla 2: Eventos durante las fases de cicatrización de heridas cutáneas. | 28 |
| Tabla 3: Aplicaciones clínicas de la ozonoterapia. | 43 |
| Tabla 4: Datos meteorológicos de la parroquia Nazón. | 59 |
| Tabla 5: ANOVA unifactorial de la escala RESVECH V.1.0 al final del tratamiento..... | 67 |
| Tabla 6: Escala RESVECH V.1.0 al día 0 postquirúrgico. | 67 |
| Tabla 7: Escala RESVECH V.1.0 al día 2 postquirúrgico. | 68 |
| Tabla 8: Escala RESVECH V.1.0 al día 4 postquirúrgico. | 69 |
| Tabla 9: Escala RESVECH V.1.0 al día 6 postquirúrgico. | 70 |
| Tabla 10: Prueba de chi – cuadrado para los polimorfonucleares. | 71 |
| Tabla 11: Presencia de polimorfonucleares en los diferentes días de los tratamientos. | 72 |
| Tabla 12: Prueba de chi – cuadrado para las células epiteliales. | 73 |
| Tabla 13: Presencia de células epiteliales en los diferentes días de los tratamientos. | 74 |
| Tabla 14: Prueba de chi – cuadrado para la fibrina..... | 75 |
| Tabla 15: Presencia de fibrina en los diferentes días de los tratamientos..... | 76 |
| Tabla 16: Prueba de chi – cuadrado para las bacterias..... | 77 |
| Tabla 17: Presencia de bacterias en los diferentes días de los tratamientos. | 78 |



Índice de Anexos

| | |
|--|-----|
| Anexo 1: Mapa de la parroquia Nazón | 98 |
| Anexo 2: Límites de la parroquia Nazón. | 98 |
| Anexo 3: Hoja de campo para el examen físico del paciente. | 99 |
| Anexo 4: Escala RESVECH V.1.0. | 100 |
| Anexo 5: Ficha de laboratorio para citología. | 102 |
| Anexo 6: Máquina generadora de ozono. | 103 |
| Anexo 7: Proceso de ozonización de los aceites. | 103 |
| Anexo 8: Materiales utilizados en el proceso quirúrgico. | 104 |
| Anexo 9: Medición del área de incisión de la herida. | 104 |
| Anexo 10: Realización de la técnica quirúrgica preescrotal. | 105 |
| Anexo 11: Colocación de los aceites ozonizados y sin ozonizar en las heridas. | 106 |
| Anexo 12: Medición de las heridas en los pacientes en los días establecidos para la escala. | 106 |
| Anexo 13: Seguimiento fotográfico en un paciente tratado con aceite de oliva. | 107 |
| Anexo 14: Seguimiento fotográfico en un paciente tratado con aceite de oliva ozonizado... | 108 |
| Anexo 15: Seguimiento fotográfico en un paciente tratado con aceite de soya. | 109 |
| Anexo 16: Seguimiento fotográfico a un paciente tratado con aceite de soya ozonizado. | 110 |
| Anexo 17: Esquema de las heridas al día seis con los diferentes tratamientos. | 111 |
| Anexo 18: Toma de muestras para citología mediante impronta. | 111 |
| Anexo 19: Tinción de Diff quik para las muestras obtenidas. | 112 |
| Anexo 20: Observación de las muestras al microscopio. | 112 |
| Anexo 21: Presencia de polimorfonucleares en las muestras obtenidas de pacientes tratados con aceite de oliva. | 113 |



| | |
|---|-----|
| Anexo 22: Presencia de polimorfonucleares en las muestras obtenidas de pacientes tratados con aceite de oliva ozonizado. | 113 |
| Anexo 23: Presencia de polimorfonucleares en pacientes tratados con aceite de soya. | 114 |
| Anexo 24: Presencia de polimorfonucleares en pacientes tratados con aceite de soya ozonizado. | 114 |
| Anexo 25: Presencia de células epiteliales y de descamación. | 115 |
| Anexo 26: Presencia de bacterias en algunas muestras obtenidas. | 116 |
| Anexo 27: Presencia de fibrina. | 116 |



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Yo Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi autora del trabajo de titulación **“EFECTO DE LOS ACEITES DE OLIVA Y SOYA OZONIZADOS EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS POSTQUIRÚRGICAS EN PERROS”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 12 de septiembre de 2017.

.....
Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi

C.I: 0302301106

**CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL**

Yo José Luis Orellana Parra autor del trabajo de titulación **“EFECTO DE LOS ACEITES DE OLIVA Y SOYA OZONIZADOS EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS POSTQUIRÚRGICAS EN PERROS”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 12 de septiembre de 2017.

.....
José Luis Orellana Parra

C.I: 0105525927



Universidad de Cuenca
Cláusula de Licencia y Autorización para Publicación en el Repositorio Institucional

Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“EFECTO DE LOS ACEITES DE OLIVA Y SOYA OZONIZADOS EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS POSTQUIRÚRGICAS EN PERROS”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 12 de septiembre de 2017.

.....
Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi

C.I: 0302301106



Universidad de Cuenca
Cláusula de Licencia y Autorización para Publicación en el Repositorio Institucional

José Luis Orellana Parra en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“EFECTO DE LOS ACEITES DE OLIVA Y SOYA OZONIZADOS EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS POSTQUIRÚRGICAS EN PERROS”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 12 de septiembre de 2017.

José Luis Orellana Parra

C.I: 0105525927



DEDICATORIA

A mis padres María y Manuel por el apoyo brindado en el transcurso de mi vida para alcanzar mis metas.

A mis hermanas Digna y Jaqueline por todos sus consejos, palabras de aliento y apoyo para la realización de este proyecto.

A mi compañero de tesis José Luis por toda la paciencia brindada y el apoyo incondicional que siempre me ha dado, gracias por estar en todo momento y ayudarme a superarme tanto como persona como profesional.

A mis amigas y amigos con los cuales se compartió momentos inolvidables que perduraran en la memoria por siempre.

*Sonrisa coccígea, mirada inocente
la nariz tan húmeda, corazón caliente.*

*Pantallas que apuntan sonidos lejanos
Buscas con tus ojos mis ojos de amo.*

*Mi mano en tu lomo, vocación eterna
No aspiras a nada, más que a que te quieran.*

G.M.

Diana Maricela.



DEDICATORIA

*“Un país, una civilización se puede juzgar por la forma
en que trata a sus animales.”*

Mahatma Gandhi (1869 - 1948).

Político y pensador indio.

A MIS PADRES: MARINA Y LUIS ALBERTO.

Por su inagotable fuente de amor, combustible que me ha impulsado en mis proyectos.

A DIANITA.

Por su comprensión y paciencia, virtudes invaluableles que han sido nuestros pilares en este trabajo y es la esencia de la vida.

A LA MEMORIA DE BENJAMIN.

Sus huellas son imborrables en nuestros corazones.

José Luis.



AGRADECIMIENTOS

Imposible ganar sin saber perder.....

Imposible andar sin saber caer.....

Imposible acertar sin saber errar.....

Imposible vivir sin saber revivir.....

¡La gloria no consiste en no caer nunca, sino más bien saber levantarse las veces que sea necesario!

Maria Benedetti.

A nuestros padres y familiares por el apoyo brindado en todo momento de nuestra vida para alcanzar nuestras metas.

A nuestro director de tesis Dr. Jaime Maldonado, que nos guio durante todo el proceso de la realización de este trabajo.

A los miembros del tribunal, Dr. Jhonny Narváez, Dr. Julio Zúñiga y Dr. Fredi Carpio por la entereza y tiempo brindado a la revisión del documento.

Al Dr. René Guamán propietario de Ozonomedic, por su apoyo incondicional en el proceso de ozonización de los aceites vegetales requeridos para nuestro estudio.

A nuestros amigos, José Mauricio, Juanito, Adriana, Diana Elizabeth, Andrea los que siempre nos han acompañado en esta autopista de la vida.

Un especial agradecimiento a nuestros pacientes, esos peluditos que con su cariño y encanto nos acompañaron en esta investigación, pues son ellos la razón incansable de nuestra profesión.

Diana y José Luis.



1. INTRODUCCIÓN

Las heridas quirúrgicas limpias y peor aún las contaminadas representan un problema cotidiano para los médicos veterinarios pues dilatan el proceso normal de cicatrización (Sopena Juncosa, 2009). El uso repetido de tratamientos antibióticos para evitar la infección de heridas contribuye a la generación de cepas bacterianas multirresistentes importantes en las enfermedades nosocomiales, a sabiendas que un antibacteriano es un recurso no renovable (Doti, 2009).

La palabra ozono proviene del vocablo griego “ozein” que significa oloroso, es un gas formado por tres átomos de oxígeno (O_3). El Dr. Albert Wolf utilizó el ozono como gas para la desinfección de heridas durante la primera guerra mundial (Ledea, Menéndez, & Días, 2008). La ozonoterapia como alternativa para el tratamiento de heridas ha mostrado resultados alentadores, posee un efecto inmunoestimulante, mejora la división celular y la microcirculación lo que permite la aceleración de los mecanismos fisiológicos que llevan a la reparación tisular (Sánchez *et al.*, 1998). Las cualidades del ozono medicinal permiten tratar patologías: cutáneas, cardiovasculares, endócrinas, inmunomediadas, oncológicas y neurológicas (Avilés *et al.*, 2016). En este contexto países como España, Rusia, Brasil, Cuba, Corea, promueven el uso de terapéuticas alternativas en medicina veterinaria. El uso de aceites vegetales ozonizados ha sido desarrollada para distintas aplicaciones (Scwhartz & Martínez, 2012). Una limitante del ozono es su elevado grado de inestabilidad por lo que reduce su tiempo de conservación, pero al producir una reacción con los ácidos grasos como los que poseen ciertos aceites vegetales se estabilizan por más de dos años (Martínez-Sánchez, Re, Perez-Davison, & Horwat, 2012).



En nuestro país son escasas las publicaciones de esta terapia en animales domésticos. Por su amplia lista de ventajas y los nulos efectos secundarios, es necesario realizar estudios para determinar su efecto en la terapéutica veterinaria; en especial el efecto que tienen los aceites vegetales ozonizados en las heridas postquirúrgicas de los cánidos domésticos. Esto es el aliciente de la presente investigación que busca una terapéutica cicatrizal alternativa eficiente y sin daños para los pacientes.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto cicatrizante de los aceites vegetales ozonizados en heridas postquirúrgicas de castración en pacientes caninos (*Canis familiaris*), mediante estudios citológicos y la aplicación de la escala RESVECH V.1.0.

1.1.2. Objetivos específicos.

- Evaluar el proceso de cicatrización a través de exploraciones citológicas de las muestras tomadas al tejido lesionado y tratado con los aceites ozonizados y sin ozonizar.
- Medir la evolución de las heridas hacia la cicatrización con la escala RESVECH V.1.0 calificando las lecturas en función del tiempo transcurrido.

1.2. Hipótesis

Ha: El aceite de oliva ozonizado tendrá diferente eficacia que el aceite de soya ozonizado al acelerar la cicatrización de las heridas postquirúrgicas en perros.



2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. La Piel

2.1.1. Anatomía de la piel.

Tres de las capas principales de la piel son la epidermis, dermis e hipodermis. La superficie está cubierta por el estrato córneo. Las células vivas de la epidermis comienzan con las células del estrato basal, que migran a través del estrato espinoso, y el estrato granuloso obra como capa transicional, en la cual se liberan gránulos y las células epidérmicas vivientes, los queratinocitos, mueren y son incorporados en el estrato córneo (Ackerman, 2008) (fig. 1).

2.1.2. Funciones de la piel.

Según Miller, Griffin & Campbell (2014) las funciones y propiedades de la piel son:

- Protección contra agentes físicos, químicos y biológicos; con el sistema linfático cutáneo y mecanismos de defensa inespecíficos (ácido linoleico, oleico, palmítico).
- Barrera aislante, evitando la pérdida de agua, electrolitos y macromoléculas.
- Provee flexibilidad, elasticidad y resistencia dando movimiento y forma.
- Produce anexos como glándulas, pelo y uñas.
- Favorece la termorregulación.
- Es un sistema inmunoregulador.
- Percibe estímulos sensoriales
- Secreta y excreta diversas sustancias.

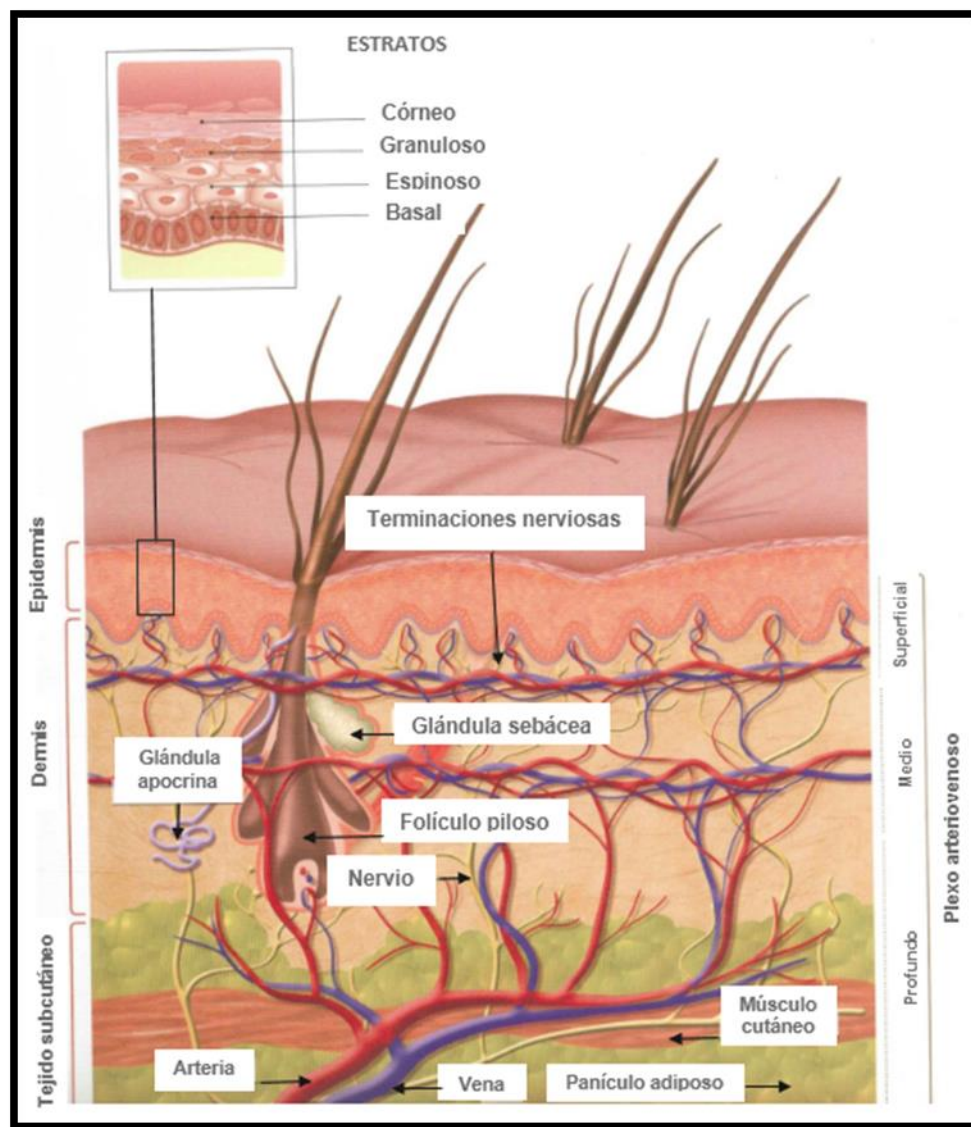


Figura 1: Anatomía cutánea

Fuente: (Llorente, 2013).

2.2. La Herida

2.2.1. Definición de herida.

Es la interrupción anatómica y fisiológica del tejido, causando pérdida de la continuidad de los tejidos blandos (Sopena Juncosa, 2009). Esto puede ocurrir por un daño físico (cirugía), químico o térmico (Torrente & Bosch, 2011).



2.2.2. Objetivos del cierre de la herida.

Una herida es un fenómeno incontrolado, la piel y estructuras adyacentes lesionadas no se recuperan a la perfección. A pesar de un tratamiento adecuado, algunas heridas suturadas desarrollan una infección. Los objetivos principales del tratamiento de la herida son: eliminar complicaciones, recuperar la funcionalidad y reducir la fibrosis (Trott , 2007).

2.2.3. Clasificación de las heridas quirúrgicas.

Se clasifican de acuerdo al grado de contaminación, que ayuda a predecir la posibilidad de que se desarrolle una infección. De acuerdo a Fossum *et al.*, (2013) existe una infección bacteriana cuando hay un aumento de 10⁵ bacterias por gramo de tejido. En un estudio sobre perros y gatos sometidos a cirugías (1000 intervenciones), se determinó que la tasa de infección/inflamación fue del 5,8% y la tasa de infección fue del 3%. La tasa de infección de las heridas limpias varía entre 0 y el 4,4% . Las heridas básicamente son provocadas por traumatismos o por una intervención quirúrgica programada, como se observa en la tabla 1 (Sopena Juncosa, 2009).

**Tabla 1:** Sistema de clasificación de la heridas.

| Clasificación | Grado de contaminación | Duración de la contaminación | Comentarios |
|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|--|
| Limpia | Mínimo | 0 – 6 horas | Heridas quirúrgicas asépticas, sin invasión de sistemas orgánicos. |
| Limpia contaminada | Mínimo | 0 – 6 horas | Heridas quirúrgicas de sistemas orgánicos contaminados. |
| Contaminada | Significativo | 6 – 12 horas | Heridas traumáticas abiertas. Heridas quirúrgicas sin asepsia. |
| Sucias infectadas | Grande | + 12 horas | Heridas traumáticas crónicas. Heridas infectadas. Vísceras perforadas. |

Fuente: Manejo de heridas y principios de cirugía plástica en pequeños animales.

2.3. Cicatrización

Proceso de reparación de un tejido alterado, dando como resultado final la formación de un tejido igual al existente antes de producirse la lesión (Chiappe, 2013). Se necesitan suministros adecuados de nutrientes y oxígeno para una cicatrización eficiente; cuando el aporte sanguíneo disminuye, la cicatrización se retrasa (Marks & Motley, 2012).

Lucha, Muñoz, & Fornes (2008) mencionan conjuntamente con Fossum *et al.* (2013), Leyva (2012) y Chiappe (2013) que la cicatrización comienza en el momento de producirse la lesión y su velocidad de reparación vendrá marcada por una serie de factores, como:

- Daño vascular en la herida que infiere en el aporte nutricional.
- La superficie afectada y su profundidad.
- La zona anatómica afectada.
- Infecciones sistémicas.
- Fármacos que retrasan la cicatrización (AINE's, corticoides, antisépticos, colchicina, etc.).



- Técnica descuidada, sin desbridamiento, puntos apretados, tiempo prolongado.
- Superficies intactas como periostio, tendón o la fascia no sostienen el tejido de granulación.
- Animales gerontes y malnutridos cicatrizan lentamente.
- Enfermedades concomitantes: diabetes, hepatopatía, obesidad, cushing.

Andrades, Sepúlveda, & González (2004) en una reunión de consenso definieron conceptos y guías para clínicos, donde se toma a la cicatrización como:

- Cicatrización ideal: Devuelve la normalidad anatómica y funcional, sin cicatriz externa.
- Cicatrización aceptable: Deja cicatriz, pero devuelve la integridad anatómica y funcional.
- Cicatrización mínima: Deja cicatriz, devuelve la integridad anatómica pero no la funcional.
- Cicatrización ausente: En la cual no se logra restaurar la integridad anatómica ni funcional.

2.3.1. Fases de la cicatrización.

2.3.1.1. Fase inflamatoria.

Desde la herida al tercer o cuarto día (fig. 2). Incluye la hemostasia de la hemorragia por la llegada de plaquetas y la formación del trombo de fibrina (Leyva, 2012). Las plaquetas atraen por quimiotaxis a las células más importantes, neutrófilos y macrófagos que inician la inflamación y se encargan de la limpieza de restos y contaminantes en el lecho de la herida (Guyton & Hall, 2011). Esta fase tiene dos etapas:

- **Hemostasia**

La herida provoca cambios en la arquitectura de la piel que conducen a la retracción de los bordes y a la contracción tisular, que ocasionan una compresión de vénulas y arteriolas. Las plaquetas se agregan en la luz de los vasos lesionados y en las superficies expuestas de la herida. Los factores tisulares de la coagulación activan la cascada de la coagulación y en pocos minutos la herida presenta un coágulo hemostático (Trott , 2007).



- **Inflamación**

Dura entre uno y tres días. Las prostaglandinas, histaminas, serotoninas, y quininas producen vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar. La inflamación se produce por la movilización de leucocitos al área de la lesión en unas cuantas horas, causando edema, dolor, fiebre y eritema en la zona de la herida (Vojvodic & Zevallos, 2010). El incremento de la permeabilidad capilar beneficia la migración de neutrófilos y monocitos al sitio de la lesión. Los neutrófilos son las primeras células en llegar a la lesión para protegerla de agentes extraños y luego son fagocitados por ellos y los macrófagos. Cambios de pH (por bacterias), el edema y la baja oxigenación tisular, producen dolor (Chiappe, 2013).

El número máximo de neutrófilos se alcanza entre las 12 y 24 horas siguientes a la producción de la herida. Su función principal es el control de la proliferación bacteriana y eliminación de la infección. Después de 14 a 48 horas hay un número elevado de macrófagos y hacia el quinto día son las células predominantes en la herida. Estas células desempeñan una función relevante en las repuestas inflamatorias y la formación inicial de fibroblastos y colágeno. Durante la inflamación, el tejido no recobra la fuerza de tensión y depende del material de sutura para mantenerse en aposición (Trott, 2007).

2.3.1.2. Fase proliferativa.

Inicia al segundo día, hasta el séptimo día y puede extenderse tres semanas. Caracterizada por la presencia de fibroblastos y la producción de la matriz intercelular del tejido conectivo. Simultáneamente hay la aparición de los vasos sanguíneos, proceso denominado angiogénesis, como se resume en la tabla 2. El tejido de granulación que caracteriza esta fase está constituido por la presencia de estos dos elementos. Posteriormente aparecen los queratinocitos para producir la reepitelización y finalmente se produce la contracción de la herida (Vojvodic & Zevallos, 2010).



La acumulación de colágeno inicia al quinto día e incrementa la fuerza de tensión de la herida (Más, 2008). También esta fase posee dos etapas citadas a continuación:

- **Epitelización**

Las células basales inician su diferenciación y migración tras perder la epidermis. Inician este proceso los macrófagos y plaquetas al liberar los factores de crecimiento epidérmico. Este proceso puede tardar de dos a cinco días, hasta meses o años en el caso de úlceras crónicas, la distancia máxima que recorre la célula desde el borde es de tres cms., formada una capa el resto se produce por mitosis (Chiappe, 2013).

- **Angiogénesis**

La formación de nuevos vasos es crucial para la reparación de la herida. Estos vasos sustituyen a la red vascular dañada y llevan oxígeno y nutrientes a la herida. La neovascularización es evidente hacia el tercer día y es más activa hacia el séptimo día, lo que explica el aspecto eritematoso de la herida en el momento de retirada la sutura. Estos forman asas de capilares rodeadas por fibroblastos en proceso activo de crecimiento. Estos dos elementos de la superficie de la herida son responsables del aspecto clásico denominado granulación (Marks & Motley, 2012).

2.3.1.3. Fase de remodelación.

De ocho días a un año, comienza igual que el depósito de fibras colágenas y continúa por meses. El fibroblasto es la célula vital, produce fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno; sirven como plataforma para la migración celular y soporte tisular (Vojvodic & Zevallos, 2010). Estos procesos están influidos por una serie de mediadores conocidos como citoquinas y factores de crecimiento, que regulan el proceso de cicatrización normal y patológico (Leyva, 2012).



Esta remodelación se acompaña de cierto grado de contracción de la herida (Trott , 2007). En tejidos blandos dura de dos a seis meses y en tejidos duros hasta dos años. Es la fase de curación o cicatrización, en la que el colágeno repara la herida (Del Pueyo Montesinos, 2011).

- **Contracción**

Movimiento de los bordes al centro de la herida, encogiéndola y cerrándola. Se da por producción de fuerzas de los elementos contráctiles de los fibroblastos (miofibroblastos), liberando colágeno y proteoglicanos, garantizando un nuevo tejido por el afectado (Chiappe, 2013).

Tabla 2: Eventos durante las fases de cicatrización de heridas cutáneas.

| FASE | EVENTOS CLAVE |
|------------------------------|---|
| Respuesta inmediata | Activación de las plaquetas y de la vía de coagulación Formación de coágulo de fibrina Liberación de mediadores inflamatorios |
| Fase de inflamación | Infiltración secuencial de células inflamatorias (neutrófilos, macrófagos, linfocitos). |
| Fase de proliferación | Proliferación y migración celular Angiogénesis Reepitelización Formación del tejido de granulación Fibrogénesis y formación de matriz provisional Contracción de la herida |
| Fase de remodelación | Remodelación del tejido conjuntivo Remodelación de vasos sanguíneos Recuperación de la fuerza tensil |

Fuente: Revista De La Sociedad Española De Heridas (2014).

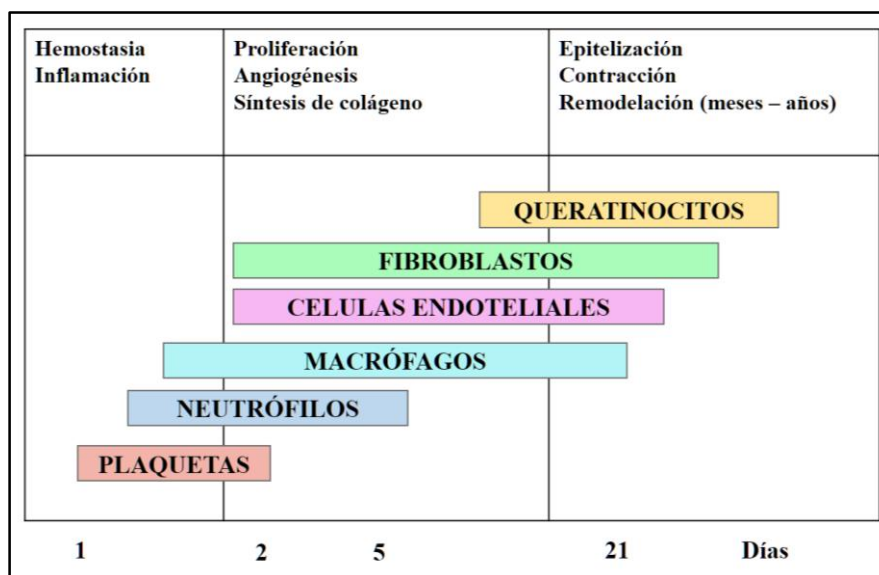


Figura 2: Activación celular en las fases de cicatrización.

Fuente: Lucha, Muñoz, & Fornes (2008).

2.3.2. Tipos de cicatrización de la herida.

Son tres tipos de cierre. Según el tiempo transcurrido desde la lesión, grado de contaminación y desvitalización tisular (Ramírez, 2010):

Cierre primario (primera intención)

Son heridas limpias, no infectadas, por incisión quirúrgica aproximada por suturas quirúrgicas (Gallardo *et al.*, 2009). Aconsejable en cortes limpios, con mínima contaminación y desvitalización tisular. Se cierran con suturas, cintas adhesivas o grapas. La reparación de las heridas es óptima cuando se lleva a cabo en el plazo de 6 a 8 horas desde la lesión (Trott , 2007).

Cierre secundario (segunda intención)

Según Más (2008) es causado por una infección, trauma excesivo y pérdida del tejido. La herida puede dejarse abierta para que cicatrice a partir de las capas profundas de la piel hacia la superficie. Hay formación de tejido de granulación con miofibroblastos y cierra por contracción dejando cicatriz. Es de cicatrización lenta (fig. 3).

Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi
José Luis Orellana Parra



Cierre terciario (cierre primario diferido)

Ciertas heridas son candidatas al cierre tras la limpieza por desbridamiento y observación durante cuatro a cinco días. Son heridas demasiado contaminadas, pero que no presentan una desvitalización tisular relevante. Estas heridas suelen ser antiguas, contienen tierra, heces, saliva, etc. (González Vásquez, 2012).

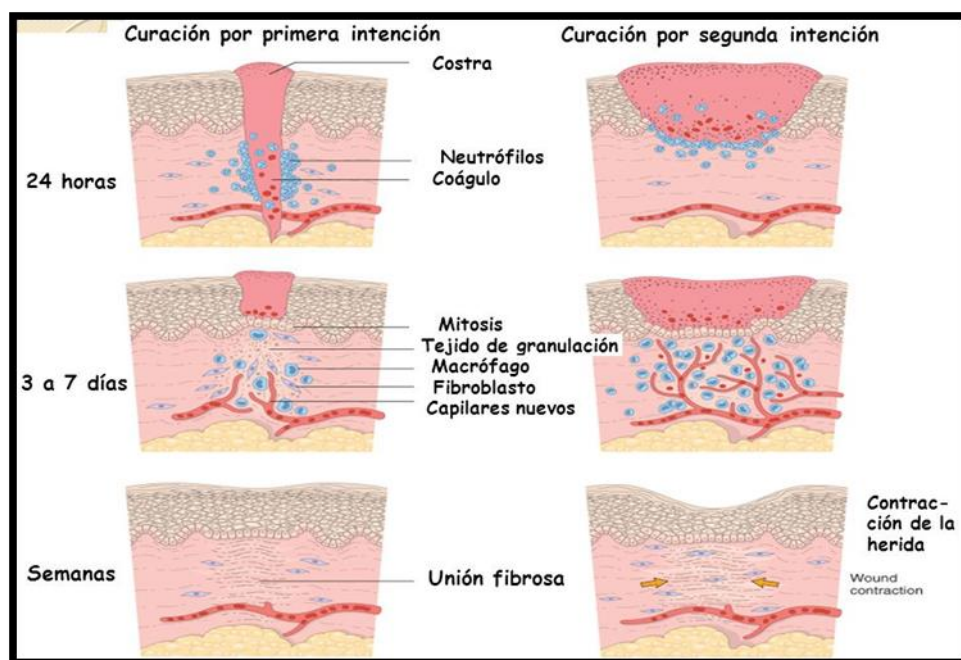


Figura 3: Cicatrización por primera y segunda intención.

Fuente: Robbins and Cotran: Pathologic Basic of Disease, 7th ed. 2005

2.4. El Ozono

2.4.1. Definición de ozono.

Viebahn-Hänsler & Gutzen (2007) mencionan que es un compuesto químico que contiene tres átomos de oxígeno O_3 (oxígeno triatómico), posee una forma altamente energética en comparación al oxígeno atmosférico normal (O_2 diatómico) (fig. 4).

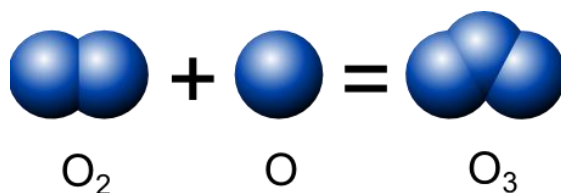


Figura 4: Fórmula del ozono.

Fuente: El uso del ozono en medicina (2007).

La Ozonoterapia, (ozono = gas natural; terapia = tratamiento); es una técnica alternativa que consiste en la utilización del gas ozono, el cual trata de mejorar la calidad de vida humana, animal y vegetal, además normaliza las funciones básicas de nuestro ecosistema. Ésta puede ser aplicada en forma individual o coadyuvar como aditivo complementario con otras terapias, sinergizando la resolución final (Fierro Pozo, 2009).

2.4.2. Historia.

La ozonoterapia inicio en el siglo XVII en el tratamiento de varias patologías. Se lo cita por primera vez por el físico holandés Mak Van Marumom en 1785, quien al pasar una chispa eléctrica a través del aire descubrió una sustancia gaseosa de olor particular y fuertes propiedades oxidantes (Scwhartz & Martínez, 2012).

En 1840 el profesor, Cristian Frederick Schonbein relacionó los cambios con las propiedades del oxígeno y la formación de un gas, al cual denominó ozono. También descubrió su capacidad para unirse con sustratos biológicos en sus dobles enlaces (Martínez-Sánchez, 2013). En la Primera Guerra Mundial, el ozono fue utilizado por vez primera con fines terapéuticos para la curación de heridas y fístulas por Albert Wolff, quien publicó estos resultados en 1915.



En los últimos 35 años la ozonoterapia ha venido extendiéndose a países como Austria, Suiza, Francia, Japón, EE.UU., Italia, España, Rusia, Cuba y otros, por lo que existen actualmente sociedades nacionales de ozonoterapia en muchos países afiliadas a la Asociación Internacional del Ozono (Menéndez *et al.*, 2008).

2.4.3. Propiedades físico- químicas del ozono.

Es el gas más significativo de la estratósfera, su máxima concentración (sobre $1000\mu\text{g}/\text{m}^3$) la alcanza a una altura de 20-30 km. Es un gas inestable, color azul cielo. Es 1,6 veces más denso y 10 veces más soluble en agua que el O_2 . No puede envasarse ni almacenarse, por tanto, debe emplearse de inmediato ya que posee una semivida de 40 minutos a 20°C (Scwhartz & Martínez, 2012).

2.4.4. Generación del ozono.

Hay varios tipos de generadores de ozono médico basados en: corrientes alternas de alta y baja frecuencia, descargas plásmicas, electrosíntesis ya sea por chispa o por descarga silente e irradiación con luz ultravioleta (Menéndez *et al.*, 2008). La descarga silente consiste en aplicar microdescargas efímeras a un par de electrodos, estas descargas eléctricas disocian las moléculas de O_2 que se combinan originando el O_3 (fig.5).

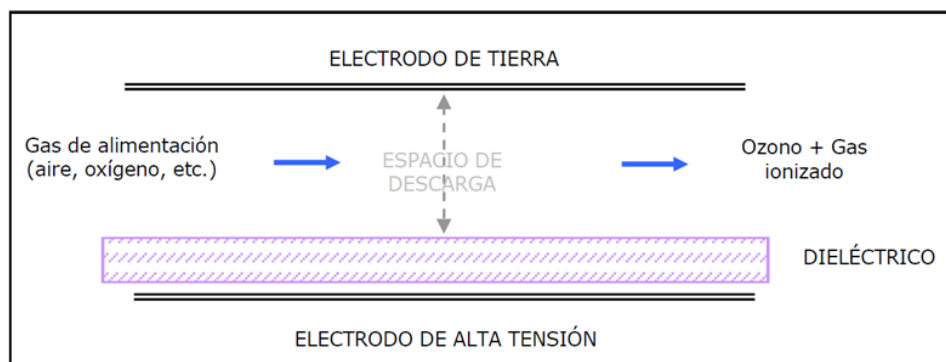


Figura 5: Generación de ozono por descarga silente.



Fuente: Manual de aplicaciones del ozono para legionella (2007).

La descarga plásmica usa rangos de frecuencia de alto o bajo voltaje, el O_2 pasa por dos tubos de alto voltaje conectados en serie, los que por turno reciben voltajes entre 4000 y 9000 voltios formando el O_3 (fig. 6) que tiene un gran poder oxidante, el mayor después del flúor (Pacheco E. , 2015).

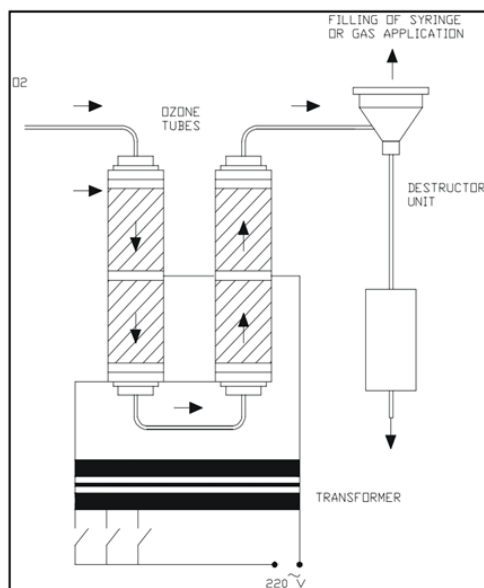


Figura 6: Generación plásmica del ozono.

Fuente: (Viebahn-Hänsler & Gutzen, 2007).

2.4.5. Mecanismo de acción del ozono.

El ozono es capaz de reaccionar con la mayoría de sustancias orgánicas e inorgánicas hasta su oxidación total. Tiene selectividad por sustancias con enlaces dobles y triples de las proteínas, aminoácidos y AGI (Ácidos grasos insaturados).

Su mecanismo de acción está ligado a la producción de: ozónidos, aldehídos, peróxidos y peróxido de hidrógeno al reaccionar con los fosfolípidos de la membrana (Scwhartz & Martínez, 2012).



2.4.6. Acción biológica y efectos terapéuticos.

Acción germicida.

- **Efecto bactericida:** Se manifiesta a bajas concentraciones (0,01 p.p.m.) y durante periodos de exposición muy cortos. A concentraciones inferiores de ozono se observa un efecto bacteriostático (Ricaurte , 2006).
- **Efecto viricida:** Produce daños en la cápside, oxida la envoltura lipídica y altera la estructura de los virus impidiendo su unión al receptor y penetración en nuevas células (Arencibia *et al.*, 2006).
- **Efecto fungicida:** Algunos hongos provocan patologías al ser humano, animales y plantas. Otros alteran los alimentos, haciéndolos inadecuados para su consumo, como los mohos. El ozono los elimina y controla mediante su acción oxidante que provoca un daño celular irreversible (Pacheco E. , 2015).

Acción oxigenante.

A través del ozono se produce un aumento de la oxigenación celular, el glóbulo rojo es el vehículo en el cual se transporta oxígeno y se distribuye a las células, de esta forma el ozono aumenta la oxigenación en todo el organismo (Cidón, 2015). Es revitalizante y productor de energía, sus funciones se rigen a restaurar el metabolismo del oxígeno y reactivar varios ciclos enzimáticos afines con el metabolismo de azúcares, ácidos grasos y lípidos. El incremento de energía en las células les permite, recuperar su funcionalidad y vitalidad, normalizando las funciones perdidas por factores negativos como el envejecimiento, toxinas y la contaminación ambiental, logrando la recuperación y prevención de enfermedades degenerativas, infecciosas y metabólicas (Díaz J. , 2013).

**Acción energizante.**

Estimula la glicólisis, que es la fuente primordial de energía para todas las células, optimizando sus funciones generales. Siendo de gran utilidad en insuficiencias vasculares periféricas, cardíacas, etc. (Viebahn-Hänsler & Gutzen, 2007).

Acción analgésica y antiinflamatoria.

Neutraliza y facilita la metabolización y eliminación de los mediadores químicos que generan el proceso de la inflamación y dolor (Calabrese, 2012). El ozono tiene un mecanismo de acción tanto analgésica y antiinflamatoria.

Esto se debe a: 1) Menor producción de mediadores de la inflamación. 2) Inactivación por oxidación de mediadores del dolor. 3) Mejora la microcirculación sanguínea local, con entrega de oxígeno a los tejidos, necesario para la regeneración de estructuras anatómicas, y eliminación de toxinas (Martínez-Sánchez, 2013).

Activación del sistema inmunológico.

Trabajos in vitro e in vivo muestran que el ozono tiene la capacidad de mejorar el funcionamiento del sistema inmune tanto celular, como humoral. El ozono aumenta la proliferación y actividad de linfocitos, macrófagos, interleucinas, citocinas e inmunoglobulinas (Menéndez, León, & Hernández, 2008). Los linfocitos T4 son claves, activados por macrófagos, producen citocinas que inician la comunicación intercelular en su función de mensajeros, la interleucina 2, es responsable de la activación de linfocitos T4 que se convierten en células asesinas, y de linfocitos B para producir anticuerpos específicos.

En toda la sangre tratada, el ozono está en la posición de producir inmuno activación específica (Viebahn-Hänsler & Gutzen, 2007).



Regeneración de los tejidos.

Los metabolitos del ozono incitan la reparación de tejidos, con su efecto anti-inflamatorio y desinfectante, también inicia la formación de neovasos y fibroblastos en las lesiones de la piel. Estimula la secreción de factores de crecimiento tisular como el TGF β 1. Promueve la regeneración de varios tipos de tejidos, siendo muy útil al cicatrizar lesiones complicadas como úlceras, tejidos articulares, etc. (Pérez *et al.*, 2009).

Comienza la formación de neovasos y fibroblastos en lesiones dérmicas. En las figuras 7 y 8, se ha usado una asociación de aceites ozonizados con ácido α -lipoico, el Bioperoxoil®, por siete días. Se evidencia la mayor velocidad de formación de estas estructuras, comparando con el efecto de los controles, garantizando la aceleración de la curación (Martínez-Sánchez, Re, Perez-Davison, & Horwat, 2012).

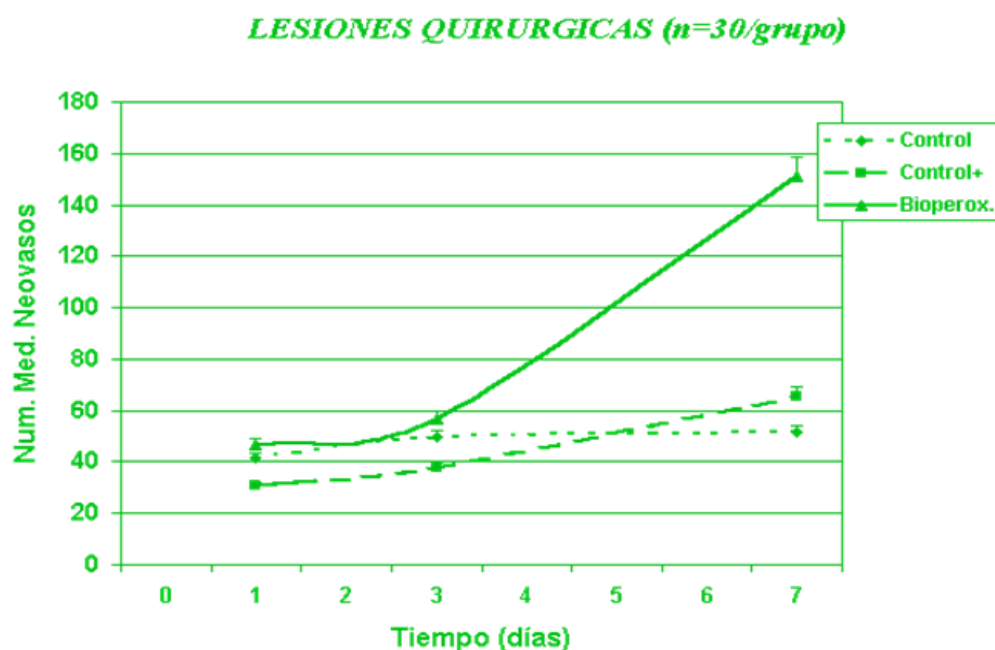


Figura 7: Formación de neovasos con bioperoxoil.



LESIONES QUIRURGICAS (n=30/grupo)

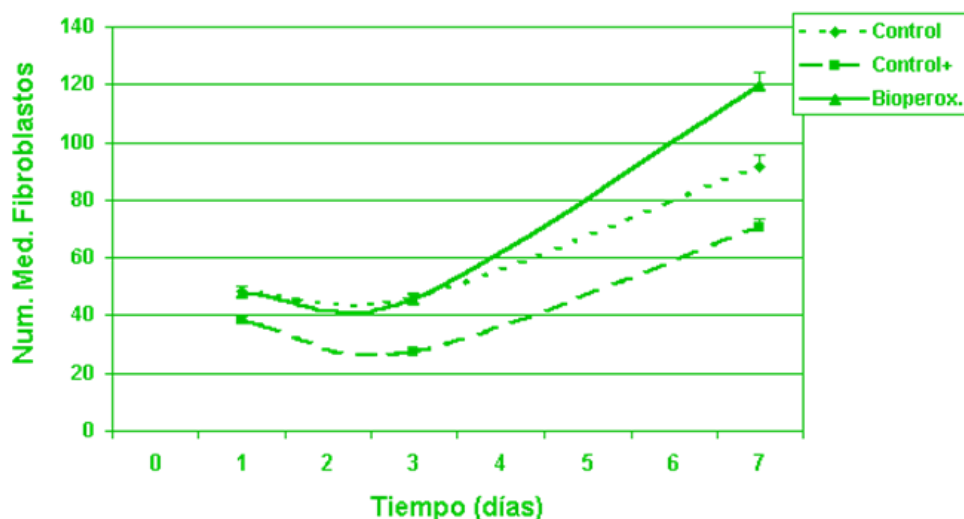


Figura 8: Formación de fibroblastos con bioperoxoil.

Fuente: Medozone, 2014.

Acción antioxidante.

Es el mayor “barredor de radicales libres”. Actúa como medio único de estimulación directa de todas las enzimas que actúan como antioxidantes endógenas (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, etc.), que desechan el exceso de radicales libres y otros oxidantes endógenos del organismo, reduciendo el nivel de stress oxidativo (Calabrese, 2012).

Al introducir el ozono en tejidos y órganos incrementa la actividad de las enzimas antioxidantes ampliamente distribuidas en el músculo cardíaco, el hígado, los eritrocitos y otros tejidos (Martínez-Sánchez, 2013).

De acuerdo a Hernández Rosales (2010) el stress oxidativo libera respuestas en el organismo que propician la estimulación de las defensas antioxidantes celulares.

Los estudios realizados hasta el presente indican que la propiedad reguladora del stress oxidativo está relacionada a otras de las propiedades como la de modulación del sistema inmune por el control de citoquinas (fig. 9).

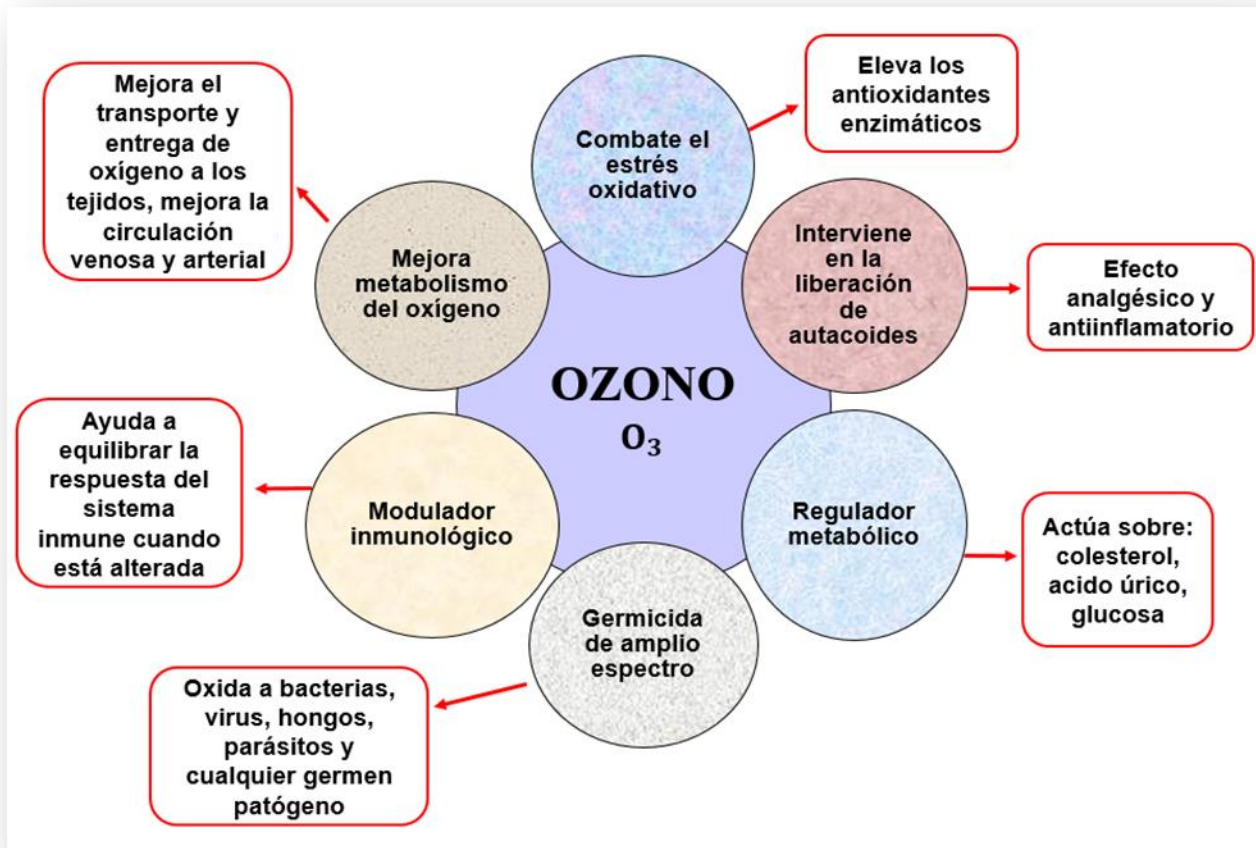


Figura 9: Efectos biológicos y terapéuticos del ozono.

Fuente: Instituto Valenciano De Ozonoterapia (2015).

2.4.6.1. Fundamentos terapéuticos.

En el 2014 la International Scientific Committee of Ozone Therapy (ISCO₃) lo dividieron en :

a. **Dosis bajas:** Poseen efecto inmunomodulador, utilizadas en enfermedades que comprometen el sistema inmune.



b. **Dosis medias:** Efecto inmunomodulador y estimulante del sistema enzimático antioxidante, útiles en enfermedades crónico-degenerativas, como diabetes, arteriosclerosis, etc.

c. **Dosis altas:** en úlceras, heridas infectadas, y al ozonizar aceite y agua.

2.4.6.2. Consideraciones sobre la dosis de ozono a emplear.

Las concentraciones y dosis recomendadas en la ozonoterapia provienen de estudios *in vitro* e *in vivo*, por tanto, deben ser tomadas con cautela (Menéndez *et al.*, 2008). En medicina veterinaria hay que tomar en cuenta que tratamos con los organismos de mamíferos donde un exceso de ozono es nocivo, daña los ácidos nucleicos, por ello la dosis debe ser medible y va de acuerdo a la patología y paciente, solo así se consigue una oxidación celular controlada. La dosis de ozono se calcula multiplicando la concentración de ozono por volumen de gas administrado, la fórmula es: $DO = Q \times V$ donde DO = Dosis total de ozono, Q = concentración de la mezcla, V = volumen de la mezcla (Viglino, 2008). En medicina veterinaria, se utilizan las concentraciones de 6, 30, 50 y 70 $\mu\text{g/ml}$ (Alves, Abreu, & Ribeiro Filho, 2004). En tanto Scrollavezza, Ferrari, Martini, & Isola (1997) determinaron la dosis ideal para la autohemoterapia mayor en equinos de 30 $\mu\text{g/ml}$. Para los bovinos se emplean dosis que van entre 6 a 30 $\mu\text{g/ml}$ en mastitis (Ogata & Nagahata, 2000); en la mucosa uterina como profiláctico 32 $\mu\text{g/ml}$ (Perla, 2005).

En el caso puntual de los caninos domésticos en dermatitis atópica se emplean dosis crecientes de 10, 15, 17 y 20 $\mu\text{g/ml}$ mediante autohemoterapia menor, en traumatología se usan infiltraciones de 8, 13 y 15 $\mu\text{g/ml}$ con excelente control del dolor (Avilés *et al.*, 2016).

2.4.7. Principales vías y métodos de aplicación.

Para el empleo del ozono medicinal la concentración de la mezcla de O_2O_3 a utilizar se establece en una proporción de 95% de oxígeno y 5% de ozono (en volumen), a 20° C, a 1 litro/minuto de caudal de entrada del O_2 medicinal, como concentración máxima (Calabrese, 2012).



2.4.7.1. Vías de aplicación parenteral.

- **Autohemoterapia mayor**

Se extraen, en un sistema cerrado estéril 100 – 150 cc de sangre del paciente, se trata con ozono médico, se retransfunden inmediatamente. Puede realizarse en 10-15 minutos (Fernández & Sánchez Núñez, 2015).

- **Autohemoterapia menor**

Se extrae a la mascota una pequeña cantidad de sangre, 1 cc por cada 10 kg de peso, se ozonifica y se inyecta por vía intramuscular. Obteniéndose una especie de auto-vacuna que proviene de las propias células. Utilizada en casos de cáncer (Hormigo Delgado, 2015).

- **Intra-arterial**

Se extrae 20 ml de la mezcla gaseosa a una concentración de 20 µg/ml y se punciona la arteria femoral. Por la presión positiva en la arteria, la sangre asciende al émbolo de la jeringuilla donde se mezcla el O₂/O₃ ahí presentes luego lentamente se reintroduce esta sangre ozonizada por la arteria femoral (Menéndez *et al.*, 2008).

- **Intramuscular**

Se inyecta una pequeña cantidad de ozono mezclado con oxígeno por encima de 10 ml del gas (Fierrro Pozo, 2009).

- **Intradiscal**

Con una aguja especial que permite penetrar el disco desde un abordaje percutáneo, se inyecta parte del ozono, se retira la aguja hasta el nivel del canal, donde se inyecta el resto del ozono (Cidon Madriga, 2007).



- **Subcutánea**

Inyectar a modo de infiltración pequeñas concentraciones de la mezcla ozono/oxígeno a una concentración superior a 20 mg de ozono/ litro de oxígeno en la zona a tratar (Cervera, 2010).

- **Intraperitoneal**

Se han inoculado líneas tumorales en animales, siendo el ozono más citotóxico para las células tumorales que varios antineoplásicos, sin originar los efectos adversos de la quimioterapia, el Médico Veterinario Siegfried Schutz exhorta a que las investigaciones en animales progresen (Menéndez *et al.*, 2008).

2.4.7.2. Vías de aplicación local.

- **Bolsa de ozono**

Se usan bolsas plásticas que se cierran herméticamente alrededor del área a tratar donde se infunde el ozono directamente desde el generador (60, 40, 30, 20 $\mu\text{g/ml}$), de acuerdo al estadio de la lesión, por 20 a 30 minutos. 60-70 $\mu\text{g/ml}$ puede usarse solo en infecciones purulentas. Controlada la infección y al aparecer el tejido de granulación se reduce la concentración y distancia de las sesiones para favorecer la cicatrización (Viebahn-Hänsler & Gutzen, 2007).

- **Insuflación rectal**

La sonda uretral es introducida en el recto del animal y se insufla volúmenes entre 40-60 ml de la mezcla ozono /oxígeno, las concentraciones empleadas son de 20-30 $\mu\text{g/ml}$ (Vidal, Urruchi, & Zamora, 2009).

- **Vaginal**

Se realiza un lavado vaginal con agua ozonizada bidestilada. Empleando concentraciones de 20-40 $\mu\text{g/ml}$ con un volumen entre 1000-2000 ml a una velocidad de flujo continuo de 0,1 a 0,2 l/min durante 10 minutos (Asociacion Cientifica Española de Oxigeno-Ozono Terapia, 2014).



- **Tópica**

El ozono aplicado en forma local, provoca una drástica reducción bacteriana, una neovascularización y un estímulo celular general, generando tejido de granulación y colágeno con mayor celeridad. El epitelio crece notablemente y la estética de la cicatrización es muy satisfactoria (Viglino, 2008). El agua ozonizada tiene propiedades superiores a las del cloro, quinientas veces más potente (Cidón, 2015).

2.4.7.3. Vía no recomendada.

- **Inyección de ozono endovenoso directo**

Por un mecanismo similar a la diálisis, se extrae del paciente una cantidad de 50 a 100 ml de sangre venosa, para agregarle una mezcla de ozono/oxígeno y realizar un lavado sanguíneo. Esta sangre será inyectada al paciente en forma de infusión gota a gota, a través del sistema circulatorio se repartirá a todo el cuerpo, aportando a los tejidos con hipoxia gran cantidad de oxígeno y nutrientes. Se la denomina también "Blood Washings" (Cervera, 2010).

2.4.7.4. Vía de aplicación prohibida.

- **Vía inhalatoria**

Es sumamente tóxica ya que las particularidades anatómicas y bioquímicas del pulmón lo predisponen al deterioro oxidativo por este gas. Las alteraciones morfológicas que se producen en el pulmón son: 1) Disminución del volumen espiratorio forzado, 2) Incremento de la hiperreactividad bronquial, 3) Inflamación de las vías aéreas, 4) Incremento de la tos, 5) Alteración del aclaramiento mucociliar, con acumulación de mucus, 6) Incremento de la permeabilidad del epitelio pulmonar (Menéndez *et al.*, 2008).



2.4.8. Consideraciones de empleo.

Se brinda seguridad en la ozonoterapia al: 1) Usar un generador preciso. 2) Manejar dosis, volúmenes y concentraciones exactas. 3) Médicos con formación completa en la terapia. 4) Regirse bajo las normas sanitarias de seguridad para garantizar el trabajo. 5) Investigación continuada (Martínez-Sánchez, 2013).

2.4.9. Aplicaciones terapéuticas.

Según Hormigo Delgado (2015), el ozono se utiliza en diversas patologías animales expuestas en la tabla 3.

2.4.10. Toxicidad y efectos adversos.

El ozono es seguro cuando se diluye a niveles terapéuticos para uso médico. Un estudio alemán sobre 384.775 pacientes, evaluó los efectos adversos de más de cinco millones de tratamientos de ozono médico, encontrando que la tasa de efectos secundarios adversos fue de 0,0007 por cada aplicación (Barros, 2011). Los efectos colaterales están relacionados con altas dosis, uso de materiales inapropiados, incorrecta introducción de la aguja, o factores subjetivos propios de cada paciente (Scwhartz & Martínez, 2012).

Efectos colaterales y precauciones

La International Scientific Committee of Ozone Therapy (2014), encontró los siguientes efectos adversos y precauciones sobre su uso:

- Molestia en el sitio de infiltración, enfisema subcutáneo y prurito.
- El Favismo (Déficit de Enzima Glucosa-6- Fosfato - Deshidrogenasa), es la única contraindicación absoluta.
- Hipertensión arterial, hipertiroidismo y trombocitopenia.
- Status convulsivos, embarazo.



- Cuadros hemorrágicos, inestabilidad cardiovascular severa.

El ozono está clasificado únicamente como agente irritante por vía aérea; por inhalación, que dependen de la concentración y tiempo de exposición. No es carcinogénico (Pérez M. D., 2006).

Tabla 3: Aplicaciones clínicas de la ozonoterapia.

| Sistemas | Patologías |
|-------------------------------|--|
| Aparato locomotor | Artrosis, artritis, bursitis, tendinitis, hernia discal, osteomielitis, cojeras, etc. |
| Aparato cardiovascular | Flebitis, tromboflebitis, arteriosclerosis, rotura de capilares, cardiopatías, etc. |
| Digestivo | Hepatitis víricas, colitis ulcerosa, , proctitis, gastritis, úlceras, estreñimiento, diarreas, intestino, etc. |
| Dermatología | Dermatitis atópica, piodermas, micosis, parasitosis, quemaduras, heridas y cicatrices. |
| Oftalmología | Glaucoma, conjuntivitis, queratitis, uveítis, retinosis pigmentaria y degeneración macular. |
| Odontología | Enfermedad periodontal, infecciones de la boca, gingivitis y sarro dental. |
| Ginecología | Infecciones genitourinarias, endometritis, píometra, mastitis, complicaciones sépticas, etc. |
| Neurología | Epilepsia, síndrome vestibular periférico. |
| Urología | Insuficiencia renal aguda y crónica, cálculos renales. |
| Inmunología | Alergias, aumenta la inmunidad, coadyuvante en radioterapia y en la inmunodeficiencia adquirida. |
| Oncología | Efectos beneficiosos en neoplasias (carcinoma canino). |

Fuente: (Hormigo Delgado, 2015)



2.5. Aceites Vegetales Ozonizados

2.5.1. Generalidades.

Los aceites vegetales ozonizados son una mezcla de aceite y ozono (Cidón, 2015). Se han convertido en un vehículo apropiado para la aplicación terapéutica del ozono (Camps *et al.*, 2012).

Con los aceites vegetales se elaboran tónicos y cremas, están compuestos por triglicéridos y estos por ácidos grasos saturados e insaturados. En la piel los ácidos grasos componen un 20 % de la capa córnea, el ácido oleico y linoleico reestructuran activamente las membranas celulares. Si se absorben en la piel se incorporan a los lípidos estructurales restableciendo la función de la barrera de la capa córnea (Díaz *et al.*, 2005).

La resistencia bacteriana a los antibióticos es frecuente en lesiones de la piel, (traumas, heridas, úlceras, etc.), así también en pacientes inmunocomprometidos su efecto terapéutico es muy limitado (Re *et al.*, 2012). Como terapia alternativa al uso de antibióticos en lesiones cutáneas actualmente se emplean productos comerciales de aplicación tópica en base a aceites ozonizados. Estos productos se utilizan para cicatrizar heridas en la piel de los animales logrando no sólo impedir la infección sino también acelerar el proceso de cicatrización (Bartolini *et al.*, 2004).

2.5.2. Formación de derivados de la ozonización de ácidos grasos.

La ozonización de los aceites vegetales, consiste en el burbujeo de estas sustancias con ozono bajo condiciones controladas. De esta reacción se obtiene compuestos químicos como: ácidos, lipoperóxidos, aldehídos, ozónidos y peróxidos, que tienen acción germicida. Los peróxidos tienen otras funciones como: reforzar la capacidad fagocitaria, bloqueo de los receptores para virus y estimula el sistema de óxido – reducción (Copello, Menéndez, & Schwartz, 2012).



Los ácidos grasos de los aceites vegetales pueden tener una cadena monoinsaturada o poliinsaturada. (Re *et al.*, 2012). A mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) tendrá mayor efectividad, es decir, a mayor número de dobles enlaces en sus cadenas aumenta su efecto de oxidación, y con ello su poder germicida (Hormigo Delgado, 2015).

Los ozónidos se forman por reacciones de adición frente a compuestos insaturados. Su descomposición es rápida para formar aldehídos, cetonas y peróxidos. Los lipoperóxidos se forman de los AGPI y un radical de alta reactividad, la pérdida de la insaturación de los lípidos se correlaciona con un aumento de la viscosidad del aceite en la reacción. (Sega *et al.*, 2010). Los compuestos peroxídicos unidos con los ozónidos dan los efectos biológicos de los aceites vegetales ozonizados.

Velacchi, Lim & Belmonte (2011) indicaron que las proporciones de los productos de la reacción dependen de varios factores. En la producción industrial de los aceites hay que controlar variables, como:

- Tipo de generador y tiempo de reacción
- Presencia de agua o catalizadores.
- Temperatura de la reacción
- Flujo y concentración de ozono.
- Pureza del oxígeno a usar.
- Velocidad de agitación
- La calidad del aceite, garantizando la eficacia farmacéutica del producto.

Los aceites empleados para la ozonización son: aceites vegetales: oliva, girasol, coco, cacao, aguacate, almendra, palma, sésamo, aceites esenciales y aceite de hígado de animales.



El aceite que tenga mayores insaturaciones reaccionará mejor con el ozono. Así el aceite de girasol tiene ácidos grasos con doble insaturación siendo más reactivo que el aceite de oliva que posee ácidos grasos mono insaturados (Díaz, Hernández, & Martínez, 2006).

2.5.3. Preparación de aceites ozonizados.

Los aceites vegetales poseen un 97 % a 98 % de triglicéridos, según su origen tienen una composición variable de ácidos grasos saturados e insaturados. Son capaces de reaccionar fácilmente con el ozono los insaturados, los más importantes son el oleico y el linoleico, que están en mayor concentración en los aceites (Ledea, Menéndez, & Días, 2008).

De acuerdo a Re (2012) la ozonización se efectúa bajo diferentes concentraciones y tiempos de burbujeo en dependencia de la aplicación del aceite:

- Aplicación interna (VO), 100 ml de aceite se burbujea con una concentración de ozono de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, por 10 min, o a una concentración de 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ por 5 min.
- Aplicación externa (Tópica), 100 ml de aceite se burbujea a una concentración de ozono de 20-24 $\mu\text{g}/\text{ml}$ por 15 min o a una concentración de 40-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ por 8 min.

2.5.4. Estabilidad de los aceites vegetales ozonizados.

Su estabilidad depende de la temperatura de almacenamiento. Almacenar en recipientes de vidrio ámbar. El aceite ozonizado conserva su actividad a temperatura ambiente por 3 meses y en refrigeración (4-8 ° C) durante 2 años (Miura, Suzuki, & Sakurai, 2011).

Los aceites vegetales ozonizados tienen efectos antibacterianos, fungicidas y cicatrizantes con aplicaciones en la industria farmacéutica y cosmética. (Palacios, Silveira, & Zângaro, 2013).

Los aceites vegetales sufren oxidación espontánea por el oxígeno atmosférico; una prolongada oxidación de las grasas origina rancidez con sabor y olor desagradables (Díaz-Gómez, 2010).



Un gran problema de los aceites vegetales ozonizados es su conservación, tienen especies peroxídicas muy inestables a la temperatura ambiental. (Schwartz & Martínez-Sánchez, 2011).

Los factores que influyen en la estabilidad de los aceites ozonizados son los ambientales siendo el principal la temperatura; dentro de sus propiedades químico-físicas están color, aspecto, olor, parámetros de calidad, características organolépticas; forma farmacéutica, procesos de fabricación y las propiedades del envase (Guil-Guerrero & Urda-Romacho, 2009).

Las reacciones posteriores a la ozonización, en el almacenaje y preparación de las fórmulas, son complejas. (Menéndez *et al.*, 2008). Estas reacciones durante su almacenamiento modifican sus propiedades químicas, físicas y microbiológicas. Ante esto, el conocimiento de la estabilidad de los aceites vegetales ozonizados es primordial para preestablecer su tiempo de vida útil con buenas condiciones de calidad (Ledea *et al.*, 2008).

2.5.5. Indicadores de la calidad.

Para uso médico deben ser preparados según las buenas prácticas de manufactura de la industria farmacéutica. Usando materias primas en buenas condiciones. La calidad se controla con estudios químicos, físicos, biológicos y microbiológicos, para garantizar la estabilidad y homogeneidad del principio activo. Además, las propiedades del aceite deben verificarse en estudios pre-clínicos y clínicos, con ausencia de toxicidad (Re *et al.*, 2012).

Químicamente la valoración de lipoperóxidos y aldehídos, el índice de yodo, de saponificación son los más importantes. En las propiedades físicas se mide el índice de acidez, densidad y viscosidad (Sega *et al.*, 2010).

2.5.5.1. Técnicas analíticas empleadas en los aceites vegetales ozonizados.

Es trascendental en el análisis de la reacción de ozonización, los índices de acidez, yodo y peróxidos (Menéndez *et al.*, 2008).



- Índice de yodo: Mide el contenido de compuestos insaturados en el aceite, como los ácidos grasos: oleico y linoleico (Re *et al.*, 2012).
- Índice de acidez: Indica la cantidad de ácidos grasos libres. Sin relación directa con el sabor.
- Índice de Saponificación: Se usa como medida de los ésteres existentes e indica la pureza de la materia prima (Guinesi *et al.*, 2011).
- Índice de peróxidos: Mide el deterioro de los antioxidantes naturales del aceite. Se basa en la capacidad de los peróxidos para liberar yodo de una disolución de yoduro de potasio en medio ácido (Ledea *et al.*, 2008).
- Viscosidad: Valora el tiempo necesario para que pase un determinado volumen de muestra a través de un capilar calibrado, midiendo la fuerza de rozamiento interno del producto (Menéndez *et al.*, 2008).

2.5.6. Mecanismo de acción de los aceites ozonizados.

Los triozónidos estables al entrar en contacto con los exudados de las heridas que están a una temperatura de 37° C, se descomponen y generan ozono, formándose peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos que producen los efectos regenerativos y desinfectantes (Bocci, 2005).

La liberación lenta de ozono en las heridas favorece la cicatrización, por la desinfección y la liberación de citocinas localmente con efectos reparadores (Velacchi, Lim, & Belmonte, 2011). La acción germicida hace que la ozonoterapia sea un tratamiento importante en la limpieza y desinfección de heridas infectadas (Menéndez *et al.*, 2008). El aceite ozonizado tópicamente beneficia la formación de tejido de granulación (Camps *et al.*, 2006).

Romero, Pardo, & Camps (2013) refieren que aceite ozonizado no cambia la secuencia de los fenómenos de la cicatrización; pero si posee gran incidencia en el incremento del grosor del tejido epitelial en el borde de la lesión (fig. 10).



Según el Instituto Valenciano de Ozonoterapia (2015) los mecanismos antimicrobianos y cicatrizantes de los aceites ozonizados se deben a:

- 1) Oxidación directa: la liberación de ozono, trioxolanos y lipoperóxidos destruyen directamente los microorganismos por su oxidación.
- 2) Citotoxicidad: los trioxolanos, lipoperóxidos y aldehídos, son citotóxicos para los microorganismos e inactivan sus rutas enzimáticas.
- 3) Liberación de factores de crecimiento: como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β) y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) que inciden en la remodelación tisular.
- 4) Pre-condicionamiento oxidativo: la oxidación local de los tejidos por los aceites ozonizados estimula mecanismos antioxidantes endógenos e inician la reparación de los tejidos.

2.5.1. Principales aceites vegetales ozonizados.

El aceite más usado es el de girasol (Oleozone), a más de sus ventajas económicas, ha aprobado las pruebas pre-clínicas de irritabilidad, mutagenicidad y teratogenicidad, y ha demostrado tener mayor efecto germicida que el de oliva (Pérez *et al.*, 2009). Existen varios fármacos o cosméticos en el mercado que utilizan como principio activo los aceites ozonizados. Como: Oleo Forte® (Nature Ozone, España), Ozonia 10® (Innovares, Italia), Ozone Bella®, etc. (Re *et al.*, 2012).

El poder germicida del aceite de oliva ozonizado fue probado en *Staphylococcus aureus* experimentalmente alcanzando, después de 13 horas, un 99 % de muerte del microorganismo (Copello *et al.*, 2012).

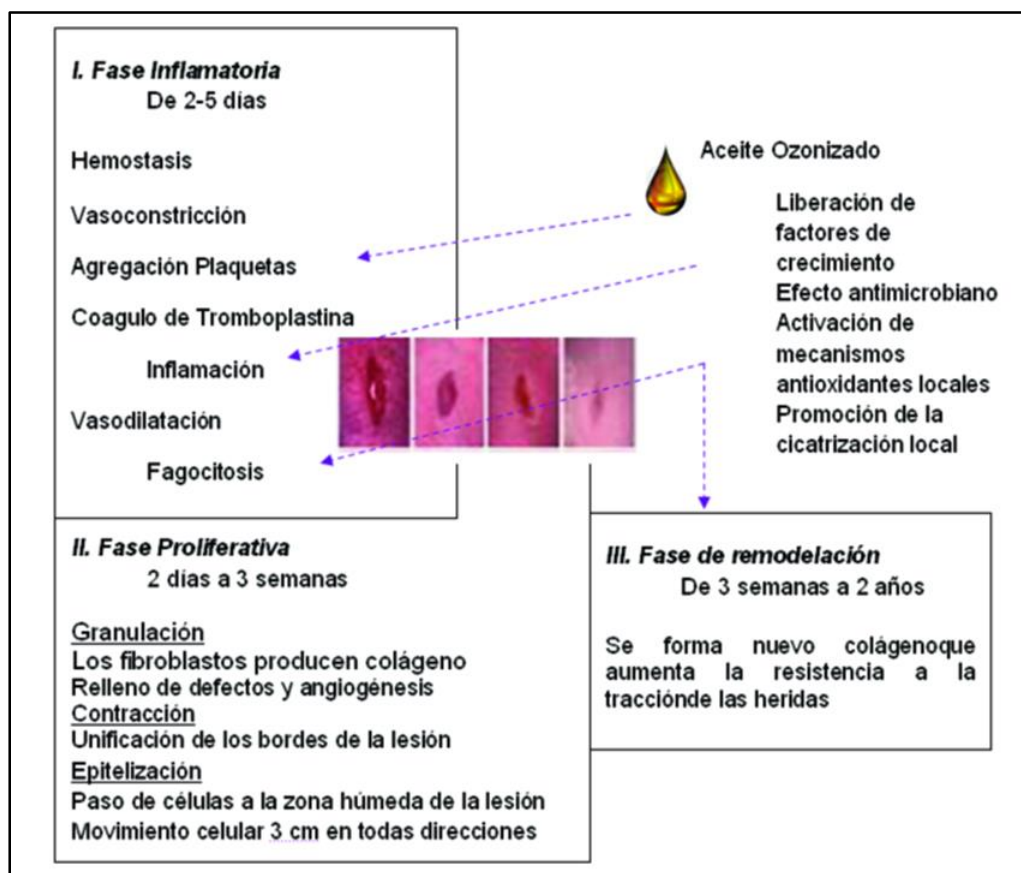


Figura 10: Mecanismo de acción de los aceites ozonizados en el proceso de cicatrización.

Fuente: Revista Española de Ozonoterapia, 2012.

En diversos estudios veterinarios el aceite de girasol y oliva ozonizado han sido empleados en el tratamiento de patologías oftalmológicas, lesiones por castración en cerdos, cicatrización de heridas experimentales en ratones, así como en la dermatofitosis en terneros y en conejos (García *et al.*, 2010).

Hoy en día es mayor el número de científicos y personal médico interesado en el estudio de los aceites vegetales ozonizados, debido a sus propiedades germicidas y a sus efectos inocuos comprobados en estudios toxicológicos (Díaz-Gómez, 2010).



2.6. Escala RESVECH V.1.0 Escala De Resultados Para La Valoración Y Evolución De La Cicatrización De Las Heridas.

La cicatrización no es un proceso que se valora de manera correcta en las heridas. Por tal razón se desarrolló una escala denominada RESVECH V.1.0 (Resultados esperados de la valoración y evolución de las heridas crónicas) para la valoración macroscópica de las heridas, la cual está formada por nueve ítems, que se describen a continuación (Anexo 4).

2.6.1. Definiciones operacionales de las variables.

Restrepo & Verdú en el 2011 explican los ítems de los que está compuesta la escala:

Dimensiones de la lesión: medición de largo por ancho. Las dos medidas van en centímetros y se multiplican para obtener la superficie en centímetros cuadrados.

Profundidad de tejidos afectados: de acuerdo a la afección del tejido: dermis, epidermis, tejido subcutáneo, musculo, hueso, etc.

Bordes: zona de tejido que limita el lecho de la herida, entre este tenemos:

- No distinguibles: no hay bordes, en el caso de heridas que cicatrizan.
- Difusos: no se diferencian.
- Delimitados: bordes visibles que se diferencian, pero no están engrosados.
- Dañados: presentan lesiones y no están engrosados.
- Engrosados, envejecidos o evertidos: engrosados y delimitados hacia la lesión.

Maceración perilesional: se origina desde el borde de la herida hacia el exterior de la misma (piel sana).

Tunelizaciones: trayectos sinuosos en la herida.

Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi
José Luis Orellana Parra



Tipo de tejido en la herida: tejido presente en la lesión.

- **Necrótico:** tejido desvitalizado, negro, marrón adherido a la herida o sus bordes y puede ser duro o blando.
- **Esfacelos:** tejido blanquecino a amarillo adherido a la herida y se puede retirar con pinzas.
- **Tejido de granulación:** tejido brillante, color rosa, húmedo y granular.
- **Tejido epitelial:** tejido rosa que crece desde los bordes, presente en úlceras y heridas superficiales.
- **Cerrada / cicatrización:** lesión revestida por epitelio (piel nueva).

Exudado:

- **Húmedo:** líquido visible en pequeñas cantidades.
- **Seco:** no hay humedad, el lecho de la herida está seco.
- **Mojado:** cantidades de líquido visibles, pero sin paso de exudado.
- **Saturado:** hay traspaso de exudado y la piel puede estar macerada.
- **Con fuga de exudado:** presencia de una cantidad elevada de líquido.

Infección/ inflamación:

- Eritema en la perilesión
- Edema en la perilesión
- Exudado que va en aumento
- Exudado purulento
- Tejido friable o que sangra con facilidad.
- Herida estancada, no progresa.



- Olor
- Hipergranulación
- Aumento del tamaño de la herida.
- Palidez del tejido.

Dolor: Se divide en frecuencia e intensidad.

La escala se puntuará numéricamente y se podrá obtener un valor que va desde 0 (herida cicatrizada) hasta 40 puntos como máximo (herida en peor estado). El índice RESVECH V.1.0 tiene validez por su fácil comprensión y claridad, además es una escala corta.

Es el primer instrumento de medición para heridas crónicas de cualquier etiología y tipo que se puede aplicar desde la detección de la herida hasta su cicatrización. Se puede decir que el análisis cuantitativo del cuestionario manifiesta que el contenido tiene pertinencia y relevancia (Restrepo-Medrano & Verdú, 2011).

2.7. Citología

Es la evaluación microscópica de las células. En la valoración citológica las reacciones se clasifican en: inflamatorias, infecciosas, hiperplásicas, o neoplásicas. Habitualmente se determina el tipo de inflamación y a veces los agentes etiológicos (Radin & Wellman, 1998).

Patel & Fortsythe (2010) indican que la citología es útil para el diagnóstico de:

- Dermatopatías bacterianas y por malassezia.
- Otitis externa y granuloma eosinofílico en los gatos.
- Pénfigo foliáceo.
- Úlceras y heridas que no cicatrizan.



- Nódulos e inflamaciones.

Fernández *et al.* (2003) sugieren estos consejos para recolección y preparación de muestras.

- Usar portaobjetos limpios y extender las células sobre el portaobjetos.
- No contaminar la muestra.
- Recoger varias muestras de diferentes áreas.
- Secar las muestras al aire.
- Se utiliza la tinción rápida de Diff-Quick.

2.7.1. Método de recolección de muestras.

Improntas

Consiste en apoyar suavemente el portaobjetos sobre superficies sólidas, húmedas o grasientas y realizando una ligera presión para lograr la adherencia del tejido en una capa fina, habiendo realizado una limpieza previa del área. Esta muestra se seca al aire (Machicote, 2011).

De acuerdo a Rejas (2007) la técnica de tinción Diff - Quick consiste en:

- Cinco a diez pases por el fijador de alcohol (no en muestras grasas y fijadas en llama).
- Cinco a 10 pases por el colorante rojo (eosina).
- Cinco a 10 pases por el colorante azul (azul de metileno).
- Lavar con agua.
- Escurrir.
- Secado al aire.

Evaluación microscópica

Utilizar un microscopio de alta calidad y observar con los objetivos 10x y 100x (aceite de inmersión) (Radin & Wellman, 1998). Recogida y teñida la muestra, definir el tipo de lesión: inflamatoria, neoplásica o no inflamatoria (Fernández *et al.*, 2003).

Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi
José Luis Orellana Parra

**Tipos de células inflamatorias.**

Patel & Fortsythe (2010) y Machicote (2011) mencionan que en las preparaciones de la piel inflamada pueden observarse neutrófilos, eosinófilos, macrófagos y linfocitos.

- Neutrófilos: se observan con frecuencia en las preparaciones de piel inflamada. Asociados a infecciones bacterianas.
- Eosinófilos: se reconocen por sus gránulos de color rojizo o anaranjado, asociados a trastornos alérgicos o parasitarios.
- Macrófagos: asociados a trastornos inflamatorios crónicos, están relacionados a los neutrófilos si existe inflamación piogranulomatosa.
- Linfocitos y plasmocitos: presentes en lesiones de larga duración e inmunomediadas.



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Biológicos.

- Perros machos orquiectomizados

3.1.2. Físicos.

- Fichas de campo
- Cámara fotográfica
- Guantes
- Mandil y filipinas
- Mascarillas
- Balanza
- Jeringas de 3 ml
- Gasas
- Algodón
- Cinta maskin
- Fundas plásticas
- Termómetro
- Hielera
- Frascos de vidrio ámbar
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Bozales
- Ordenador



- Software (SPSS 23.0, Excel)

3.1.3. Químicos.

- Aceite de oliva ozonizado
- Aceite de soya ozonizado
- Aceite de oliva y soya
- Cloruro de sodio al 0.9 %
- Lidocaína al 2 %
- Atropina al 0.3 %
- Xilacina al 2 %
- Ketamina al 10 %
- Doxapram
- Epinefrina
- Alcohol antiséptico 96°
- Solución yodada al 10 %
- Diff-Quick

3.2. Métodos

3.2.1. El área de estudio.

El estudio se llevó a cabo en la parroquia rural de Nazón ubicada a 3 kilómetros del cantón Biblián (tabla 4), que tiene por límites al norte con la parroquia Jerusalén y el cantón Cañar, al sur con los cantones Déleg, Cuenca y la parroquia Turupamba; al este con la parroquia Biblián, y al oeste con los cantones Cuenca y Cañar (Anexo 1 y 2).

**Tabla 4:** Datos meteorológicos de la parroquia Nazón.

| | |
|-----------------------------|---|
| Ubicación | 2°55'12"S; 78°46'27"O. |
| Altura | 2.680 metros sobre el nivel del mar |
| Temperatura | 14° C. media |
| Superficie | 63,8 Km ² |
| Ubicación Geográfica | Zona septentrional de la hoya del Paute |
| Longitud | 73°, 20' y 08" de longitud Oeste |
| Latitud | 69°, 50' y 25" de Latitud Sur |

Fuente: (Biblián, GAD, 2014)

3.2.2. Metodología para la investigación experimental.

En el presente estudio se utilizaron 32 perros, de raza mestiza, machos, condición corporal de 3/5 y de edad comprendida entre uno a cinco años. Todos los animales fueron sometidos a una orquiectomía con la técnica preescrotal con una incisión de tres cms. Estos fueron distribuidos de forma aleatoria en cuatro grupos de ocho animales. Se les aplicaron cuatro tratamientos de forma tópica distribuidos al azar por siete días, cada 12 horas; evaluando en este tiempo la cicatrización de heridas mediante indicadores clínicos (escala RESVECH V.1.0) y microscópicos (citología).

La medición de la escala RESVECH V.1.0 se hizo el día 0, 2, 4 y 6 y se tomaron las muestras para citología al día 1, 3 y 5, las cuales fueron procesadas y observadas en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca (Anexo 20).

Los aceites vegetales fueron ozonizados en Ozonomedic, del Dr. René Guamán en la ciudad de Cuenca.



3.2.3. Tratamientos.

Grupo A: Se aplicaron 1 ml (contiene 50 μg de ozono) del aceite de oliva extra-virgen ozonizado, cada 12 horas por 7 días por vía tópica.

Grupo B: Se aplicaron 1 ml de aceite de oliva extra-virgen sin ozonizar, cada 12 horas por 7 días por vía tópica.

Grupo C: Se aplicaron 1 ml (contiene 50 μg de ozono) el aceite de soya ozonizado cada 12 horas, por 7 días por vía tópica.

Grupo D: Se aplicaron 1 ml de aceite de soya sin ozonizar, cada 12 horas por 7 días por vía tópica.

3.2.4. Variables a estudiar.

- a) Independiente: Tratamientos (cuatro).
- b) Dependiente: Cicatrización de heridas quirúrgicas.
- c) Indicadores: RESVECH V.1.0 y citología.

3.2.5. Análisis de datos.

Se utilizó frecuencias, gráficos y tablas de contingencia. Se empleó el análisis de varianza (ANOVA) unifactorial para la escala RESVECH V.1.0, chi - cuadrado para el análisis citológico, con un nivel de significancia de 0,05, para estimar la asociación entre el grado de cicatrización y los cuatro tratamientos en estudio. Las pruebas fueron analizadas con el software SPSS versión 23.0 para Windows. Los aceites sin ozonizar se emplearon como testigos.



3.2.6. Manejo del experimento.

3.2.6.1. Selección de los pacientes.

- a) Físicamente se evaluaron a los pacientes preoperatorios como ASA I (Sociedad Americana de Anestesiólogos en español) que indica que tienen un bajo riesgo anestésico para la intervención quirúrgica (aparentemente sanos) (Hutchinson & Robinson, 2016).
- b) Se tomaron las constantes vitales como: temperatura rectal, pulso, frecuencia cardíaca y respiratoria, además se evaluó: el tiempo de llenado capilar, hidratación, condición corporal y actitud en general de los pacientes prequirúrgicos (Anexo 3).

3.2.6.2. Ozonización de los aceites vegetales (Martínez-Sánchez *et al.*, 2012).

- a) Se eligieron los aceites de oliva y de soya de calidad (v.p. 48 - 49).
- b) Se colocaron los aceites en recipientes de vidrio ámbar, la cantidad total de aceite ozonizado fue de 200 ml de cada aceite.
- c) De los 200 ml se ozonizaron 50 ml semanales tanto del aceite de soya como el aceite de oliva.
- d) El generador de ozono médico, que se usó fue el modelo ZO-153 de la marca DELZONE fabricada en EE. UU (Anexo 6).
- e) Se utilizaron concentraciones de ozono de 50 microgramos por ml de aceite.
- f) Se introdujo el extremo del tubo de silicona del generador de ozono en los recipientes que contenían el aceite y se encendió la máquina (Anexo 7).
- g) El proceso se realizó por burbujeo de ozono sobre los aceites durante 45 minutos para cada aceite.
- h) Los aceites conservan su estabilidad durante 10 días en refrigeración, a una temperatura entre 4-8 ° C.



3.2.6.3. Preparación del paciente quirúrgico.

- a) A los pacientes se les colocó un catéter intravenoso, una solución isotónica y se ubicaron en posición decúbito dorsal.
- b) Se rasuró la región abdominal púbica o hipogastrio.
- c) Se desinfectó un margen ancho que incluye la zona inguinal y el escroto; se aplicaron alcohol y yodo (asepsia) con movimientos circulares desde el centro hacia la periferia, sin volver por el mismo lugar.

3.2.6.4. Protocolo anestésico.

Atropina 0,044 mg/kg, IM; en 15 minutos se aplicaron xilacina 1,1 mg/kg, IM; y 5 minutos más tarde se administró ketamina 22 mg/kg, IM e intratesticular 10 mg/kg de lidocaína al 2 % (Plumb, 2015). Se utilizó en todos los animales el mismo protocolo.

3.2.6.5. Intervención quirúrgica.

- a) Se realizó la técnica preescrotal (Anexo 10) con una incisión de tres centímetros (Anexo 9) por donde se extrajeron los dos testículos, se colocaron puntos simples entrecortados de sutura para ayudar la cicatrización.
- b) Para los puntos internos se utilizaron suturas absorbibles y para suturar la piel se emplearon suturas de seda y se retiraron los puntos al día dos (Anexo 8).

3.2.6.5.1. Técnica preescrotal de acuerdo a Fossum et al. (2013) y Hutchinson & Robinson (2016).

- Vestir al paciente con un campo quirúrgico.
- Avanzar un testículo hacia el área preescrotal mediante presión sobre el escroto.
- Incidir la piel y el tejido subcutáneo sobre el testículo desplazado.



- Incidir el saco espermático, de tal modo que el testículo pueda empujarse a través de la incisión. El saco debe desprenderse del polo caudal del testículo mediante desgarro.
- Con una suave tracción puede exteriorizarse una gran parte del cordón espermático, y se pueden aplicar las pinzas en posición proximal al plexo pampiniforme.
- El cordón espermático se sutura a un centímetro proximal a las pinzas al igual que el conducto deferente, luego realizar una sutura alrededor de los dos. Usar sutura reabsorbible de 2-0 o 3-0 (ej., catgut crómico, poliglactina, etc.). Estas se reabsorben en un tiempo de 50 a 60 días.
- Seccione el cordón espermático entre la pinza y las suturas. Inspeccionar el cordón por si hubiera hemorragia.
- Avance el segundo testículo hasta la incisión, y realice el mismo procedimiento.
- Suturar el tejido subcutáneo y acerque la piel con un patrón de sutura subcuticular o discontinuo simple.

3.2.6.6. Pacientes postquirúrgicos.

- a) Los pacientes intervenidos fueron tratados bajo las mismas condiciones de manejo y alojamiento que estuvieron controlados por los investigadores, para lo cual permanecieron internos durante los 7 días en que se evaluaron los procesos de cicatrización.
- b) Se tomaron en cuenta las medidas precautelares de un postquirúrgico:
 - Colocación de un collar isabelino.
 - Alojamiento en lugar cómodo.
 - Alimentación balanceada.



3.2.6.7. Aplicación de los tratamientos.

- a) A los 32 perros se les dividieron en 4 grupos, cada uno conformado por 8 animales a los cuales se les aplicaron los 4 tratamientos de la siguiente manera: 2 animales con aceite de soya ozonizado, 2 con aceite de oliva ozonizado, 2 con aceite de soya sin ozonizar y 2 animales con aceite de oliva sin ozonizar (Anexo 11).
- b) Se aplicaron en las heridas postquirúrgicas un ml de cada tratamiento, cada 12 horas por el lapso de 7 días para cada grupo.
- c) Se administraron a los animales tratados con los aceites ozonizados 1 ml del aceite ozonizado (50 microgramos de ozono) por vía tópica, de igual manera se aplicaron los aceites sin ozonizar (1 ml).
- d) Se observaron los principales signos clínicos que destacaron en las heridas limpias en el proceso cicatrización con los tratamientos mediante la utilización de la escala RESVECH V.1.0 para la valoración de la cicatrización de manera macroscópica (Anexo 12) y con el seguimiento fotográfico hasta el día 7 como máximo parámetro establecido para la cicatrización que se entiende que es cuando se cierre la herida (Anexo 13, 14, 15,16 y 17).
- e) Se realizaron citologías del área cicatrizal en busca de polimorfonucleares (neutrófilos) y bacterias, indicativas de inflamación e infección del área, además se evaluaron la presencia de células epiteliales y fibrina (Anexo 5).



3.2.6.8. Escala RESVECH V.1.0 Escala de resultados para la valoración y evolución de la cicatrización de heridas de manera macroscópica (Restrepo-Medrano & Verdú, 2011).

- a) En primera instancia se adaptó la escala a heridas limpias postquirúrgicas ya que está encaminada a heridas crónicas y úlceras.
- b) La escala RESVECH V.1.0 fue conformada por los nueve ítems originales, pero para nuestra valoración fueron tomados en cuenta seis ítems que incluyeron: 1) dimensiones de la lesión, 2) profundidad/tejidos afectados, 3) bordes, 4) tipo de tejido en el lecho de la herida, 5) exudado y 6) infección/inflamación (3 características). Los 3 ítems no valorados se calificaron con cero. La escala se puntuó numéricamente y se obtuvieron puntuaciones que oscilan entre 0 (cicatrización de la herida) y 24 puntos (herida en el peor estado).
- c) Se realizaron las valoraciones de la escala al día 0 (se entiende que es el día en que se inició la investigación), al día 2, al día 4 y al día 6.
- d) Las puntuaciones de cada ítem se anotaron en la ficha de campo elaborada para cada animal.
- e) Al final se sumaron las puntuaciones de todos los ítems por día, el valor tendrá que reducirse conforme pasas los días manifestando la cercanía a la cicatrización.

3.2.6.9. Recolección de las muestras para citología

- a) Las muestras se obtuvieron por medio de una impronta (Anexo18)
- b) Se realizaron limpiezas previas del área de donde se tomaron las muestras.
- c) Se utilizaron portaobjetos limpios que se apoyaron sobre las superficies del área cicatrizal y mediante una ligera presión lograr la adherencia de la muestra al portaobjetos.
- d) Obtenidas las muestras se secaron al aire y se procedió a teñirlas con la tinción de Diff-Quick

(Anexo 19) de la siguiente manera:

Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi
José Luis Orellana Parra



- Cinco a diez pases por el fijador (alcohol).
 - Cinco a diez pases por el colorante rojo (eosina).
 - Cinco a diez pases por el colorante azul (azul de metileno).
 - Una vez teñidas las muestras se lavaron con agua y se secaron al aire.
 - Al microscopio se observaron con los objetivos 10x y 100x (aceite de inmersión).
- e) Las muestras fueron tomadas los días 1, 3 y 5 de todos los animales tratados con los aceites ozonizados y sin ozonizar.
- f) Se observaron células inflamatorias presentes en el proceso de cicatrización, principalmente neutrófilos (Anexo 21, 22, 23 y 24) y de igual manera la presencia de bacterias que indicaron infección o cicatrización normal (Anexo 25, 26 y 27).

3.2.6.10. Evaluación de los resultados

Se comparó todos los datos obtenidos en la escala RESVECH V.1.0 de todos los animales tratados con los diferentes tratamientos para determinar cuál de ellos actuó de la mejor manera en el proceso de cicatrización.



4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos de esta investigación revelan la influencia que tiene el uso de aceites ozonizados sobre la cicatrización de heridas posquirúrgicas en perros.

RESVECH V.1.0:

Tabla 5: ANOVA unifactorial de la escala RESVECH V.1.0 al final del tratamiento.

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig |
|------------------------------|-------------------|----|------------------|------|------|
| Entre grupos de tratamientos | 10,34 | 3 | 3,44 | 0,55 | 0,64 |
| Dentro de grupos de casos | 173,87 | 28 | 6,21 | | |
| Total | 184,21 | 31 | | | |

En la tabla 5 de ANOVA unifactorial el valor del estadístico F es de 0,55; al obtenerse esta cifra no hay diferencias significativas entre los grupos de los tratamientos.

Tabla 6: Escala RESVECH V.1.0 al día 0 postquirúrgico.

| Día 0 | | | | |
|--------------------------------|----------|----------------------|-------|-------|
| Tratamientos | | Categoría Cicatrizal | | Total |
| | | Bueno | Malo | |
| Aceite De Oliva | Recuento | 0 | 8 | 8 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 100,0 |
| Aceite De Oliva O ₃ | Recuento | 0 | 8 | 8 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya | Recuento | 0 | 8 | 8 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya O ₃ | Recuento | 0 | 8 | 8 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 100,0 |
| Total | Recuento | 0 | 32 | 32 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 100,0 |

Bueno = 0-8 Malo = 9-16



En la tabla 6 se observó que al día 0 postquirúrgico el 100 % de los animales tratados con aceite de oliva sin ozonizar, con aceite de oliva ozonizado, con aceite de soya sin ozonizar y con aceite de soya ozonizado presentaron un grado de cicatrización malo (fig. 11).

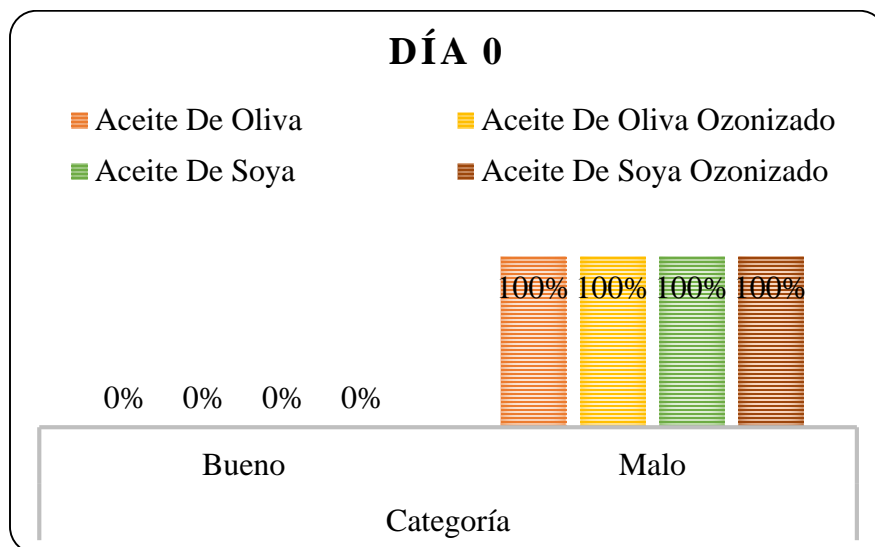


Figura 11: Porcentaje de cicatrización al día 0.

Tabla 7: Escala RESVECH V.1.0 al día 2 postquirúrgico.

| Día 2 | | | | |
|--------------------------------|----------|----------------------|-------|-------|
| Tratamientos | | Categoría Cicatrizal | | Total |
| | | Bueno | Malo | |
| Aceite De Oliva | Recuento | 0 | 8 | 8 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 100,0 |
| Aceite De Oliva O ₃ | Recuento | 2 | 6 | 8 |
| | % | 25,0 | 75,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya | Recuento | 0 | 8 | 8 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya O ₃ | Recuento | 1 | 7 | 8 |
| | % | 12,5 | 87,5 | 100,0 |
| Total | Recuento | 3 | 29 | 32 |
| | % | 9,4 | 90,6 | 100,0 |

Bueno = 0-8 Malo = 9-16



En la tabla 7 se observó que los tratamientos con aceite de oliva sin ozonizar y con aceite de soja sin ozonizar revelaron un grado de cicatrización malo del 100 %. El tratamiento con aceite de oliva ozonizado revelo una buena cicatrización en un 25 % y 75 % de mala cicatrización. El tratamiento con aceite de soja ozonizado revelo un grado de cicatrización bueno en un 12,5 % y malo en un 87,5 % (fig. 12).

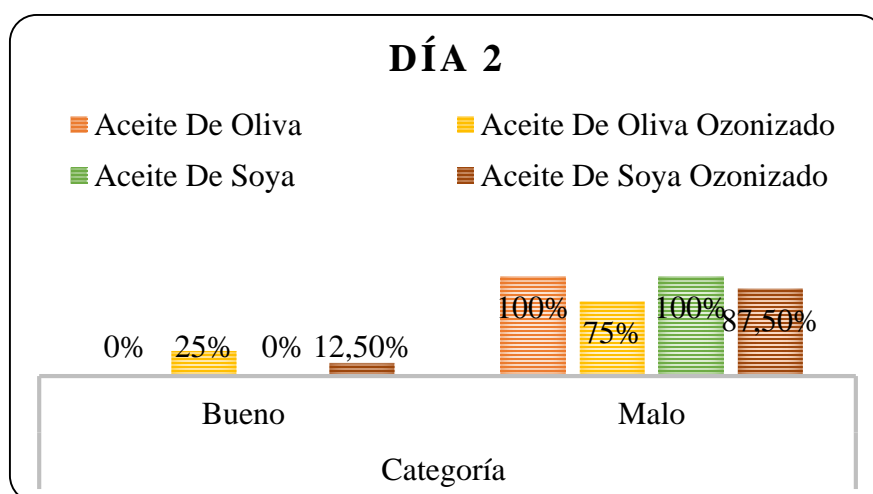


Figura 12: Porcentaje de cicatrización al día 2

Tabla 8: Escala RESVECH V.1.0 al día 4 postquirúrgico.

| Día 4 | | | | |
|--------------------------------|----------|----------------------|------|-------|
| Tratamientos | | Categoría Cicatrizal | | Total |
| | | Bueno | Malo | |
| Aceite De Oliva | Recuento | 4 | 4 | 8 |
| | % | 50,0 | 50,0 | 100,0 |
| Aceite De Oliva O ₃ | Recuento | 6 | 2 | 8 |
| | % | 75,0 | 25,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya | Recuento | 8 | 0 | 8 |
| | % | 100,0 | 0,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya O ₃ | Recuento | 7 | 1 | 8 |
| | % | 87,5 | 12,5 | 100,0 |
| Total | Recuento | 25 | 7 | 32 |
| | % | 78,1 | 21,9 | 100,0 |

Bueno = 0-8 Malo = 9-16



En la tabla 8 el tratamiento con aceite de oliva sin ozonizar presentó un grado de cicatrización bueno y malo en un 50 %. El tratamiento con aceite de oliva ozonizado presentó una mala cicatrización en un 25 % y buena cicatrización en un 75 %. El tratamiento con aceite de soya sin ozonizar presentó una buena cicatrización en un 100 %. El tratamiento con aceite de soya ozonizado presentó un grado de cicatrización malo en un 12,5 % y bueno en un 87,5 % (fig. 13).

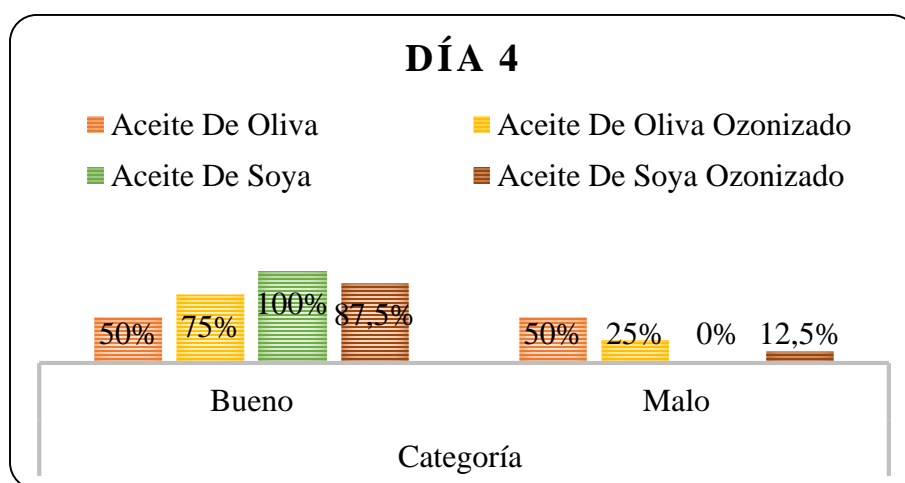


Figura 13: Porcentaje de cicatrización al día 4.

Tabla 9: Escala RESVECH V.1.0 al día 6 postquirúrgico.

| Día 6 | | | | |
|--------------------------------|----------|----------------------|------|-------|
| Tratamientos | | Categoría Cicatrizal | | Total |
| | | Bueno | Malo | |
| Aceite De Oliva | Recuento | 8 | 0 | 8 |
| | % | 100,0 | 0,0 | 100,0 |
| Aceite De Oliva O ₃ | Recuento | 8 | 0 | 8 |
| | % | 100,0 | 0,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya | Recuento | 8 | 0 | 8 |
| | % | 100,0 | 0,0 | 100,0 |
| Aceite De Soya O ₃ | Recuento | 7 | 1 | 8 |
| | % | 87,5 | 12,5 | 100,0 |
| Total | Recuento | 31 | 1 | 32 |
| | % | 96,9 | 3,1 | 100,0 |

Bueno = 0-8 Malo = 9-16



En la tabla 9 se observó que al día 6 postquirúrgico el 100 % de los animales tratados con aceite de oliva sin ozonizar, aceite de oliva ozonizado, aceite de soya sin ozonizar presentaron un grado de cicatrización bueno. El tratamiento con aceite de soya ozonizado presentó una mala cicatrización en un 12,5 % y una buena cicatrización en un 87,5 % (fig. 14).

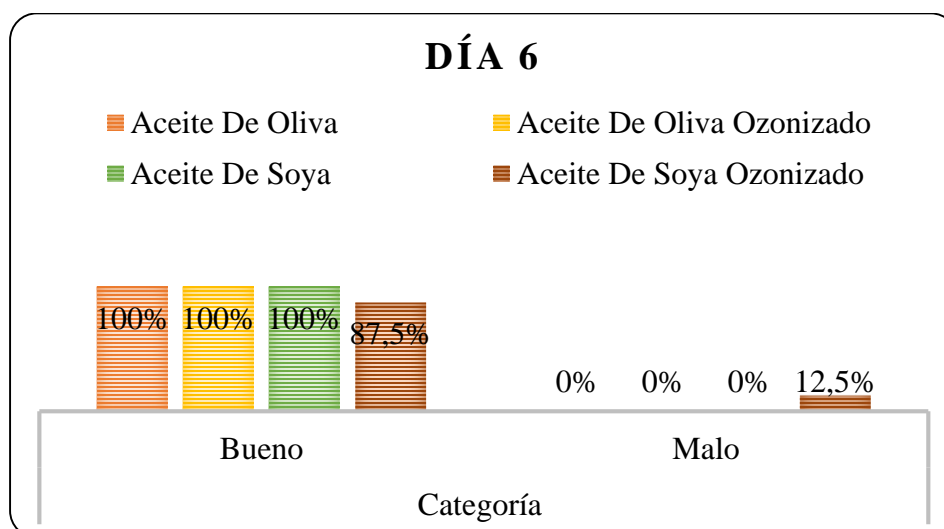


Figura 14: Porcentaje de cicatrización al día 6.

Citología:

Tabla 10: Prueba de chi – cuadrado para los polimorfonucleares.

| | Valor | gl | Significación asintótica (bilateral) |
|------------------------------|-------|----|--------------------------------------|
| Chi-cuadrado de Pearson | 4,00 | 3 | 0,26 |
| Razón de verosimilitud | 5,82 | 3 | 0,12 |
| Asociación lineal por lineal | 0,00 | 1 | 1,00 |

Nótese que en la tabla 10 el valor de chi cuadrado de pearson fue de 0,26; lo que manifiesta que la presencia de células epiteliales es totalmente independiente al tipo de tratamiento aplicado.

**Tabla 11:** Presencia de polimorfonucleares en los diferentes días de los tratamientos.

| POLIMORFONUCLEARES | | | | | | | |
|--------------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Tratamientos | | D1PMN | | D3PMN | | D5PMN | |
| | | A | P | A | P | A | P |
| Aceite de Oliva | Recuento | 2 | 6 | 0 | 8 | 3 | 5 |
| | % | 25,0 | 75,0 | 0,0 | 100,0 | 37,5 | 62,5 |
| Aceite de Oliva O ₃ | Recuento | 0 | 8 | 0 | 8 | 0 | 8 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 0,0 | 100, | 0,0 | 100,0 |
| Aceite de Soya | Recuento | 0 | 8 | 1 | 7 | 3 | 5 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 12,5 | 87,5 | 37,5 | 62,5 |
| Aceite de soya O ₃ | Recuento | 0 | 8 | 1 | 7 | 2 | 6 |
| | % | 0,0 | 100,0 | 12,5 | 87,5 | 25,0 | 75,0 |
| Total | Recuento | 2 | 30 | 2 | 30 | 8 | 24 |
| | % | 6,3 | 93,8 | 6,3 | 93,8 | 25,0 | 75,0 |

D1PMN = Día 1 Polimorfonucleares D3PMN = Día 3 Polimorfonucleares D5PMN = Día 5 Polimorfonucleares
A = Ausencia P = Presencia

Se observó que en el tratamiento con aceite de oliva al día 1 posexpiramentación la cantidad de polimorfonucleares tuvo una ausencia del 25 % y 75 % de presencia, al día 3 los polimorfonucleares tuvieron una ausencia del 0 % y una presencia del 100 % y al día 5 la ausencia fue del 37,5 % y la presencia del 62,5 %.

El aceite de oliva ozonizado en el día 1, 3 y 5 tuvo un 100 % de presencia de polimorfonucleares; en el aceite de soya al día 1 posquirúrgico la cantidad de polimorfonucleares tuvo una presencia del 100 %, al día 3 la ausencia tuvo un 12,5 % y la presencia un 87,5 % y al día 5 la ausencia fue del 37,5 % y la presencia del 62,5 %.

El aceite de soya ozonizado mostro una celularidad de polimorfonucleares en el día 1 una presencia del 100 %; en el día 3 la ausencia fue del 12,5 % y la presencia del 87,5 %; al día 5 la ausencia tuvo un 25 % y un 75 % de presencia (fig. 15).

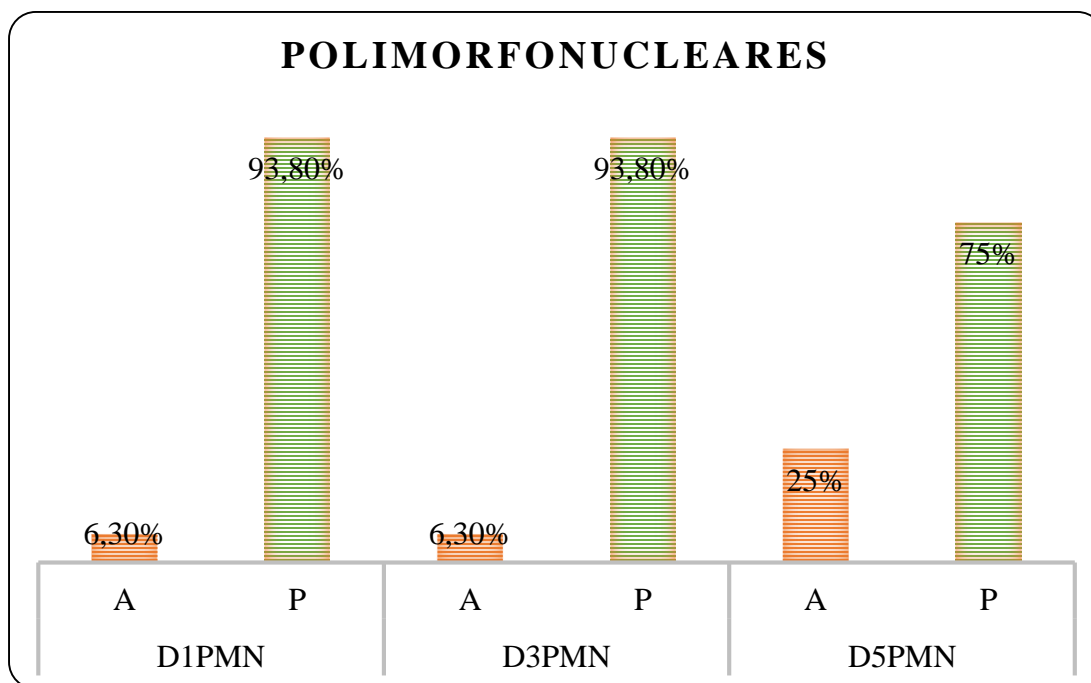


Figura 15: Porcentaje total de los polimorfonucleares.

Tabla 12: Prueba de chi – cuadrado para las células epiteliales.

| | Valor | gl | Significación asintótica (bilateral) |
|------------------------------|-------|----|---|
| Chi-cuadrado de Pearson | 4,04 | 3 | 0,25 |
| Razón de verosimilitud | 4,88 | 3 | 0,18 |
| Asociación lineal por lineal | 0,07 | 1 | 0,79 |

Nótese que en la tabla 12 el valor de chi cuadrado de pearson fue de 0,25; lo que manifiesta que la presencia de células epiteliales es totalmente independiente al tipo de tratamiento aplicado.

**Tabla 13:** Presencia de células epiteliales en los diferentes días de los tratamientos.

| CÉLULAS EPITELIALES | | | | | | | |
|--------------------------------|----------|-------|------|------|------|------|-------|
| Tratamientos | | D1CE | | D3CE | | D5CE | |
| | | A | P | A | P | A | P |
| Aceite de Oliva | Recuento | 3 | 5 | 1 | 7 | 0 | 8 |
| | % | 37,5 | 62,5 | 12,5 | 87,5 | 0,0 | 100,0 |
| Aceite de Oliva O ₃ | Recuento | 8 | 0 | 2 | 6 | 0 | 8 |
| | % | 100,0 | 0,0 | 25,0 | 75,0 | 0,0 | 100,0 |
| Aceite de Soya | Recuento | 4 | 4 | 1 | 7 | 0 | 8 |
| | % | 50,0 | 50,0 | 12,5 | 87,5 | 0,0 | 100,0 |
| Aceite de soya O ₃ | Recuento | 4 | 4 | 1 | 7 | 0 | 8 |
| | % | 50,0 | 50,0 | 12,5 | 87,5 | 0,0 | 100,0 |
| Total | Recuento | 19 | 13 | 5 | 27 | 0 | 32 |
| | % | 59,4 | 40,6 | 15,6 | 84,4 | 0,0 | 100,0 |

D1CE = Día 1 células epiteliales D3CE = Día 3 células epiteliales D5CE = Día 5 células epiteliales
A = Ausencia P = Presencia

Se observó en la tabla 13 que en el tratamiento con aceite de oliva al día 1 luego del experimento la cantidad de células epiteliales tuvo una ausencia del 37,5 % y 62,5 % de presencia, al día 3 las células epiteliales tuvieron una ausencia del 12,5 % y una presencia del 87,5 % y al día 5 la presencia fue del 100 %.

El aceite de oliva ozonizado en el día 1 tuvo un 100 % de ausencia de células epiteliales; en el día 3 la ausencia tuvo un 25 % y la presencia un 75 %; en el día 5 la presencia fue del 100 %.

En el aceite de soya al día 1 posquirúrgico la cantidad de células epiteliales tuvo una presencia del 50 %, al igual que la ausencia, es decir del 50 %; al día 3 la ausencia tuvo un 12,5 % y la presencia un 87,5 %; y al día 5 la presencia del 100 %.

El aceite de soya ozonizado presentó un porcentaje de células epiteliales al día 1 una presencia y ausencia del 50 %; en el día 3 la ausencia fue del 12,5 % y la presencia del 87,5 %; al día 5 la presencia del 100 % (fig. 16).

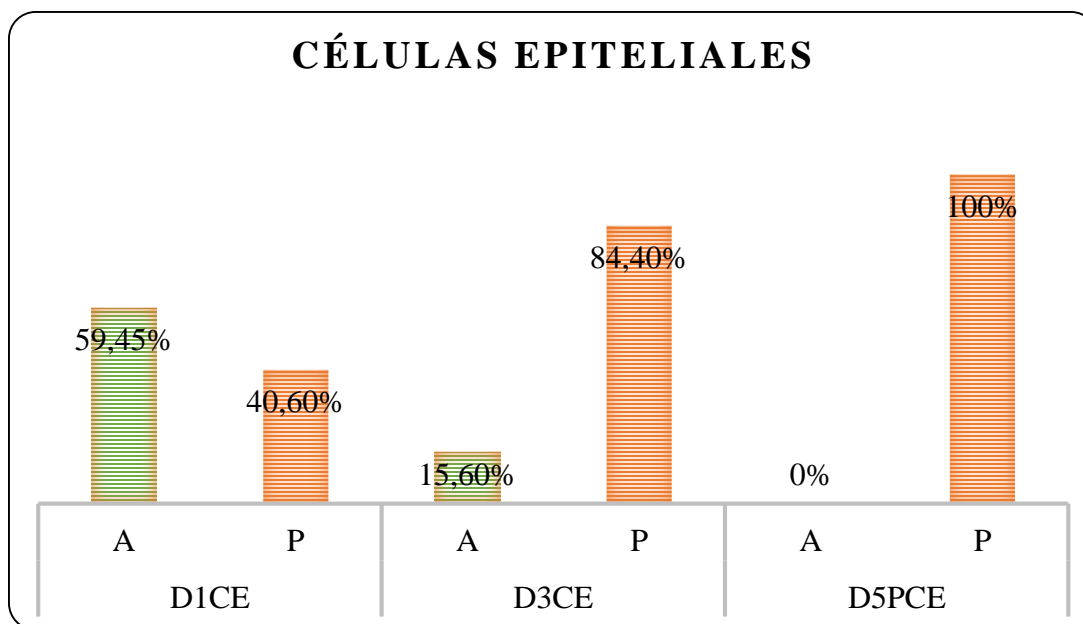


Figura 16: Porcentaje total de células epiteliales

Tabla 14: Prueba de chi – cuadrado para la fibrina.

| | Valor | gl | Significación asintótica (bilateral) |
|------------------------------|-------|----|---|
| Chi-cuadrado de Pearson | 2,46 | 3 | 0,48 |
| Razón de verosimilitud | 2,47 | 3 | 0,47 |
| Asociación lineal por lineal | 1,23 | 1 | 0,26 |

Nótese que en la tabla 14 el valor de chi cuadrado de pearson fue de 0,48; lo que manifiesta que la presencia de células epiteliales es totalmente independiente al tipo de tratamiento aplicado.

**Tabla 15:** Presencia de fibrina en los diferentes días de los tratamientos.

| Tratamientos | | FIBRINA | | | | | |
|--------------------------------|----------|---------|------|------|------|------|------|
| | | D1F | | D3F | | D5F | |
| | | A | P | A | P | A | P |
| Aceite de Oliva | Recuento | 5 | 3 | 3 | 5 | 2 | 6 |
| | % | 62,5 | 37,5 | 37,5 | 62,5 | 25,0 | 75,0 |
| Aceite de Oliva O ₃ | Recuento | 7 | 1 | 6 | 2 | 3 | 5 |
| | % | 87,5 | 12,5 | 75,0 | 25,0 | 37,5 | 62,5 |
| Aceite de Soya | Recuento | 6 | 2 | 4 | 4 | 2 | 6 |
| | % | 75,0 | 25,0 | 50,0 | 50,0 | 25,0 | 75,0 |
| Aceite de soya O ₃ | Recuento | 6 | 2 | 3 | 5 | 5 | 3 |
| | % | 75,0 | 25,0 | 37,5 | 62,5 | 62,5 | 37,5 |
| Total | Recuento | 24 | 8 | 16 | 16 | 12 | 20 |
| | % | 75,0 | 25,0 | 50,0 | 50,0 | 37,5 | 62,5 |

D1F = Día 1 Fibrina D3F = Día 3 Fibrina D5F = Día 5 Fibrina A = Ausencia P = Presencia

Se observó en la tabla 15 que en el tratamiento con aceite de oliva al día 1 luego del experimento la cantidad de fibrina tuvo una presencia del 37,5 % y 62,5 % de ausencia, al día 3 la ausencia del 37,5 % y una presencia del 62,5 %; al día 5 la ausencia fue del 25 % y la presencia fue del 75 %.

El aceite de oliva ozonizado en el día 1 tuvo un 12,5 % de presencia y un 87,5 % de ausencia de fibrina; en el día 3 la presencia tuvo un 25 % y la ausencia un 75 %; en el día 5 la ausencia tuvo un 37,5 % la presencia un 62,5%.

En el aceite de soya al día 1 posquirúrgico la cantidad de fibrina tuvo una presencia del 25 %, y la ausencia del 75 %; al día 3 la ausencia y la presencia tuvo un 50 %; y al día 5 la ausencia fue del 25 % y la presencia del 75 %.

El aceite de soya ozonizado presentó un porcentaje de fibrina al día 1 una ausencia del 25 % y 75 % de presencia; en el día 3 la ausencia fue del 37,5 % y la presencia del 62,5 %; al día 5 la presencia del 37,5 % y la ausencia del 62,5 % (fig. 17).

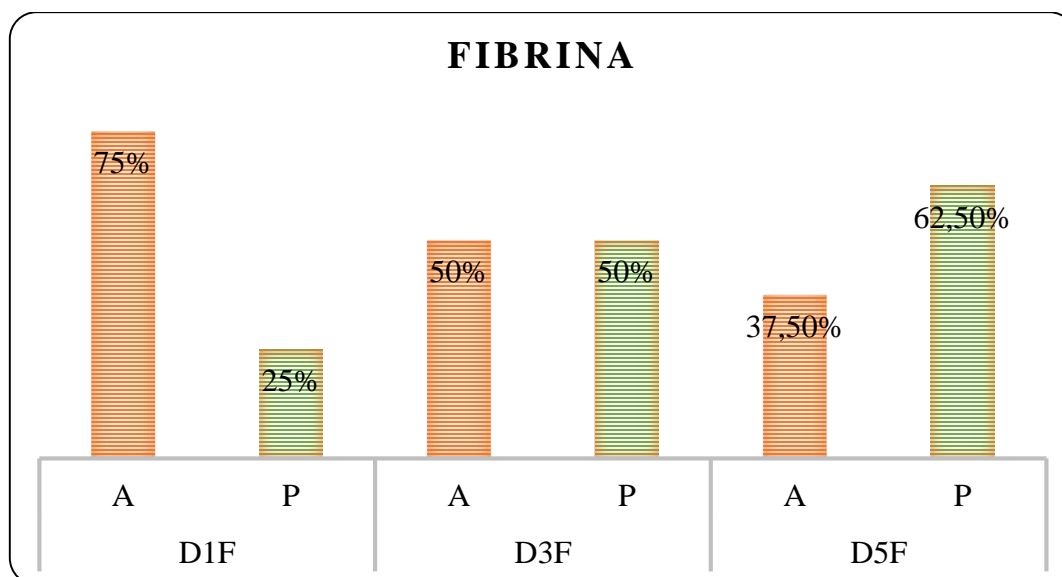


Figura 17: Porcentaje total de fibrina.

Tabla 16: Prueba de chi – cuadrado para las bacterias.

| | Valor | gl | Significación asintótica (bilateral) |
|------------------------------|-------|----|--------------------------------------|
| Chi-cuadrado de Pearson | 1,10 | 3 | 0,77 |
| Razón de verosimilitud | 1,82 | 3 | 0,60 |
| Asociación lineal por lineal | ,64 | 1 | 0,42 |

Nótese que en la tabla 16 el valor de chi cuadrado de pearson fue de 0,77; lo que manifiesta que la presencia de células epiteliales es totalmente independiente al tipo de tratamiento aplicado.

**Tabla 17:** Presencia de bacterias en los diferentes días de los tratamientos.

| Tratamientos | | BACTERIAS | | | | | |
|--------------------|----------|-----------|------|-------|------|-------|------|
| | | D1B | | D3B | | D5B | |
| | | A | P | A | P | A | P |
| Aceite de Oliva | Recuento | 8 | 0 | 8 | 0 | 8 | 0 |
| | % | 100,0 | 0,0 | 100,0 | 0,0 | 100,0 | 0,0 |
| Aceite de Oliva O3 | Recuento | 7 | 1 | 7 | 1 | 8 | 0 |
| | % | 87,5 | 12,5 | 87,5 | 12,5 | 100,0 | 0,0 |
| Aceite de Soya | Recuento | 8 | 0 | 7 | 1 | 6 | 2 |
| | % | 100,0 | 0,0 | 87,5 | 12,5 | 75,0 | 25,0 |
| Aceite de soya O3 | Recuento | 7 | 1 | 6 | 2 | 7 | 1 |
| | % | 87,5 | 12,5 | 75,0 | 25,0 | 87,5 | 12,5 |
| Total | Recuento | 30 | 2 | 28 | 4 | 29 | 3 |
| | % | 93,8 | 6,3 | 87,5 | 12,5 | 90,6 | 9,4 |

D1B = Día 1 Bacterias D3B = Día 3 Bacterias D5B = Día 5 Bacterias A = Ausencia P = Presencia

Se observó en la tabla 17 que en el tratamiento con aceite de oliva al día 1, 3 y 5 posexpirimentación la cantidad de bacterias tuvo una ausencia fue del 100 %.

El aceite de oliva ozonizado en el día 1 y 3, tuvo un 12,5 % de presencia y un 87,5 % de ausencia de bacterias; en el día 5 la ausencia fue del 100 %.

En el aceite de soya al día 1 posquirúrgico la cantidad de bacterias tuvo una ausencia del 100 %; al día 3 tuvo un 12,5 % de presencia y 87,5 % de ausencia; al día 5 la presencia fue del 25 % y la ausencia fue del 75 %.

El aceite de soya ozonizado presentó un porcentaje de bacterias al día 1 una presencia del 12,5 % y 87,5 % de ausencia; en el día 3 la presencia fue del 25 % y la ausencia del 75 %; al día 5 la presencia del 12,5 % y la ausencia del 87,5 % (fig. 18).

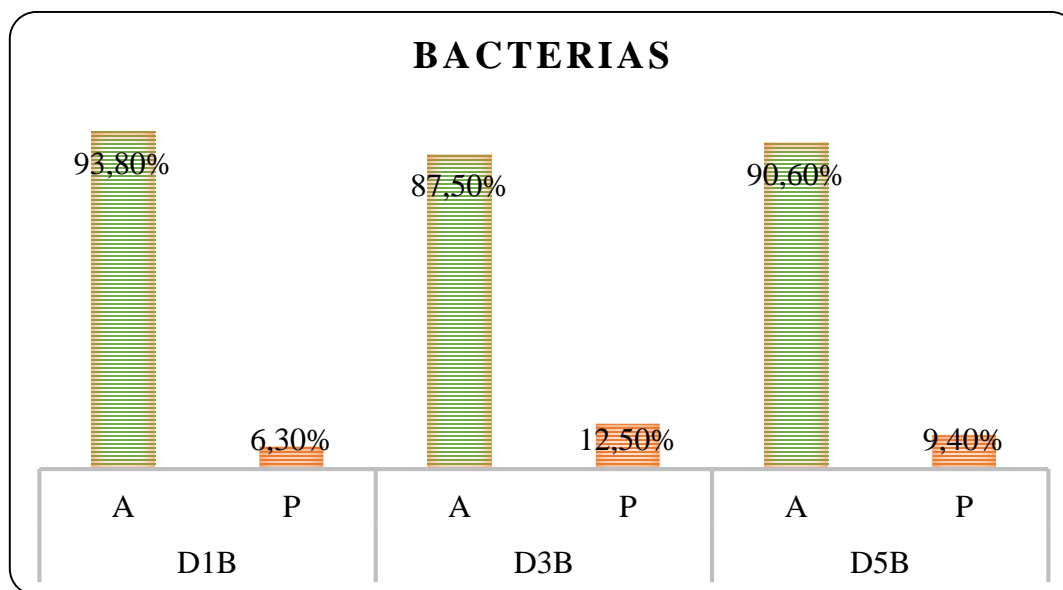


Figura 18: Porcentaje total de bacterias.



5. DISCUSIONES

De los 32 casos de heridas por orquiectomía preescrotal, se debe considerar que desde el punto de vista práctico se ha conseguido el objetivo propuesto en el trabajo, es decir un 100 % en el rango de buena cicatrización con la aplicación tópica del aceite de oliva ozonizado, y el aceite de soya ozonizado tuvo un 87,5 % de buena cicatrización. Con los grupos control de los aceites sin ozonizar se obtuvo una cicatrización del 100 %. En porcentajes totales para todos los grupos se obtuvo un 96,95 % de buena cicatrización y un 3,05 % de mala cicatrización. Según los indicadores clínicos de la escala RESVECH V.1.0 (Restrepo-Medrano & Verdú, 2011) no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos con aceites vegetales ozonizados y los grupos testigos, sobre la cicatrización heridas posquirúrgicas en los perros.

En su estudio Camps *et al.* (2006) comprobaron la capacidad regeneradora en tejidos, con el aceite de girasol ozonizado (Oleozón) tópico, en heridas por castración a 15 cerdos Yorkshire, de 90 días y 63 Lbs. Al grupo A se le aplicó placebo una vez al día, al grupo B se le administró Oleozón 1 vez al día y al grupo C se le aplicó Oleozón 2 veces al día, todos por cinco días. Las heridas del grupo C mejoraron en un 52,3 % mayor que el grupo B que tuvo un 18 % mayor que el control; manifestando la capacidad cicatrizante del aceite ozonizado en las dos investigaciones, las cuales difieren por el empleo de un placebo, diferencias de especies y el tamaño de la muestra.

Camps, Denis, Labrada, Santana, & Suárez (2003) afirmaron que las heridas de 18 aves semirústicas; con el tratamiento con Oleozón tuvo un 25,9% de mayor cicatrización cuando se lo aplicó dos veces al día y un 13,6 % cuando se aplicó una vez al día. Resultado con una diferencia de la presente investigación puesto se evidencio un 12,5 % de mayor cicatrización del aceite de oliva ozonizado que el aceite de soya ozonizado.



Matsumoto, Sakurai, Shinriki, Suzuki, & Miura (2001) comprobaron el efecto cicatrizante del aceite de oliva ozonizado, al utilizarlo de forma tópica en 20 pacientes humanos con fístulas y heridas complicadas posquirúrgicas, obtuvieron un 95% de efectividad con este tratamiento con mayor proliferación del tejido de granulación. Datos que corroboran el efecto del aceite de oliva ozonizado en caninos que tuvo un 100 % de eficacia.

Camps, Nabil, & Cuesta (2006) realizaron tratamientos tópicos a heridas por fricción en caballos. Donde se aplicó Oleozón, Violeta de Genciana y Aceite de girasol con una dosis de 0.1 ml/2.25 cm². El Oleozón reduce el tiempo de cicatrización a 8.8 días, mientras que con la violeta de genciana tarda 11.6 días, y con el aceite a 13.4 días. En cambio el presente estudio obtuvo una cicatrización completa a los 7 días tanto con los aceites ozonizados como con los placebos; diferencias dadas por el tipo de aceites y su capacidad de adhesión al ozono.

Millares, Cisero, Fitch, & Magdalena (2013) evaluaron infecciones de incisiones abdominales en caballos; se utilizó ozono-gas, agua destilada ozonizada y aceites ozonizados simultáneamente; los aceites ozonizados mostraron una capacidad adherente favoreciendo la permanencia del ozono, y se mejoró el tejido de granulación. Demostrando la eficacia del ozono en la cicatrización, con factores de complicación y varios vehículos, aspectos que cambian en el trabajo de heridas por castración en perros.

García *et al.* (2010) trataron 11 equinos con heridas de evolución lenta; los cuales fueron sometidos a un tratamiento de ozonoterapia en cavidad cerrada. En la totalidad de los casos cicatrizaron áreas superiores al 70 % en 30 días, observándose una reparación evidente y sin signos infecciosos. Los perros de esta investigación tuvieron una cicatrización del 100 % en su área de incisión, debido a que su herida fue pequeña (3 cms); y el vehículo de aplicación del ozono fueron los aceites que le brinda estabilidad y adherencia a la piel.



Sanchez *et al.* (1998) estudiaron al aceite de girasol ozonizado en la cicatrización de heridas de piel en ratones. Se obtuvo un valor de diámetro medio de la herida para el grupo control de 1,65 mm², mientras que para el grupo Oleozón de 1,18 mm². En tanto en las heridas de los perros al séptimo día posquirúrgico presentaron un diámetro de 20 mm² con el aceite de soya ozonizado y 8 mm² con el aceite de oliva ozonizado; demostrando en los dos casos su acción cicatrizante.

En lo referente a los tratamientos testigos con aceites vegetales se obtuvo un buen rango de cicatrización debido a sus propiedades regeneradoras dados por los ácidos insaturados como el oleico y linoleico, que además brindan excelente adhesión a la molécula de O₃ y son los componentes normales de la piel; como los demostraron Eurides, Franco Da Silva, Dalek, Coletto, & Borges (2011) en la cicatrización de heridas experimentales en ratones, donde el aceite rosa de mosqueta mejoró a los 21 días los tejidos de granulación, contracción de la herida y su coloración.

En los estudios citológicos se visualizó la presencia/ausencia de polimorfonucleares, células epitiales, fibrina y bacterias. En los indicadores citológicos no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos, pero numéricamente los resultados expresaron lo siguiente.

En esta investigación al día 1 y 3 se obtuvo 93.8 % de neutrófilos y al día 5 un 75 %. Resultados similares los obtuvieron Guallasamin & Moreno (2013) en un corte experimental de 4.5 cm² en el dorso de perros con una presencia de 92,5 % de neutrófilos al día 3, 82 % al día 12 y 76.9 % al día 15; esto debido a que los polimorfonucleares primordiales son los neutrófilos por ser la primera línea de defensa del organismo y están con frecuencia en preparaciones de piel inflamada. Su presencia elevada es normal los primeros días para el proceso de fagocitosis, disminuyen paulatinamente al final por que empiezan a recibir ayuda de los macrófagos.



Sánchez *et al.* (1998) conjuntamente con Barroetabeña, Sánchez, & Guerra (1997) encontraron que al emplear aceite de girasol y Oleozón en heridas de ratones, en los estudios histopatológicos observaron abundantes polimorfonucleares en la herida, alcanzando grandes proporciones desde las 24 h hasta los 10 días, después disminuyeron levemente en los dos tratamientos. Park, Lee & Kim (2010) tuvieron hallazgos histopatológicos significativos en la reducción de células inflamatorias al día 14 en los cortes de los cascos de cabras coreanas. Se manifiesta una disminución similar en neutrófilos del estudio citológico en perros, en cambio las tres investigaciones estudiaron los polimorfonucleares con histopatología que brindan mayor especificidad para dichas conclusiones.

Respecto a células epiteliales y fibrina que son elementos comunes que van apareciendo en el proceso cicatrizal, para la reparación tisular; los datos de la presencia obtenidos para las células epiteliales fueron al día 1 un 40,6 %, al día 3 un 84,4 % y día 5 un 100 %; la fibrina tuvo un presencia al día 1 de 25 %, al día 3 un 50 % y al día 5 un 62,5 % de todos los tratamientos. Datos que se relacionan con los resultados de Guallasamin & Moreno (2013) que hallaron un incremento de los fibroblastos, células específicas de las redes de fibrina.

Kim, Noh, & Han (2009) visualizaron en la histología de heridas de cobayos tratados con aceite de oliva ozonizado una mayor formación de fibras de colágeno y un elevado número de fibroblastos. En tanto los estudios inmunohistoquímicos demostraron un incremento de los factores de crecimiento. Datos valiosos que la presente investigación no puede confirmar puesto la citología efectuada no tiene dichos alcances, aunque si se pudo observar la red de fibrina hasta el séptimo día de cicatrización.



En el presente estudio las bacterias indican el grado de infección de las heridas, los datos de presencia registrados fueron al día 1 de un 6,3 %, un 12,5% al día 3 y un 9,4 % al día 5, lo que manifestó una mínima infección, así como el poder germicida del ozono, como en el experimento de Pacheco (2012) donde tuvo una carga de staphylococcus aureus en oídos de caninos del 36 %, tras 21 días de tratamiento con una crema de aceite de oliva ozonizado de 2 gr. se redujó al 0 % de los microorganismos.



6. CONCLUSIONES

La investigación demostró la efectividad cicatrizante del ozono a través de su uso tópico en heridas limpias, obteniéndose resultados satisfactorios en todos los pacientes, pero estadísticamente sin diferencias significativas entre todos los tratamientos.

El uso de los aceites vegetales por sí solos son una buena opción terapéutica para tratar heridas quirúrgicas pequeñas, por su composición y propiedades; además presentan la ventaja de ser accesibles y de bajo costo.

Los aceites ozonizados son eficaces en el tratamiento de heridas por castración, ya que son seguros, de fácil y rápida aplicación, no son agresivos con los tejidos y no tienen efectos colaterales a comparación de los tratamientos convencionales que si no son utilizados de manera adecuada conllevan a resistencias bacterianas.

El estudio citológico reveló que la presencia de polimorfonucleares en especial los neutrófilos, se comportó de igual manera tanto para los pacientes tratados con aceites vegetales, así como para los tratados con los aceites ozonizados, en los dos casos se controló la inflamación e infección de igual manera, sin diferencias significativas entre los tratamientos.

La evaluación citológica no es la mejor técnica para evaluar el proceso cicatrizal ya que sus indicadores pueden dificultar la interpretación y no son exactos en un 100%. El estudio histopatológico debería incluirse en estos trabajos ya que permite apreciar de mejor manera la estructura del tejido en cicatrización.

El ozono es una valiosa herramienta en medicina veterinaria para tratar heridas, pues las mismas responden muy bien en cuanto a asepsia y resolución, pese a que no hay aceleración en el proceso.



7. RECOMENDACIONES

Para determinar con plena exactitud el grado de cicatrización en el día que se muestree se sugiere efectuar un estudio histopatológico, donde se puede obtener información más específica del estado de la herida, en cuanto a factores de crecimiento celular, angiogénesis, agentes de la inmunidad y componentes celulares.

Implementar en la clínica diaria el uso de los aceites ozonizados en la cicatrización de heridas, ya que han presentado resultados muy satisfactorios.

Plantear el uso de tratamientos testigos en base a una terapéutica convencional farmacológica, para evaluar su comportamiento frente a los aceites ozonizados.

Continuar con este estudio utilizando diferentes concentraciones de ozono en los aceites, al igual que comprobar su eficacia en heridas abiertas con pérdida de piel para valorar de mejor manera la escala RESVECH V.1.0.

En futuros trabajos de investigación se exhorta a utilizar otro tipo de variables como pacientes que presenten diferencias en cuanto a raza, sexo, edad, condición corporal, y hábitat para valorar los resultados que se obtienen al manipular estos factores, puesto que este experimento uso únicamente perros mestizos los cuales tienen características mayores de resistencia dada por la heterosis.

Utilizar esta terapia en otras especies de interés, y en otros ámbitos de la medicina veterinaria como la dermatología, oncología, odontología, gastroenterología, inmunología, etc., corroborando su poder terapéutico e inclusive se podría utilizar otro tipo de aceite como el aceite de girasol ozonizado cuyo uso esta patentado.



8. LISTA DE REFERENCIAS

- Ackerman, L. (2008). *Atlas De Dermatología En Pequeños Animales* (Vol. I). Ciudad Autónoma de Buenos Aires – República Argentina, Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter-Médica S.A.I.C.I. Recuperado el 10 de Marzo de 2015
- Alves, G., Abreu, J., & Ribeiro Filho, J. (2004). Efeitos do ozonio nas lesoes de reperfusao do jejuno em equinos.
- Andrades, P., Sepúlveda, S., & González, J. (Junio de 2004). Curación Avanzada de Heridas. *Revista Chilena de Cirugía*, 56(4), 396 - 403. Recuperado el 03 de Marzo de 2015
- Arencibia, R., Leyva, Y., Collymore, A., & Araújo, J. (Enero-Febrero de 2006). *Producción científica sobre aplicaciones terapéuticas del ozono en el Web of Science*. Recuperado el 2015, de Web of Science.: http://bvs.sld.cu/revistas/aci/vol14_1_06/aci07106.htm
- Asociación Argentina De Dermatología. (2009). *Consenso sobre Cicatrización de heridas*, 14(4), 3-9. Recuperado el 28 de Mayo de 2015, de <http://www.dermatolarg.org.ar/index.php/dermatolarg/article/view/240/104>
- Asociacion Cientifica Española de Oxigeno-Ozono Terapia. (03 de Marzo de 2014). *Asociacion Cientifica Española de Oxigeno-Ozono Terapia*. Obtenido de Asociacion Cientifica Española de Oxigeno-Ozono Terapia: <http://www.aceoot.org/>
- Avilés, M., Bermell, B., Ruiz, R., Valera, C., Pérez, A., & Hormigo, M. (01 de Septiembre de 2016). Enfoque terapéutico con ozonoterapia en la clínica diaria. (C. Lacoma, Ed.) *Revista Argos*(181), 56-57. Recuperado el 2016
- Barroetabeña, A., Sánchez, A., & Guerra, J. (1997). *Acción del aceite ozonizado sobre el proceso inflamatorio en heridas de piel de animales de experimentación*. Universidad María Grajales, Ciencias Médicas, Holguin. Recuperado el mayo de 2017



- Barros, J. (4 de Agosto de 2011). *Ozonoterapia Madrid*. Recuperado el 15 de Mayo de 2015, de Ozonoterapia Madrid: http://www.homeopatiamadrid.net/?page_id=14
- Bartolini, V., Martínez, M., Zampatti, M., Puggia, C., Riquelme, C., Warcok, M., . . . Dománico, R. (2004). *INTI-Química*. Recuperado el 15 de Mayo de 2015, de INTI-Química: <http://www.inti.gob.ar/quimica/>
- Biblián, GAD;. (2014). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de Biblián*. GAD Biblián,. Recuperado el 08 de Junio de 2015
- Bocci, V. (2005). *Ozone A New Medical Drug* (Primera ed.). Dordrecht, Alemania: Springer. Recuperado el 21 de Mayo de 2015
- Calabrese, G. (15 de Mayo de 2012). La Ozonoterapia, nuevo elemento terapéutico en dermatología. *Tendencias En Medicina*, 40(1), 101-05.
- Camps Ramírez, A., Calles, B., Denis, R., & Labrada, A. (Octubre de 2006). El Oleozón, una nueva perspectiva de tratamiento en la Medicina Veterinaria. *REDVET*, 7(10), 1-5.
- Camps, A. M., Janine, D., Rosales, A., Rosete, M., & Rodríguez, J. (01 de Septiembre de 2012). Aplicación tópica del Oleozón en la sarna psoróptica del conejo. *Revista Veterinaria Argentina*, 29(293), 1-17. Recuperado el 2015
- Camps, A., Denis, R., Labrada, A., Santana, K., & Suárez, Y. (2003). *Utilización del Oleozón como alternativa de tratamiento en Medicina Veterinaria y su impacto en la salud animal*. Universidad De Granma, Medicina Veterinaria, Holguin. Recuperado el 15 de mayo de 2017



- Camps, A., Nabil, J., & Cuesta, A. (Diciembre de 2006). Aplicación tópica del oleozón como alternativa de tratamiento en lesiones causadas por fricción en caballos de tiro; considerando algunos indicadores hematológicos. *Redvet*, 7(12), 1-23. Recuperado el 9 de mayo de 2017
- Cervera, M. J. (20 de Abril de 2010). *La Ozonoterapia Como Tratamiento Médico*. Obtenido de: <http://www.telefonica.net/web2/acofifa/alternativa/ozonoterapia.htm>
- Chiappe, A. (22 de Febrero de 2013). *Cicatrización*. Obtenido de Cicatrización: http://www.susmedicos.com/art_cicatrices_Chiappe.htm
- Cidon Madriga, J. L. (2007). *Tratado de ozonoterapia* (Primera ed.). España: La Salud, Naturalmente. Recuperado el 2015
- Cidón, J. L. (20 de Febrero de 2015). *Clínica del Doctor Cidón Madrigal*. Obtenido de Clínica del Doctor Cidón Madrigal: <http://www.doctorcidon.com/tratamientos-ozonoterapia.html>
- Copello, M., Menéndez, S., & Schwartz, A. (2012). Efectos del aceite ozonizado en la Conjuntivitis Hemorrágica Epidémica. (AEPROMO, Ed.) *Revista Española de Ozonoterapia*, 2(1), 107-120.
- Del Pueyo Montesinos, G. (2011). *Fisioterapia y rehabilitación veterinaria* (Primera ed.). Madrid, España: Servet. Recuperado el 12 de Junio de 2015
- Díaz, J. (Abril-Junio de 2013). Efecto modulador de la ozonoterapia sobre la actividad del sistema inmune. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 29(2), 1-2.
- Díaz, M., Fernández, H., Hernández, D., Ibis, R., & Hernández, R. (2005). “OLEOMASAJE” un aceite ozonizado para masajes corporales. *CENIC Ciencias Biológicas*, 36(Especial), 1-2. Recuperado el 21 de Mayo de 2015



- Díaz, M., Hernández, R., & Martínez, G. (2006). Comparative study of ozonized olive oil and Ozonized sunflower oil. *Braz Chem Soc*, 17(2), 7 y 403.
- Díaz-Gómez, M. (2010). Usos y propiedades de los aceites vegetales ozonizados. La experiencia cubana. *CENIC Ciencias Biológica*, 41, 1-12.
- Doti, F. (2009). *Uso práctico de los antibióticos en la clínica de pequeños animales* (Primera Edición ed.). Buenos Aires, Buenos Aires, República Argentina: Inter-Médica S.A.I.C.I. Recuperado el 26 de abril de 2017
- Eurides, D., Franco Da Silva, L., Dalek, R., Coletto, P., & Borges, L. (enero de 2011). Efecto del extracto de óleo de rosa mosqueda (*Rosa aff. Rubiginosa*) en la cicatrización de heridas. *Redvet*, 12(1), 1-10. Recuperado el 2017, de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010111.html>
- Fernández, C., Jimenez De La Puerta, J., & Aguilar, A. (2003). Citología Cutánea Veterinaria. *A.V.E.P.A*, 23(2), 75-87. Recuperado el 01 de Octubre de 2015
- Fierro Pozo, A. (2009). *Vademecum Veterinario* (Décima Edición ed.). (Edifarm, Ed.) Quito, Pichincha, Ecuador: Grupo Edifarm y Compañia. Recuperado el 2015
- Fossum, T. W., Hedlund, C., Johnson, A., Schulz, K., Bahr, A., Seim, H., . . . Knap, K. (2013). *Small Animal Surgery* (Fourth Edition ed.). St. Louis, Missouri, United States Of America: Elsevier. Recuperado el 2016
- Gallardo, A., Cohen, R., Zurita, E., Sáenz, A. M., Calebotta, A., & Lara, A. (2009). Cicatrización de las heridas. *Cicatrización de las heridas*, 47. Caracas, Venezuela.



- García, J., Delfino, I., Duarte, E., Pidal, F., Tonelli, c., & Vaccaro, M. (2010). *Ozonoterapia en cavidad cerrada como tratamiento en heridas del caballo una descripción de su uso y resultados preliminares*. Facultad De Ciencias Veterinarias, Servicio de diagnóstico y tratamiento de claudicaciones del equino. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires.
- García, K., Díaz, M., Padrón, F., & Pérez, I. (01 de Enero de 2010). Efectos de las formulaciones de citronelal ozonizado en el tratamiento de conejos con Dermatomicosis. (C. N. Científicas, Ed.) *Centro De Investigaciones Del Ozono*, 1-8. Recuperado el 15 de Mayo de 2015, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181220509048>
- González Vásquez, J. R. (01 de Enero de 2012). *La Cicatrización Conceptos Básicos*. Obtenido de La Cicatrización Conceptos Básicos: <http://www.dermatologoraulgonzalez.com/topicos-dermatologicos/la-cicatrizacion-conceptos-basicos.php>
- Guallasamin, O., & Moreno, V. (2013). *Uso de plasma rico en factores de crecimiento autologo y heterologo sobre el proceso cicatrizal. Estudio experimental en caninos*. Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Quito: Biblioteca Universidad Central Del Ecuador. Recuperado el 15 de mayo de 2017
- Guil-Guerrero, J., & Urda-Romacho, J. (2009). Quality of extra virgen olive oil affected by several packaging variables. *Grasas Aceites*, 60(2), 155-160.
- Guinesi, A., Andolfatto, C., Bonetti Filho, I., Cardoso, A., Passaretti, J., & Farac, R. (2011). Ozonized Oils: a qualitative an quantitative analysis. *Bras Dent*, 22(1), 37-40.
- Guyton, A., & Hall, J. (2011). *Tratado de fisiología médica* (Duodécima Edición ed.). (G. C. Editorial, Trad.) Barcelona, España: Elsevier España, S.L. Recuperado el 15 de mayo de 2015



- Hernández Rosales, F. (02 de Enero de 2010). *Clínica Internacional de Ozonoterapia*. Recuperado el 2015, de Clínica Internacional de Ozonoterapia: <http://www.silviaalderete.com.ar/feed/>
- Hormigo Delgado, M. (2015). Eficacia terapéutica del aceite de girasol ozonizado frente a la infección por *Malassezia pachydermatis* en perros y gatos. (AEPRIMO, Ed.) *Revista Española de Ozonoterapia*, 5(1), 55-74. Recuperado el 10 de Febrero de 2015
- Hutchinson, T., & Robinson, K. (2016). *Manual De Medicina Canina* (Vol. I). (N. Fernández, Trad.) Barcelona, España: Sastre Molina S.L. Recuperado el 10 de Mayo de 2017
- Instituto Valenciano De Ozonoterapia. (2015). *Instituto Valenciano De Ozonoterapia*. (I. V. Ozonoterapia, Editor) Obtenido de IVO3T: <http://institutovalencianodeozonoterapia.com/ozolife-aceite-ozonizado/>
- International Scientific Committee of Ozone Therapy. (22 de Julio de 2014). Declaración De Madrid Sobre La Ozonoterapia. *Declaración De Madrid Sobre La Ozonoterapia*, 25. Recuperado el 10 de mayo de 2015, de www.isco3.org
- Kim, H., Noh, S., & Han, Y. (Junio de 2009). Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci*, 368.74. Recuperado el 21 de Mayo de 2015
- Ledea, O., Menéndez, S., & Días, M. (2008). *Ozono, Aspectos Básicos y Aplicaciones Clínicas* (Primera ed.). La Habana, Cuba: CENIC. Recuperado el 21 de Mayo de 2015
- Leyva, F. (2012). *Heridas y Cicatrización en Enfermería*. Meda Pharma, S.A.
- Llorente, C. (2013). *Atlas de información al propietario DERMATOLOGÍA*. Zaragoza, España: Servet. Recuperado el 12 de mayo de 2017
- Lucha, V., Muñoz, V., & Fornes, B. (Enero - Marzo de 2008). La Cicatrización de las Heridas. *Dialnet*(3), 8 -15.



- Machicote, G. (2011). *Dermatología Canina Y Felina* (Primera ed., Vol. I). Zaragoza, España: Servet. Recuperado el 10 de Febrero de 2015
- Marks, R., & Motley, R. (2012). *Dermatología* (Primera Edición En Español ed., Vol. I). (D. J. Saavedra, Ed., & D. M. Martínez, Trad.) México D.F., México: El Manual Moderno. Recuperado el 2015
- Martínez-Sánchez, G. (Enero-Marzo de 2013). La ozonoterapia gana evidencias científicas en el campo clínico. *Revista Cubana De La Farmacia*, 47(1), 1-4.
- Martínez-Sánchez, G., Re, L., Perez-Davison, G., & Horwat, R. (2012). Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. *Revista Española de Ozonoterapia*, 2(1), 121-139.
- Más, J. (2008). Cicatrización de heridas. *Revisat*, 14 - 18. Recuperado el 06 de Febrero de 2015
- Matsumoto, A., Sakurai, S., Shinriki, N., Suzuki, S., & Miura, T. (2001). Therapeutic effects of ozonized olive oil in the treatment of intractable fistula and wound after surgical operation. En S. M. Ltd. (Ed.), *15th Ozone World Congress*. 25, págs. 77-84. London: IAO MTC. Recuperado el 2017
- Menéndez, S., González , R., Ledea , O., Hernández, F., León, O., & Díaz, M. (2008). *Ozono: Aspectos Básicos Y Aplicaciones Clínicas* (Vol. I). (E. Pérez, Ed.) Ciudad DE La Habana, Cuba: CENIC (Centro Nacional De Investigaciones Científicas).
- Menéndez, S., León, O., & Hernández, F. (2008). Ozono: Aspectos Básicos Y Aplicaciones Clínicas. En S. Menéndez, *Ozono: Aspectos Básicos Y Aplicaciones Clínicas* (págs. 41-94). Ciudad de la Habana, Cuba: CENIC. Recuperado el 10 de febrero de 2015
- Millares, E., Cisero, N., Fitch, G., & Magdalena, M. (2013). Administración tópica de ozono en dos casos de infección atípica de incisiones abdominales. *Reduca*, 5(3), 183-188. Recuperado el 10 de mayo de 2017



- Miller, W., Griffin, C., & Campbell, K. (2014). *Dermatología en pequeños animales* (Séptima Edición ed., Vol. I). Buenos Aires, República de Argentina: Inter-Médica. Recuperado el 10 de abril de 2017
- Miura, T., Suzuki, S., & Sakurai, S. (2011). *Structure elucidation of Ozonized Olive Oil 15th World Congress of the International Ozone Association Medical Therapy Conference* (pág. 6 y 72). Londres: International Ozone Association.
- Ogata, A., & Nagahata, H. (2 de Febrero de 2000). Intramamary application of ozono therapy to acute clinical mastitis in diary cows. *Theriogenology*, 62(7), 681-686.
- Pacheco, A. (2012). *Utilización de una crema a base de ozono para la otitis externa canina en el barrio La Ecuatoriana en la ciudad de Quito*. Carrera De Medicina Veterinaria y Zootecnia. Latacunga: Biblioteca De La Universidad De Cotopaxi. Recuperado el 25 de febrero de 2015
- Pacheco, E. (2015). *Informe Del Ozono*. Rilize. Gijon: Poligono Rocés. Recuperado el 21 de Mayo de 2015, de <http://rilize.com/>
- Palacios, D., Silveira, L., & Zângaro, R. (2013). Estudio Analítico de Aceite de Girasol Ozonizado por Espectroscopía Raman Dispersiva. *IFMBE*, 33, 987-990.
- Park, C. S., Lee, S. J., & Kim, M. C. (2010). The Role Of Ozone Gas On Wound Healing In Goat. En Ivis (Ed.), *26th Congress of the World Association for Buiatrics* (págs. 1-2). Santiago De Chile: Ivis.
- Patel, A., & Fortsythe, P. (2010). *Dermatología De Pequeños Animales*. (F. Nind, Ed.) Barcelona, España: Elsevier España. Recuperado el 06 de Octubre de 2015



- Pérez, B., Rodríguez, G., Paneque, M., & Pérez Castro, A. (2009). La ozonoterapia en estomatología. *MEDISAN*, 13(4), 2-10. Recuperado el 2015, de MEDISAN: http://www.bvs.sld.cu/revistas/san/vol13_4_09/san10409.htm
- Pérez, M. D. (2006). *Informe Sobre El Uso Del Ozono En La Desinfección Del Aire Del Interior De Quirófanos*. Departamento I+D. Madrid: CosemarOzono.
- Perla, O. (2005). *Efecto profiláctico del Ozono aplicado vía intrauterina en la etapa posparto comparado con Lidocaína y PGF2 α sobre el comportamiento reproductivo del ganado lechero*. Tegucigalpa: Zamorano.
- Plumb, D. (2015). *Handbook Veterinary Drugs* (Eight Edition ed., Vol. I). Washington, EE.UU.: Mosby-Elsevier. Recuperado el 03 de Febrero de 2015
- Radin, J., & Wellman, M. (1998). *Interpretación de la Citología Canina y Felina*. St. Louis, Missouri, U.S.A: Nestlé Purina Pet Care Company.
- Ramírez, G. (Julio - Diciembre de 2010). Fisiología de la Cicatrización Cutánea. *Revista Facultad de Salud*, 2(2), 69 - 78.
- Rejas, J. (2007). *Dermatología práctica en el perro y el gato*. Castellón, España: Consulta de Difusión Veterinaria.
- Restrepo-Medrano, J., & Verdú, J. (2011). Desarrollo de un índice de medida de la evolución hacia la cicatrización de las heridas crónicas. *Gerokomos*, 4(22), 176-185. Recuperado el 25 de Septiembre de 2015
- Ricaurte , S. L. (01 de Octubre de 2006). Ozonoterapia una opción para el sector agropecuario. *Revista Electrónica de Veterinaria*, VII(10), 16. Recuperado el 2015, de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n10106.html>



- Romero, E., Pardo, A., & Camps, A. M. (Mayo-Agosto de 2013). Aplicación tópica del oleozón en lesiones compatibles a la viruela en aves de traspatio. *Granma Ciencia*, 17(2), 1-5. Recuperado el 2015
- Sánchez, A., Díaz, P., Rodríguez, G., Leyva, E., Díaz, E., & Borrego, L. (1998). Acción del aceite ozonizado sobre la cicatrización de heridas de piel en animales de experimentación. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 29(3), 181-184. Recuperado el 26 de abril de 2017
- Schwartz, A., & Martínez-Sánchez, G. (2011). *Guía Para El Uso Médico Del Ozono. Fundamentos Terapéutico e Indicaciones* (Primera ed.). (AEPROMO, Ed.) Madrid, España: AEPROMO.
- Scrollavezza, P., Ferrari, F., Martini, F., & Isola, M. (1997). Ozone treatment and blood lactate variation after thoroughbred racehorses. (págs. 71-75). Innsbruck: World Equine Veterinary Association Mondial Congress.
- Scwhartz, A., & Martínez, G. (2012). La ozonoterapia y su fundamentación científica. *Revista Española De Ozonoterapia*, 2(1), 163-198. Recuperado el 2015
- Sega, A., Zanardi, I., Chiasserini, L., Gabbrielli, A., Bocci, V., & Travagli, V. (Febrero de 2010). Properties of sesame oil by detailed ¹H and ¹³C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements. *Chem Phys Lipids*, 163(2), 56-148.
- Sopena Juncosa, J. (2009). *Manejo de heridas y principios de cirugía plástica en pequeños animales*. Zaragoza, España: Servet. Recuperado el 10 de Octubre de 2016
- Torrente, C., & Bosch, L. (2011). *Medicina de Urgencias en pequeños animales* (Vol. II). Zaragoza, España: Servet. Recuperado el 10 de junio de 2017

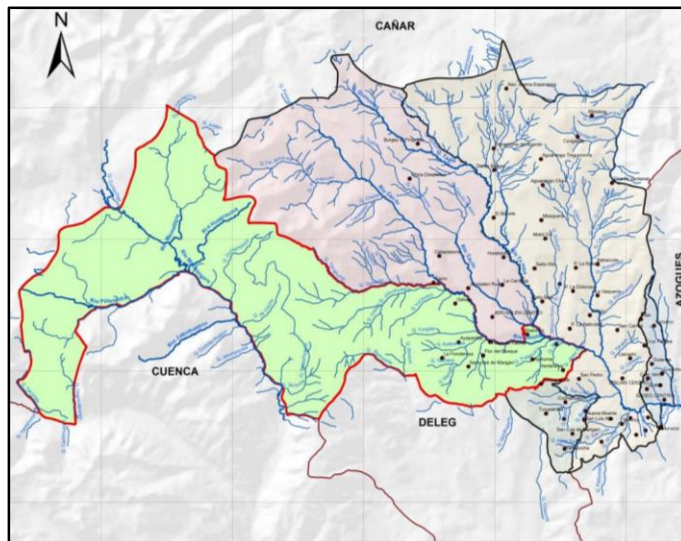


- Trott , A. T. (2007). *Heridas y Cortes- Tratamiento y sutura de urgencia* (Tercera ed.). Madrid, España: Elsevier Mosby.
- Velacchi, G., Lim, Y., & Belmonte, G. (Enero de 2011). Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair Regen*, 107-15. Recuperado el Febrero de 2015
- Vidal, L., Urruchi, W., & Zamora, Z. (15 de Octubre de 2009). Utilidad potencial de la Ozonoterapia en la Medicina Veterinaria. *REDVET*, 10(10). Recuperado el 2015, de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100909.pdf>
- Viebahn-Hänsler, R., & Gutzen, U. (2007). *El uso del ozono en medicina* (Octava ed.). (S. M. Elizalde, Trad.) Krefeld, Alemania: Sociedad Médica para Aplicación de Ozono en Prevención y Terapia. Recuperado el 10 de abril de 2017
- Viglino, G. (2008). Ozonoterapia Aplicada A Equinos. En I. d. Paraíba (Ed.), *Ozonoterapia Aplicada A Equinos* (págs. 1-6). Vale do Paraíba: Associacao Brasileira de Ozonioterapia. Recuperado el 01 de Marzo de 2015
- Vojvodic, I., & Zevallos , O. (Junio de 2010). Curación de heridas con presión negativa: fundamentos e indicaciones. *Revista Peruana de Obstetricia y Enfermería*, 6(1), 45-46. Recuperado el 2016



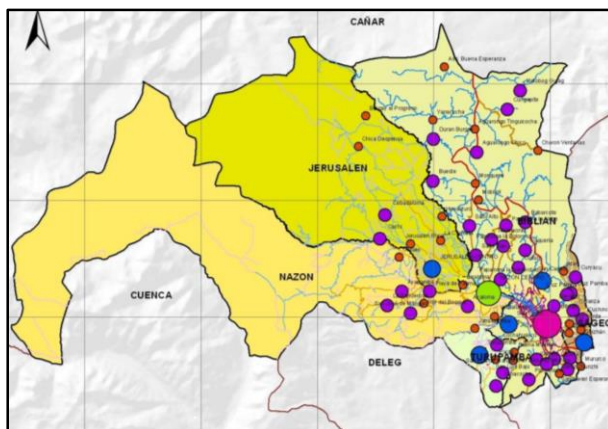
9. ANEXOS

Anexo 1: Mapa de la Parroquia Nazón.



Fuente: Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del cantón Biblián 2014

Anexo 2: Limites de la parroquia Nazón.



Fuente: Senplades



Anexo 3: Hoja de campo para el examen físico del paciente.

HOJA DE CAMPO 1

No.:

Fecha: / /

Propietario:
 Teléfono:
 Nombre Del Paciente:
 Especie:
 Raza:
 Sexo:
 Edad:
 Peso:

| Examen Físico General | |
|---------------------------|--|
| Temperatura | |
| Frecuencia cardiaca | |
| Pulso | |
| Frecuencia respiratoria | |
| Tiempo de llenado capilar | |
| Hidratación | |
| Padecimientos anteriores | |
| Padecimientos actuales | |
| Condición corporal | |



Anexo 4: Escala RESVECH V.1.0

HOJA DE
CAMPO 2

| | |
|-----------------------------------|---|
| Nombre del paciente: | |
| Edad: | |
| Sexo: | |
| Raza: | |
| Tratamiento: | Aceite de oliva O3 <input type="checkbox"/> |
| | Aceite de oliva <input type="checkbox"/> |
| | Aceite de soya O3 <input type="checkbox"/> |
| | Aceite de soya <input type="checkbox"/> |

| Escala RESVECH V.1.0 | | | | |
|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Ítems | Medida 0 Fecha: | Medida 1 Fecha: | Medida 2 Fecha: | Medida 3 Fecha: |
| 1. Dimensiones de la lesión: 0. Superficie = 0 cm ² 1. Superficie < 4 cm ² 2. Superficie = 4 - < 16 cm ² 3. Superficie = 16 - < 36 cm ² 4. Superficie = 36 - < 64 cm ² 5. Superficie = 64 - < 100 cm ² 6. Superficie ≥ 100cm ² | | | | |
| 2. Profundidad / tejidos afectados 0. Piel intacta cicatrizada 1. Afectación de la dermis – epidermis 2. Afectación del tejido subcutáneo (tejido adiposo sin llegar a la fascia del músculo) 3. Afectación del músculo 4. Afectación del hueso y / o tejidos anexos (tendones, ligamentos, cápsula articular o escara negra que no permite ver los tejidos debajo de ella) | | | | |
| 3. Bordes 0. No distinguibles (no hay bordes de la herida) 1. Difusos 2. Delimitados 3. Dañados 4. Engrosados (“envejecidos”, “eventidos”) | | | | |
| 4. Maceración Perilesional 0. No 1. Sí | | | | |
| 5. Tunelizaciones 0. No 1. Sí | | | | |
| 6. Tipo de tejido en el lecho de la herida 4. Necrótico (escara negra seca o húmeda) 3. Tejido necrótico y/o esfacelos en el lecho 2. Tejido de granulación 1. Tejido epitelial 0. Cerrada / cicatrización | | | | |
| 7. Exudado 3. Seco 0. Húmedo 1. Mojado 2. Saturado 3. Con fuga de exudado | | | | |
| 8. Infección/inflamación | | | | |


Diana Maricela Quizhpilema Palaguachi
José Luis Orellana Parra



| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| 8.1. Dolor que va en aumento Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.2. Eritema en la perilesión Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.3. Edema en la perilesión Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.4. Aumento de la temperatura Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.5. Exudado que va en aumento Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.6. Exudado purulento Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.7. Tejido friable o que sangra con facilidad Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.8. Herida estancada, que no progresa Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.9. Tejido compatible con biofilm Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.10. Olor Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.11. Hipergranulación Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.12. Aumento del tamaño de la herida Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.13. Lesiones satélites Sí = 1 No = 0 | | | | |
| 8.14. Palidez del tejido Sí = 1 No = 0 | | | | |
| SUME LA PUNTUACIÓN DE CADA SUB -ITEM | | | | |
| 9. Frecuencia del dolor | | | | |
| 0. Nunca | | | | |
| 1. En el cambio de apósito | | | | |
| 2. A menudo | | | | |
| 3. Todo el tiempo | | | | |
| PUNTUACIÓN TOTAL (Máx. = 40, Mín. = 0) | | | | |



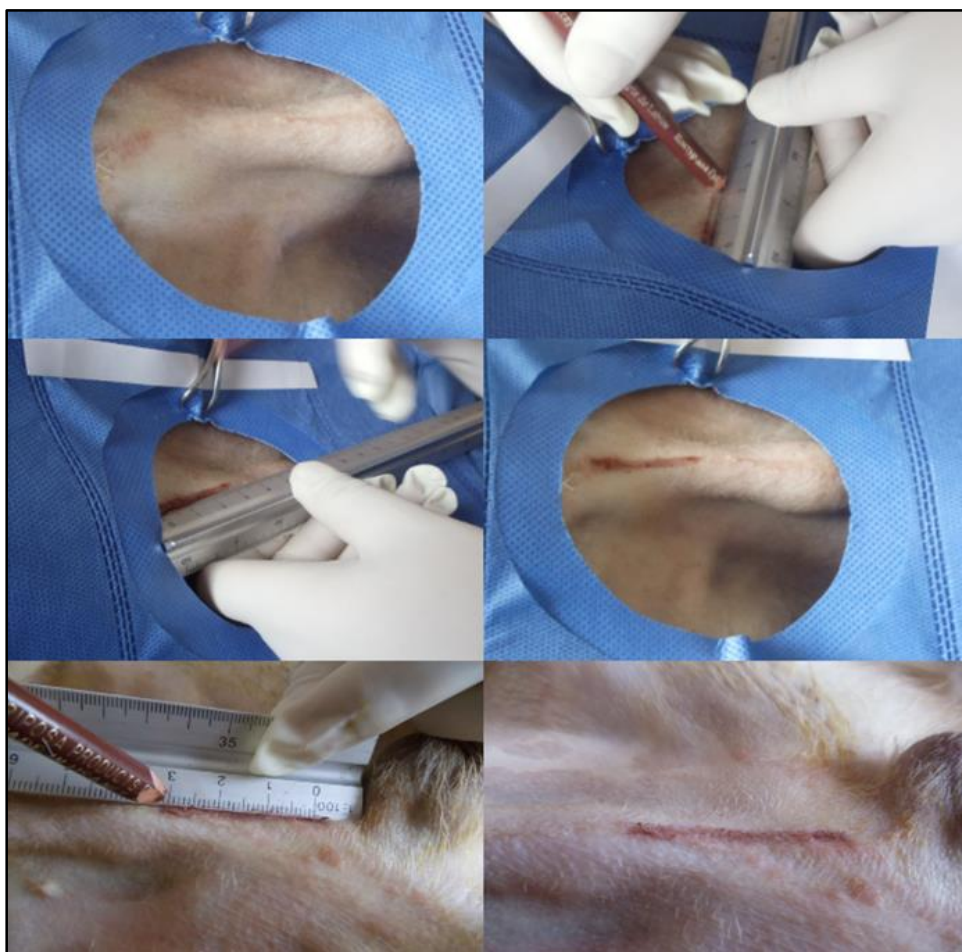
Anexo 5: Ficha de laboratorio para citología.

| | | |
|---|--|--|
| Nombre del paciente: Edad: Sexo: Raza: | |  UNIVERSIDAD DE CUENCA <small>fundada 1862</small> |
| Tratamiento | Aceite de oliva O3 <input type="checkbox"/> Aceite de oliva <input type="checkbox"/> Aceite de soya O3 <input type="checkbox"/> Aceite de soya <input type="checkbox"/> | |

| FICHA - CITOLOGÍA | | | | | | | | |
|--------------------------|--|---|------------------------|---|---------|---|-----------|---|
| Días | Polimorfonucleares (neutrófilos) por placa | | Células epiteliales | | Fibrina | | Bacterias | |
| | A | P | P | A | P | A | P | A |
| Día 1 Fecha: | | | | | | | | |
| Día 3 Fecha: | | | | | | | | |
| Día 5 Fecha: | | | | | | | | |

P = presencia A = ausencia

**Anexo 6: Máquina generadora de ozono.****Anexo 7: Proceso de ozonización de los aceites.**

**Anexo 8:** Materiales utilizados en el proceso quirúrgico.**Anexo 9:** Medición del área de incisión de la herida.

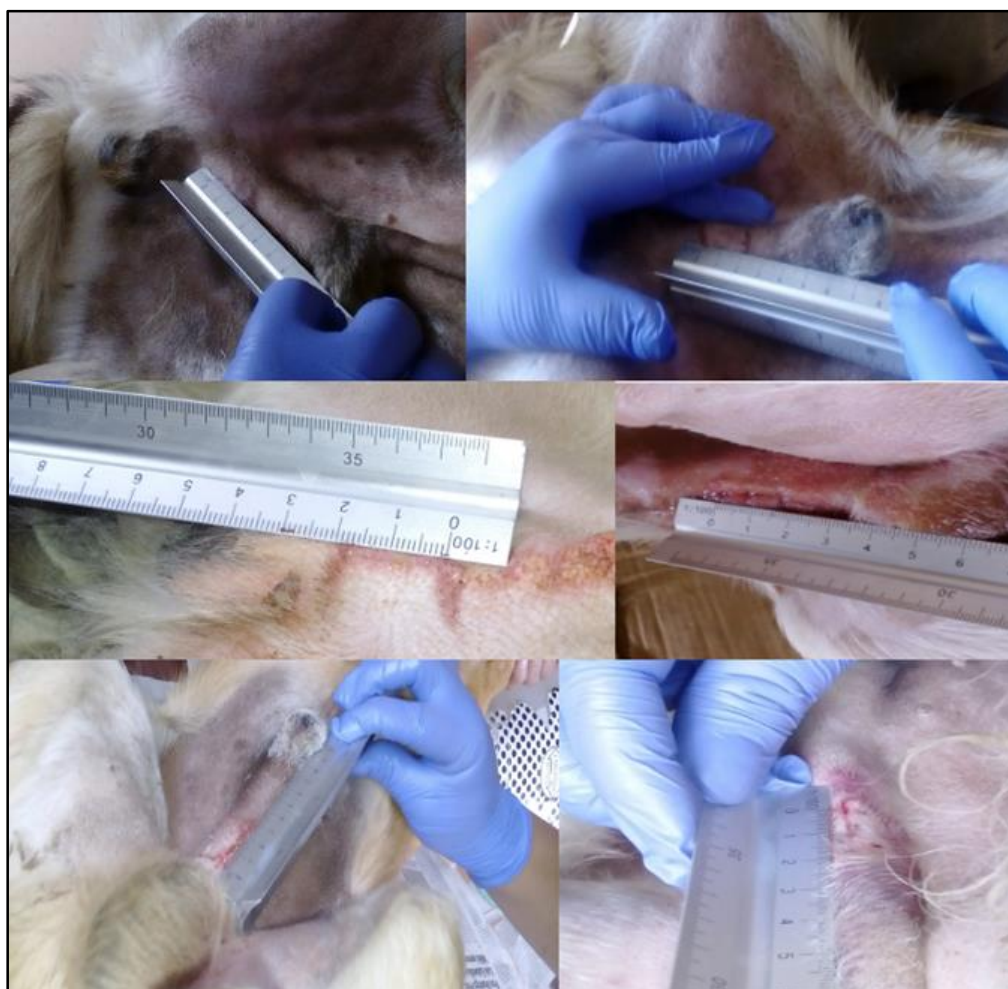
**Anexo 10:** Realización de la técnica quirúrgica preescrotal.



Anexo 11: Colocación de los aceites ozonizados y sin ozonizar en las heridas.



Anexo 12: Medición de las heridas en los pacientes en los días establecidos para la escala.



**Anexo 13:** Seguimiento fotográfico en un paciente tratado con aceite de oliva.



Anexo 14: Seguimiento fotográfico en un paciente tratado con aceite de oliva ozonizado.



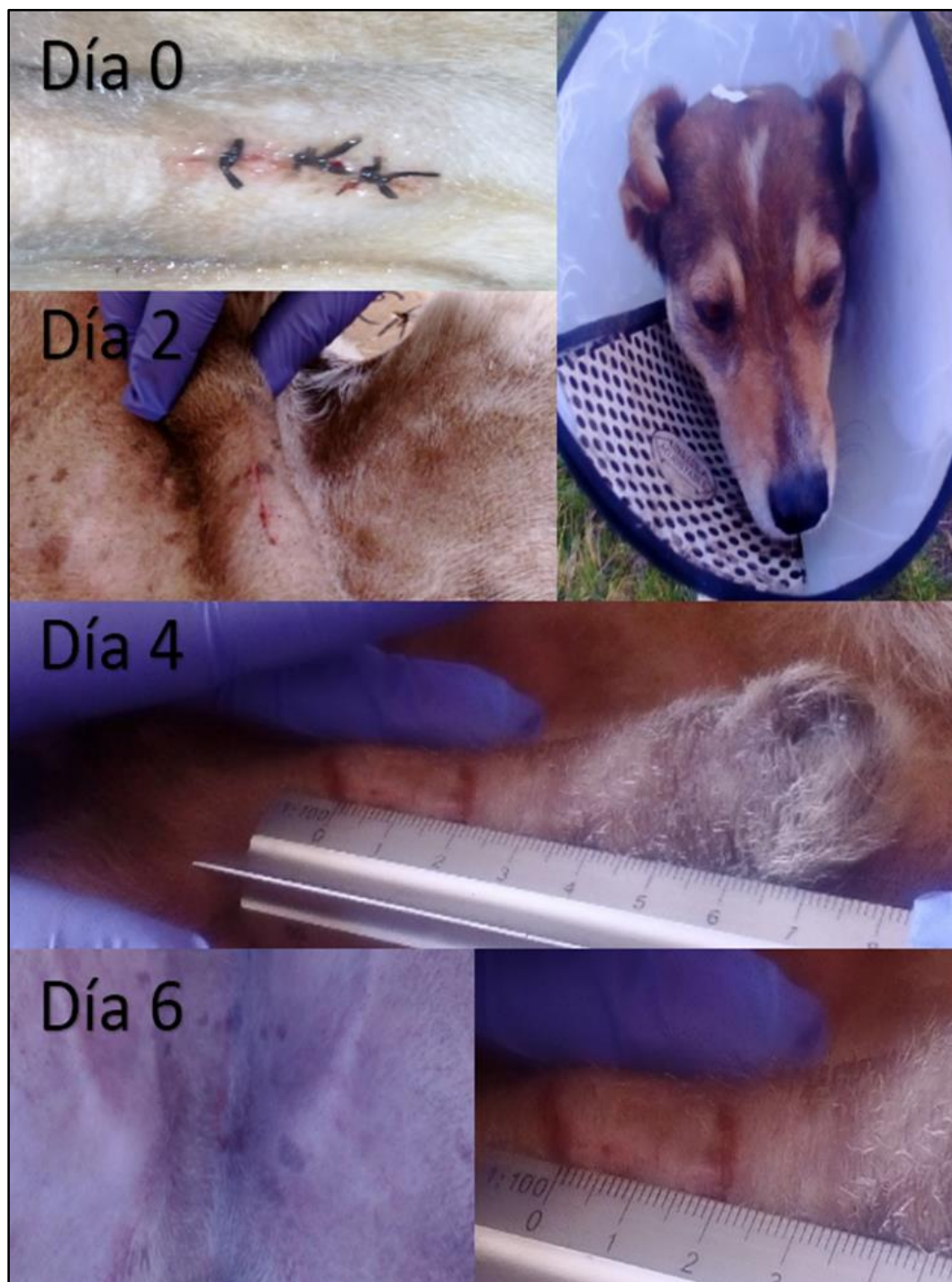


Anexo 15: Seguimiento fotográfico en un paciente tratado con aceite de soya.



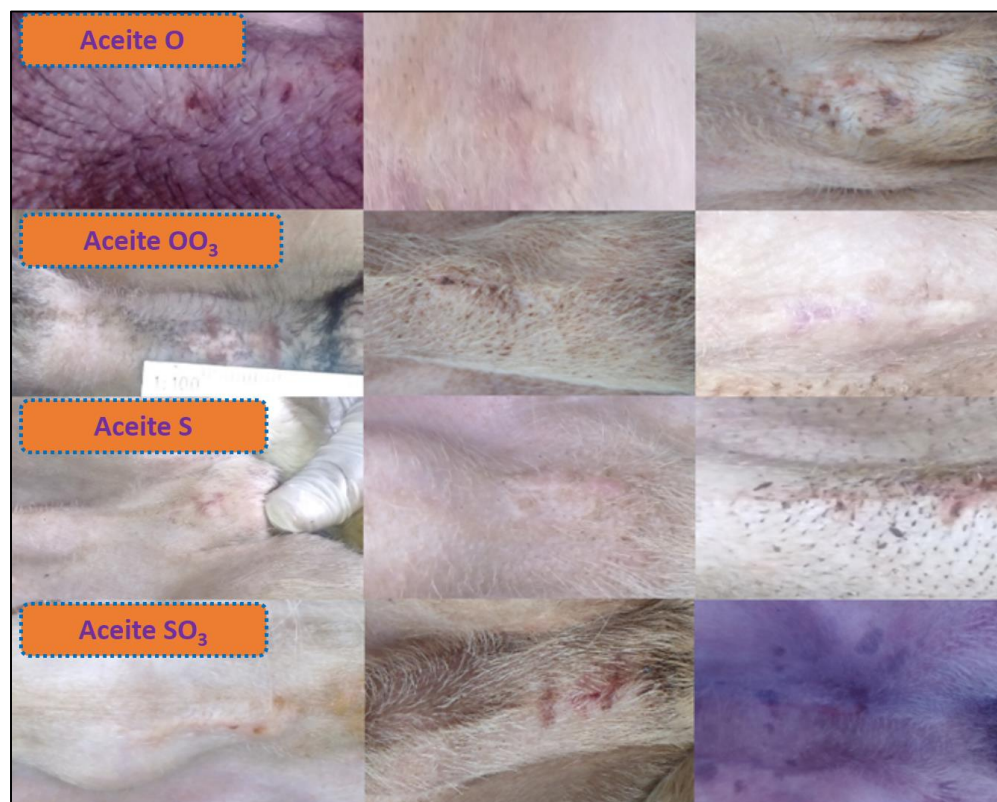


Anexo 16: Seguimiento fotográfico a un paciente tratado con aceite de soya ozonizado.





Anexo 17: Esquema de las heridas al día seis con los diferentes tratamientos.



Anexo 18: Toma de muestras para citología mediante impronta.





Anexo 19: Tinción de Diff quik para las muestras obtenidas.

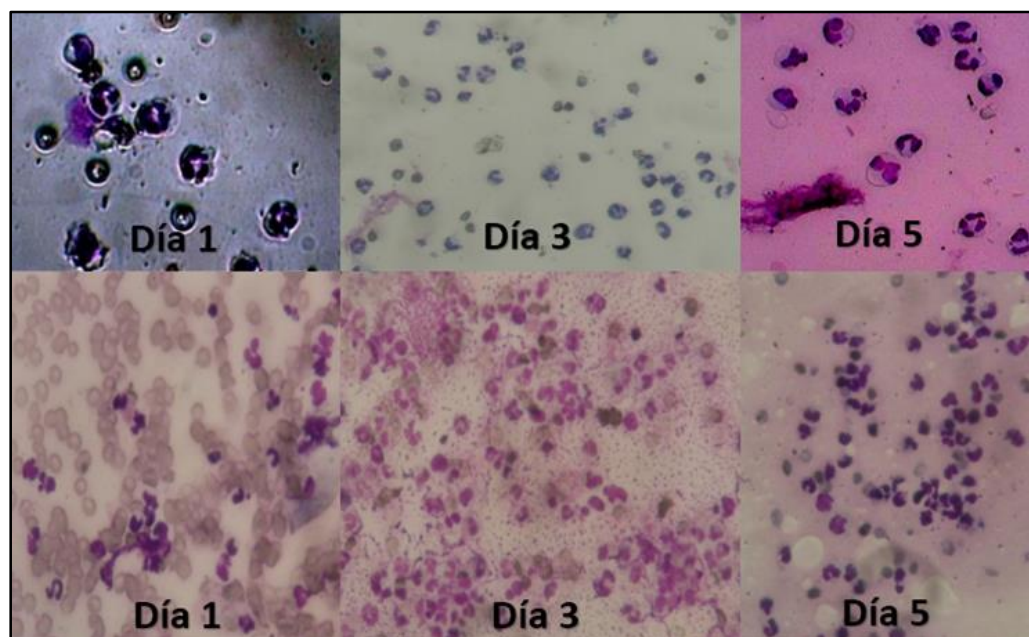


Anexo 20: Observación de las muestras al microscopio.

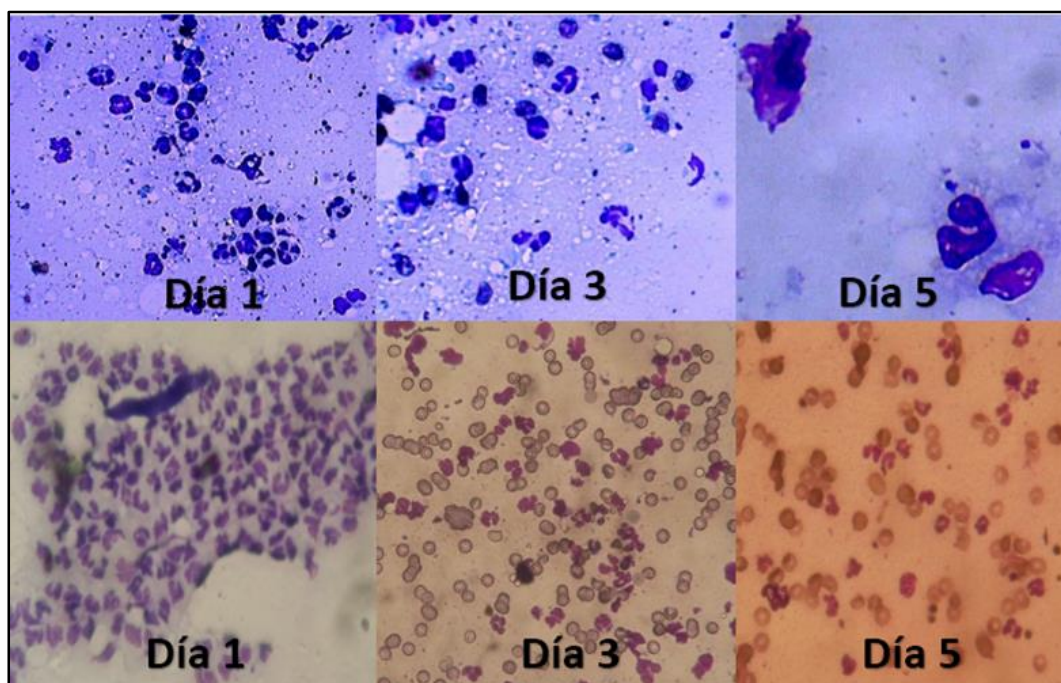




Anexo 21: Presencia de polimorfonucleares en las muestras obtenidas de pacientes tratados con aceite de oliva.

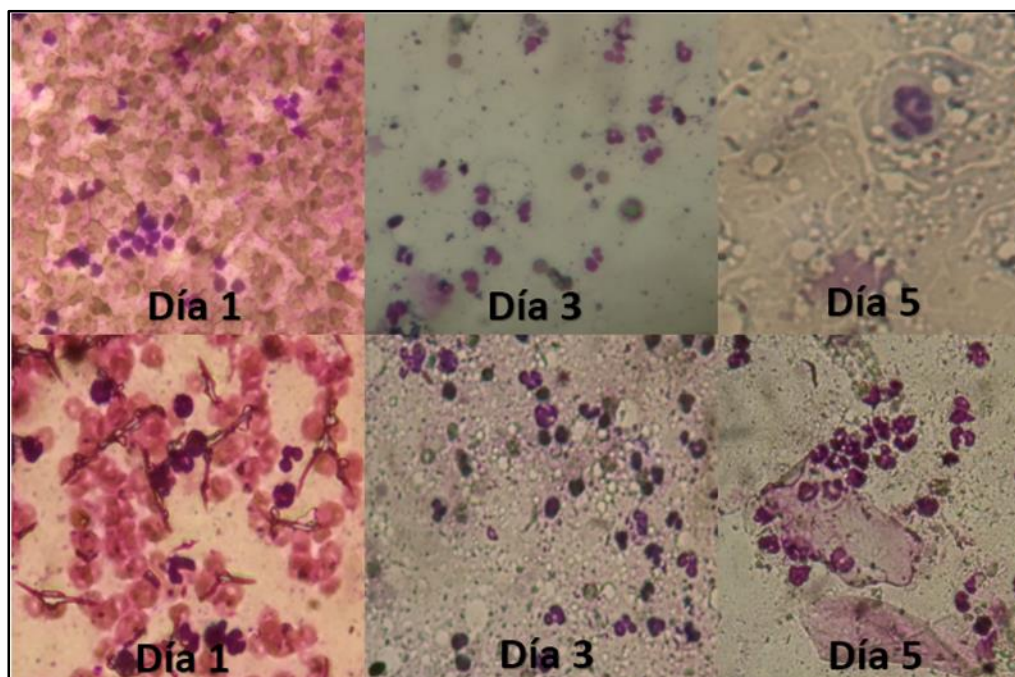


Anexo 22: Presencia de polimorfonucleares en las muestras obtenidas de pacientes tratados con aceite de oliva ozonizado.

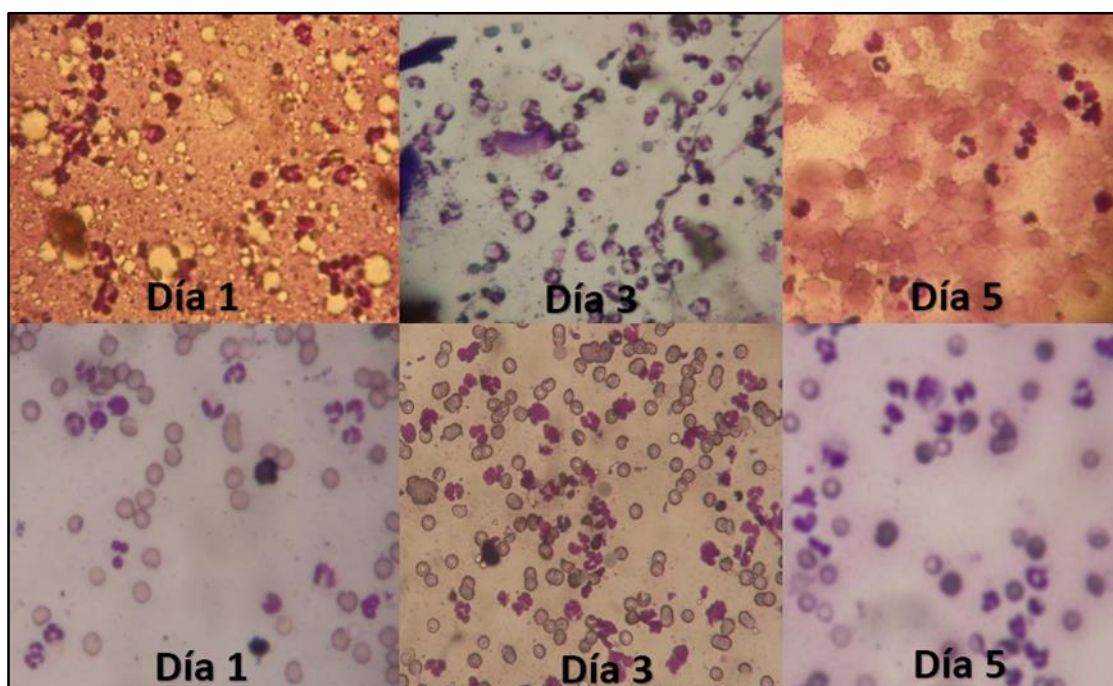


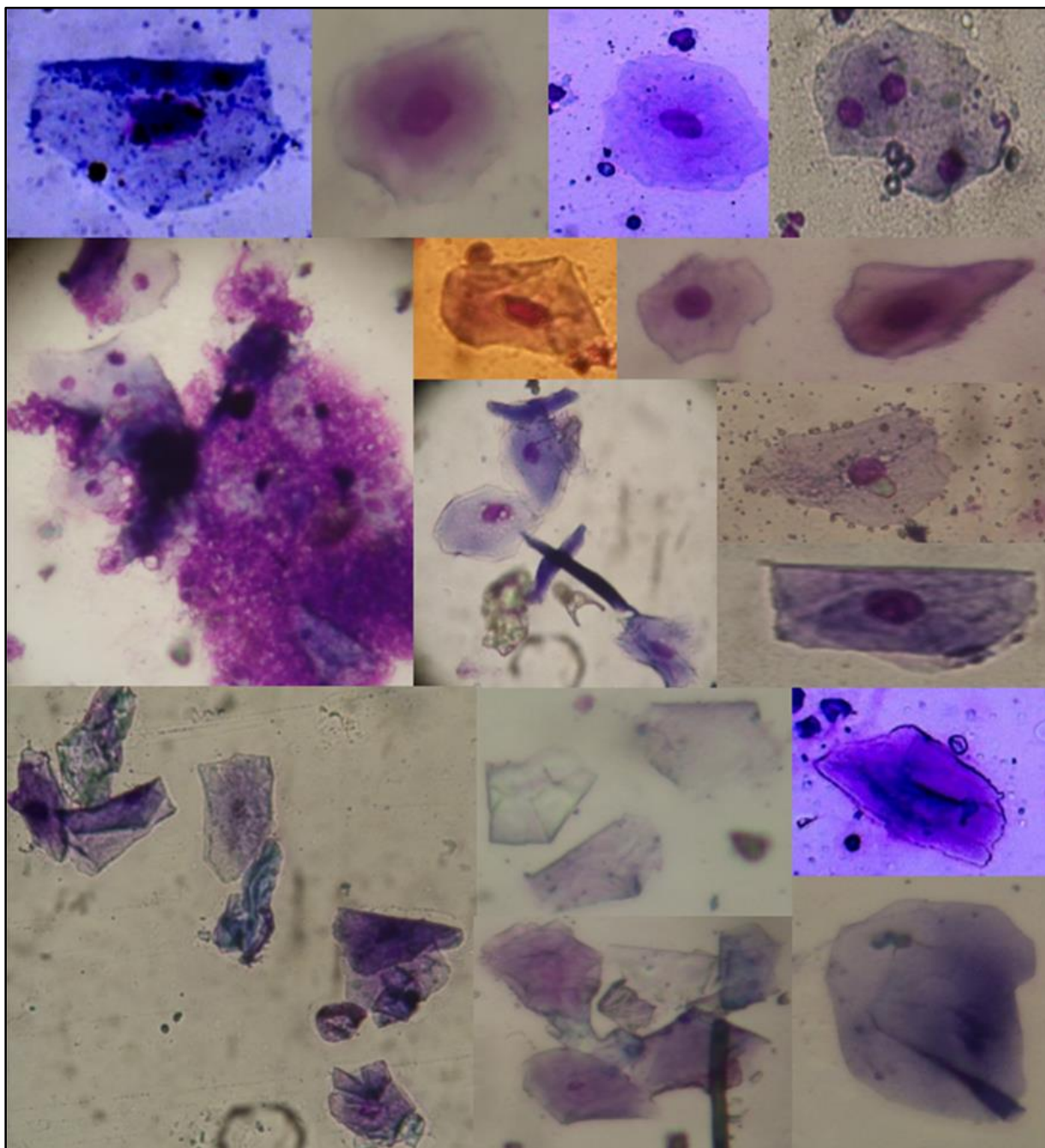


Anexo 23: Presencia de polimorfonucleares en pacientes tratados con aceite de soya.



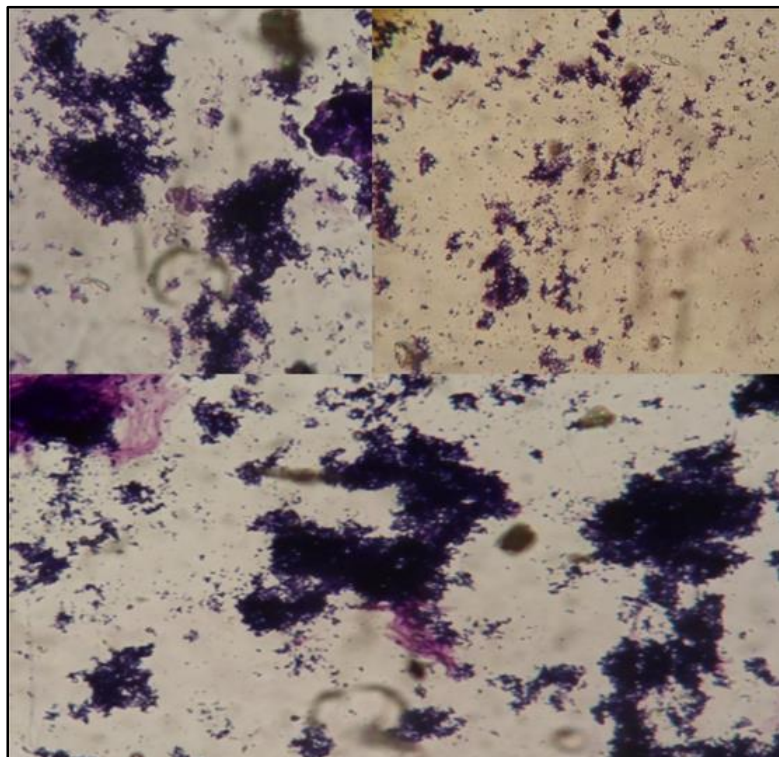
Anexo 24: Presencia de polimorfonucleares en pacientes tratados con aceite de soya ozonizado.



**Anexo 25:** Presencia de células epiteliales y de descamación.



Anexo 26: Presencia de bacterias en algunas muestras obtenidas.



Anexo 27: Presencia de fibrina.

