



Documento original en inglés
Traducido al castellano por Adriana Schwartz
Secretaria Científica de ISCO3

International Scientific Committee of Ozone Therapy

Uso Potencial del Ozono en SARS-CoV-2 / COVID-19 ISCO3/QAU/00/04 13 de marzo de 2020

Opinión experta y oficial del Comité Científico Internacional de
Ozonoterapia (ISCO3 por sus siglas en inglés)

EPI/00/04 (10 de Marzo, 2020).

Aprobado por ISCO3 el 13/03/2020

Redactores originales del documento:

Dra. Adriana Schwartz, secretaria científica del ISCO3.

Dr. Gregorio Martínez-Sánchez, presidente del ISCO3.

Índice

Exclusión de responsabilidad

Abreviaciones, acrónimos

Resumen

Palabras claves

Introducción

Desinfección ambiental

Acciones terapéuticas del ozono en enfermedades virales.

Vías de administración recomendadas

Protocolos clínicos recomendados

Observaciones finales.

Bibliografía



Exclusión de responsabilidad

- Los documentos de ISCO3 son recomendaciones que pueden convertirse en una fuente de orientación y referencia para todos aquellos que practican la ozonoterapia. Sin embargo, corresponde a cada ozonoterapeuta seguir su propio juicio clínico al implementar las recomendaciones emitidas por ISCO3.
- Todas las publicaciones técnicas de ISCO3 o bajo el nombre de ISCO3, incluidos los códigos de prácticas, los procedimientos de seguridad y cualquier otra información técnica contenida en dichas publicaciones, se obtuvieron de fuentes que se consideran confiables y se basan en información técnica y experiencia disponible de los miembros de ISCO3 y otros a la fecha de su aprobación.
- Si bien ISCO3 recomienda la referencia o el uso de sus publicaciones por parte de sus miembros, dicha referencia o uso de las publicaciones de ISCO3 por parte de sus miembros o terceros es puramente voluntaria y no vinculante.
- Por lo tanto, ISCO3 o sus miembros no garantizan los resultados ni asumen responsabilidad alguna en relación con la referencia o el uso de la información o sugerencias contenidas en las publicaciones de ISCO3.
- ISCO3 no tiene control alguno con respecto al rendimiento o incumplimiento, interpretación errónea, uso apropiado o incorrecto de cualquier información o sugerencia contenida en las publicaciones de ISCO3 por parte de cualquier persona o entidad (incluidos los miembros de ISCO3). ISCO3 renuncia expresamente a cualquier responsabilidad en relación con ello.
- Las publicaciones de ISCO3 están sujetas a revisiones periódicas y se recomienda a los usuarios que obtengan la última edición.

La única versión oficial de este documento es la publicada en inglés

Nota Bene: El documento "Uso Potencial del Ozono en SARS-CoV-2 / COVID-19" ha sido redactado, analizado y aprobado por ISCO3 teniendo en cuenta tres puntos clave:


1. La Organización Mundial de la Salud (OMS), agencia especializada de las Naciones Unidas, cuyo mandato es la salud pública, ha reconocido oficialmente que "actualmente no hay vacunas o tratamientos farmacéuticos específicos disponibles para el COVID-19".¹
2. Para combatir esta pandemia, la OMS ha llamado a los "países a tomar medidas urgentes y agresivas"; y declarando que "esto no es solo una crisis de salud pública, es una crisis que afectará a todos los sectores, por lo que cada sector y cada individuo deben participar en la lucha".² De modo que ISCO3 como parte del sector de salud mundial quiere participar en la lucha contra esta pandemia.
3. Como no hay "vacunas o tratamientos farmacéuticos específicos disponibles", este documento ofrece una contribución para combatir el coronavirus, **proponiendo el uso potencial de la terapia de ozono**, como una terapia complementaria, basada exclusivamente en datos científicos disponibles como se explica en detalle en este documento.



Abreviaciones y acrónimos

ACE2: Angiotensin-converting enzyme 2.
 CDC: Centers for Disease Control and Prevention (USA).
 COVID-19: Coronavirus disease 19.
 CT: Computed tomography.
 EBOO: Extracorporeal Blood Oxygenation-Ozonation.
 EPA: Environmental Protection Agency (USA).
 FDA: Food and Drug Administration (USA).
 HSP: Heat Shock Proteins.
 MAH: Major Autohemotherapy.
 MiAH: Minor Autohemotherapy.
 MSCs: Mesenchymal Stem Cells.
 O₃SS: Ozonized Saline Solution.
 OSHA: Occupational Safety and Health Administration (USA).
 SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.
 UC: Umbilical Cord.
 WHO: World Health Organization.

Sugerencia sobre cómo citar este documento: “*ISCO3. Uso Potencial del Ozono en SARS-CoV-2 / COVID-19. Madrid, 2020. International Scientific Committee of Ozone Therapy*” www.isco3.org

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 4 of 18</p>
---	---	---

Resumen


La aparición del coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2; provisionalmente llamado nuevo coronavirus 2019 o enfermedad de 2019-nCoV) (COVID-19) en China, a finales de 2019, ha causado un gran brote global convirtiéndose en un gran problema de salud pública. El COVID-19 ha sido calificado como una "pandemia" por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los datos oficiales más recientes y disponibles el 12 de marzo de 2020, indican que se han informado a la OMS 125,000 casos provenientes de 118 países y territorios. En las últimas dos semanas, el número de casos informados fuera de China se ha incrementado en casi 13 veces, y el número de países afectados casi se ha triplicado.³ "4.291 personas han perdido la vida (...) en los días y semanas venideros, la expectativa es que el número de casos, de muertes y de países afectados aumenten aún más".²

El objetivo de este documento es analizar **"la potencial utilización del ozono como terapia complementaria"** en el tratamiento del COVID-19. Los términos utilizados para la obtención de evidencia (ozono, SARS-CoV-2 y COVID-19) se buscaron en las bases de datos científicos.

El ozono se puede aplicar a la desinfección de ambientes contaminados con el virus. La máxima eficacia virucida requiere un breve período de alta humedad (> 90% de humedad relativa) después de alcanzar la concentración máxima del gas ozono (20-25 ppm, 39-49 mg / m³). Como gas, puede penetrar en todas las áreas dentro de una habitación, incluidas grietas, accesorios, telas. Se puede utilizar para la desinfección de la habitación de un hospital, del transporte público, la habitación del hotel, la cabina del crucero, la oficina y debajo de las superficies de los muebles, y lo puede hacer mucho más eficazmente que los aerosoles líquidos y aerosoles aplicados manualmente. **El ambiente a tratar debe estar libre de personas y animales debido a la toxicidad relativa del ozono por inhalación.**

La ozonoterapia sistémica puede ser **"potencialmente"** útil en el SARS-CoV-2. La justificación y el mecanismo de acción ya se han demostrado clínicamente en otras infecciones virales y se ha demostrado que es muy eficaz en estudios de investigación. El mecanismo de acción es el siguiente:

- 1) Inducción de una respuesta adaptativa al estrés oxidativo, por lo tanto, restablece un reequilibrio del estado redox celular.
- 2) La inducción de IFN-gamma y citocinas proinflamatorias.
- 3) El aumento del flujo sanguíneo y la oxigenación de los tejidos a órganos vitales.
- 4) Tiene las acciones potenciales para actuar como una autovacuna cuando se administra en forma de autohemoterapia menor.

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 5 of 18</p>
---	---	---

Las vías de administración recomendadas son: autohemoterapia mayor (MAH), solución salina ozonizada (O₃SS), oxigenación-ozonización sanguínea extracorpórea (EBOO) y una variante de la autohemoterapia menor (MiAH). El protocolo clínico debe cumplirse con las dosis y los procedimientos estándar definidos en la Declaración de Madrid sobre la Ozonoterapia.⁷¹ La Ozonoterapia es una terapia complementaria, porque mientras el paciente infectado es tratado con medicina alopática, al mismo tiempo puede recibir el tratamiento propuesto en este documento.

Actualmente se están llevando a cabo al menos tres ensayos clínicos con autohemoterapia en China y se necesitan más ensayos clínicos y datos para confirmar la eficacia de la terapia con ozono como terapia complementaria en las enfermedades COVID-19.


Palabras claves: Ozono, Ozonoterapia, COVID-19, SARS-CoV-2, Solución Salina Ozonizada, Autohemoterapia Mayor.

Introducción

Los coronavirus son importantes patógenos humanos y animales. A finales de 2019, se identificó un nuevo coronavirus como la causa de un grupo de casos de neumonía en Wuhan (provincia de Hubei de China) que causó un gran brote global representando un importante problema de salud pública.⁴ Se propagó rápidamente, dando como resultado una epidemia en toda China, con casos esporádicos reportados a nivel mundial. En febrero de 2020, la Organización Mundial de la Salud bautizó a la enfermedad como COVID-19, que significa enfermedad por coronavirus 2019.⁵ El virus que causa el COVID-19 se denomina coronavirus 2 por síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2); anteriormente, se denominaba 2019-nCoV. El SARS-CoV-2 está estrechamente relacionado con dos coronavirus parecidos al síndrome respiratorio agudo severo derivados del murciélago, bat-SL-CoVZC45 y bat-SL-CoVZXC21, en particular BetaCoV / bat / Yunnan / RaTG13 / 2013 que son similares al SARS humano -CoV-2.⁶ Se ha visto que tienen una gran diversidad genética y una rápida evolución.⁷

El SARS-CoV-2 se propaga por transmisión de persona a persona a través de gotitas respiratorias o contacto directo, y se ha estimado que la infección tiene un período de incubación media de 6,4 días y un número de reproducción básico de (2,24 - 3,58) días.⁴ De los pacientes con neumonía causada por el SARS-CoV-2, la fiebre fue el síntoma más común, seguido de tos, malestar general y tos seca en la fase prodrómica.⁸ Las imágenes de CT (tomografía computarizada) de tórax demostraron progresión durante la etapa temprana desde el inicio de la enfermedad.⁹

Actualmente no hay medicamentos antivirales autorizados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), o por la Agencia Italiana de Drogas para tratar pacientes con COVID-19. Por lo que sabemos, hasta el momento no se han

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 6 of 18</p>
---	---	---

autorizado medicamentos antivirales para tratar pacientes con COVID-19 en ningún país del mundo. La OMS ha confirmado oficialmente este punto: "**Actualmente, no hay vacunas o tratamientos farmacéuticos específicos disponibles para COVID-19**".¹ Algunos estudios *in vitro* o *in vivo* sugieren una posible actividad terapéutica de los compuestos contra los coronavirus relacionados, pero no hay datos disponibles de estudios observacionales o ensayos controlados aleatorizados en humanos para respaldar la recomendación de cualquier terapéutica en investigación para pacientes con COVID-19 confirmado o sospechado en este momento.


Se informó que el Remdesivir, un fármaco antiviral en investigación, tenía actividad *in vitro* contra el SARS-CoV-2.¹⁰ Un pequeño número de pacientes con COVID-19 recibió Remdesivir intravenoso para uso compasivo fuera de un entorno de ensayo clínico. Se implementó en China un ensayo clínico aleatorizado, controlado con placebo, de Remdesivir para el tratamiento de pacientes hospitalizados con neumonía y COVID-19. Un ensayo aleatorizado de etiqueta abierta de combinación de lopinavir-ritonavir, duranavir, danoprevir, cobisistat, anti-CD147 humanizado Meplazumab, Eculizumab, Bevacizumab, enzima humana que convierte la angiotensina recombinante 2 (rhACE2), células NK, cordón umbilical (UC) -Dermal Mesenmérico Células (MSC), inmunoglobulinas, reguladores de los receptores de esfingosina-1-fosfato Fingolimod, hidroxiclороquina, vitamina C intravenosa, vitamina D, INF beta, glucocorticoides, **autohemoterapia ozonizada**, remedios de medicina tradicional china y otros tratamientos también se han llevado a cabo en pacientes hospitalizados con neumonía y COVID-19 en China, pero hasta la fecha no hay resultados disponibles. Se están planificando ensayos clínicos de otras terapias potenciales para COVID-19.^{11,12}

Además de la propagación viral a través de una vía respiratoria, el SARS-CoV en el tracto intestinal, los riñones y las glándulas sudoríparas puede excretarse a través de las heces, la orina y el sudor, lo que conduce a la transmisión del virus.¹³ La enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) es muy probable que sirva como sitio de unión para el SARS-CoV-2, la cepa implicada en la epidemia actual de COVID-19, de manera similar a la cepa SARS-CoV implicada en la epidemia de SARS 2002-2003.¹⁴ Las principales comorbilidades de los casos de mortalidad incluyen hipertensión, diabetes, enfermedad coronaria, infarto cerebral y bronquitis crónica. La fuente del virus y la patogénesis de esta enfermedad aún no se han confirmado. Hasta el momento, no se ha encontrado ninguna droga terapéutica específica.¹⁵

La ozonoterapia podría usarse en el tratamiento de COVID-19 en dos categorías terapéuticas:

1) Desinfección (contar con una alta formación científica):

- a) Ambientes contaminados (hospitales, transporte, vehículos, todas las superficies donde el virus pudo haber sido depositado, etc.);
- b) En soluciones acuosas como desinfecciones de agua potable, tratamiento de aguas residuales, instalaciones de lavandería y procesamiento de alimentos.¹⁶

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozonotherapy</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 7 of 18</p>
---	--	---

2) Posible aplicación sistémica como medicina complementaria para:

- a) Mejorar el estado de salud de los pacientes y reducir la carga viral,¹⁷⁻¹⁹
- b) En forma de enjuague bucal con agua ozonizada para reducir la incidencia de neumonía asociada al ventilador en pacientes conectados a ventilación mecánica.²⁰

El objetivo de este documento es analizar los posibles mecanismos de acción de la utilización del ozono para que sirva como terapia complementaria en el manejo de COVID-19.

Términos de evidencia utilizados en la búsqueda de información

COVID-19, SARS-CoV-2, SARS, ozono, ozonoterapia, neumonía viral.

Bases de datos bibliográficas consultadas: MEDLINE / PubMed, SciELO, LILACS, OPS, EMBASE, ZOTERO ISCO3, Plataforma Internacional de Registro de Ensayos Clínicos de la OMS, NIH. Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU; y bases de datos informativas con motores de búsqueda como Google y Google Scholar.

Tipos de documentos: artículos originales, tesis publicadas, informes clínicos, ensayos clínicos en curso y revisiones bibliográficas.

Idiomas: Castellano, inglés, y ruso. Fechas de publicación: 1980 a 2020.

Criterios de exclusión: falta de acceso gratuito al texto completo debido a restricciones financieras y / o estudios que presentan evidencia científica inadecuada.

Desinfección ambiental

Para reducir la propagación del virus COVID-19, se deben implementar procedimientos de control de infecciones ambientales.²¹⁻²⁵ En los entornos de atención médica de los Estados Unidos, los CDC establecen que los procedimientos de limpieza y desinfección de rutina son apropiados para el virus COVID-19.²⁴ Los productos aprobados en EE. UU. por la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) para los patógenos virales emergentes contienen como componentes activos: peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio, ácido peroxiacético, etanol, alcohol isopropílico, cloruros de alquil dimetil bencil amonio, cloruro de didecil dimetil amonio, cloruro de octil decil dimetil amonio, peróxido de carbonato de sodio, dicloro-s-triazinetrióna de sodio y otros.²⁶

La importancia de la desinfección ambiental se ilustró en un estudio de Singapur, en el que se detectó ARN viral en casi todas las superficies analizadas (manijas, interruptores de luz, camas y pasamanos, puertas y ventanas interiores, inodoro, lavabo), en el aislamiento de infecciones transmitidas por el aire habitación de un paciente con COVID-19 leve sintomático antes de la limpieza de rutina.²⁵ No se detectó ARN viral en superficies similares en las habitaciones de otros dos pacientes sintomáticos después de la limpieza de rutina (con dicloroisocianurato de sodio). Es de destacar que la detección

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozonotherapy</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 8 of 18</p>
---	--	---


de ARN viral no indica necesariamente la presencia de virus infecciosos. Los factores que influyen en la supervivencia de estos virus en las superficies incluyen: variación de cepa, título, tipo de superficie, medio de suspensión, modo de deposición, temperatura y humedad relativa, y el método utilizado para determinar la viabilidad del virus. El muestreo ambiental ha identificado contaminación en el campo con SARS-CoV y virus de la influenza, aunque el uso frecuente de métodos de detección molecular no necesariamente representa la presencia de virus viable.

Una vez contaminadas por el medio ambiente, las manos pueden iniciar la autoinoculación de las membranas mucosas de la nariz, los ojos o la boca. Los modelos matemáticos y animales, y los estudios de intervención sugieren que la transmisión por contacto es la ruta más importante en algunos escenarios. Las implicaciones para la prevención y el control de infecciones incluyen la necesidad de higiene de manos y equipo de protección personal para minimizar la autocontaminación y para proteger contra la inoculación de las superficies mucosas y el tracto respiratorio, y una mejor limpieza y desinfección de la superficie en entornos de atención médica.²⁷

Se han estudiado los virus durante su interacción con el ozono.²⁸⁻³¹ **Después de 30 s de exposición al ozono, el 99% de los virus se inactivaron y demostraron daños en las proteínas de su envoltura**, lo que podría provocar la falla de la unión a las células normales y la ruptura del ARN monocatenario.²⁸ El gas ozono tiene una serie de ventajas potenciales sobre otros gases descontaminantes y aplicaciones químicas líquidas.³² Por lo tanto, el ozono es un compuesto natural, se genera fácilmente *in situ* a partir del oxígeno o el aire, y se descompone en oxígeno con una vida media de aproximadamente 20 min (\pm 10 min dependiendo del ambiente).¹⁶ Como gas, puede penetrar en todas las áreas dentro de una habitación, incluyendo grietas, accesorios, telas y debajo de las superficies de los muebles, siendo mucho más eficiente que un líquido desinfectante aplicado manualmente y aerosoles.³³ Las únicas desventajas significativas son su capacidad para corroer ciertos materiales, como el caucho natural, en exposiciones prolongadas y su posible toxicidad para los humanos.

La Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) de EE. UU. estableció estándares de salud pública en el aire de 0.1 ppm por 8 h o 0.3 ppm por 15 minutos como el límite de la cantidad de ozono a la que las personas pueden estar expuestas de manera segura.³⁵ Limpiadores de aire que utilizan ozono no deben generar niveles de ozono por encima de los Estándares de Salud Pública, que están muy por debajo de cualquier actividad antimicrobiana o control efectivo de olores. Las bajas concentraciones de ozono, por debajo del límite interior aceptable de la EPA, se han utilizado como filtros de aire, pero su efectividad ha sido cuestionada por muchos estudios.^{35,36} A altas concentraciones el ozono se ha utilizado para descontaminar **espacios vacíos** de algunos productos químicos y biológicos contaminantes y olores como el humo.

La máxima eficacia antiviral del ozono requiere de un breve período de alta humedad (> 90% de humedad relativa) después de alcanzar la concentración máxima de gas ozono

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozonotherapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 9 of 18</p>
---	--	---


(20-25 ppm, 39-49 mg / m³).¹⁶ Un estudio demostró que bajo el tratamiento con muestras secas que contienen virus sobre superficies duras (plástico, acero y vidrio), y superficies blandas como tela, algodón y alfombra, fueron igualmente vulnerables al tratamiento con ozono.³³ Usando generadores apropiados a las concentraciones de ozono apropiadas, ayudará a descontaminar habitaciones, habitación de hospital, transporte público,³⁷ cabinas de cruceros, oficinas, etc. **El ambiente que se va a descontaminar debe estar libre de personas y animales debido a la naturaleza tóxica del ozono por inhalación.**³⁸ En un caso de inhalación accidental se recomienda seguir las medidas de primeros auxilios recomendadas por ISCO3.³⁹ El gas ozono también se ha utilizado en la desinfección de la ropa de hospital.⁴⁰ Además, se puede usar en el tratamiento de residuos de aguas residuales.⁴¹ Todo el tratamiento de aguas residuales reduce la cantidad de todos los virus, pero una mayor ozonización redujo la cantidad de varios virus a niveles indetectables, lo que indica que ésta es una técnica prometedora para reducir la transmisión de muchos virus humanos patógenos.⁴²

Las soluciones acuosas de ozono se usan como desinfectantes en muchas situaciones comerciales, incluido el tratamiento de aguas residuales,⁴³ lavanderías,⁴⁴ agua potable⁴⁵ y procesamiento de alimentos.^{46,47} El ozono está considerado como un desinfectante altamente efectivo para el control del virus.⁴⁸ La exposición al ozono redujo la infectividad viral por peroxidación lipídica y posterior envoltura lipídica y daño de la cubierta proteica.²⁹

Acciones terapéuticas del ozono en enfermedades virales

El ozono puede inactivar los virus mediante la oxidación directa de sus componentes.²⁹ Sin embargo, la actividad virucida *in vivo* se vuelve incierta cuando los virus están en fluidos biológicos o, peor aún, cuando son intracelulares (neumocitos, hepatocitos, epitelios, linfocitos CD4 +, monocitos, gliales y neuronales células) porque, el potente sistema antioxidante protege la integridad viral.⁴⁹ Es por eso que es irracional usar inyección directa IV de gas u otros métodos no recomendados de aplicación de ozono.⁵⁰ La terapia con ozono representa una terapia complementaria útil, pero tampoco el ozono, ni el H₂O₂ alcanza, concentraciones suficientes en los tejidos porque los patógenos libres están protegidos por antioxidantes plasmáticos y los virus intracelulares son inaccesibles.⁵¹ Sin embargo, para explorar la eficacia de la terapia con ozono en enfermedades virales, Bocci y Paulesu⁵² explicaron la posibilidad de que el ozono pueda actuar *in vivo*. Los siguientes mecanismos pueden tener cierta relevancia:

- a) *Un tratamiento terapéutico prolongado con ozono parece capaz de inducir una adaptación al estrés oxidativo*, por lo tanto, producir un reequilibrio del estado redox celular, que es un proceso fundamental para inhibir la replicación viral. El mecanismo paradójico por el cual el ozono (un oxidante potente) puede inducir una respuesta antioxidante, se demuestra actualmente no solo a nivel proteómico, sino también a nivel genómico. El ozono a dosis terapéuticas modula el factor nuclear Nrf2 y NfκB e induce el reequilibrio del ambiente antioxidante.⁵³⁻⁵⁸ El

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 10 of 18</p>
---	---	--

estrés oxidativo y la inmunidad innata tienen un papel clave en las vías de lesión pulmonar que controlan la gravedad de la lesión pulmonar aguda durante infecciones virales como SARS.⁵⁹

- b) Se ha demostrado que *la inducción de síntesis de citocinas, como IFN e IL, en sangre ozonizada es posible*. Aunque el ozono es un inductor débil, los linfocitos y monocitos reinfundidos, al migrar a través del sistema linfóide, pueden activar otras células que, con el tiempo, conducirán a una estimulación del sistema inmune. Esto puede representar un proceso importante porque se sabe que una enfermedad viral aguda se vuelve crónica, ya sea porque el virus es particularmente virulento, o porque la población viral heterogénea evoluciona rápidamente y escapa al control inmunitario, o porque el sistema inmunitario se vuelve tolerante a los antígenos virales y se vuelve incapaz de contrarrestar la infección. Más aún, además de la inducción de HO-1,⁵⁸ una enzima protectora, la liberación de algunas proteínas de choque térmico (HSP) como HSP60, HSP70 y HSP90 también influyen en la actividad virucida. Estas proteínas son potentes activadores del sistema inmune innato, capaces de inducir la síntesis de citocinas proinflamatorias por el sistema monocito-macrófago y la activación de las células presentadoras de antígeno.^{49,60}
- c) *La terapia de oxígeno y ozono ciertamente mejora la oxigenación.*^{61,62} Los pacientes con SARS son propensos a tener hepatitis leve no específica,⁶³ fibrosis pulmonar⁶⁴ y puede haber insuficiencia renal.⁶⁵ La terapia de ozono estabiliza el metabolismo hepático y los niveles plasmáticos de fibrinógeno y protrombina tienden a normalizarse en pacientes infectados, lo que sugiere una mejora en la síntesis de proteínas hepáticas.⁴⁹ Hay bastantes investigaciones que demuestran el efecto protector del ozono para prevenir el daño oxidativo al corazón,^{66,67} hígado,^{68,69} pulmón,⁷⁰ y tejido renal.⁷¹
- d) Durante la ozonización de la sangre *ex vivo* para la autohemoterapia menor, utilizando concentraciones de ozono cercanas a 90 $\mu\text{g} / \text{mL}$ por mL de sangre, puede ser posible inducir la oxidación de componentes virales libres, lo que podría representar una vacuna inmunogénica e inactivada.^{49,72,73}
- e) *Solución salina ozonizada (O₃SS)*. Este método fue formalizado por el Ministerio de Salud de la Federación de Rusia a principios de la década de 1980 y se ha implementado oficialmente en hospitales de salud pública, específicamente para las especialidades de ortopedia, dermatología, ginecología y obstetricia.^{74,75} En 2004, fue también reconocido oficialmente en Ucrania.⁷⁶ El método está respaldado por una gran cantidad de artículos científicos y una sólida experiencia clínica sobre los beneficios de esta terapia.⁷⁷



El método consiste en burbujear y saturar una solución fisiológica (0.9%) con una mezcla de ozono y oxígeno a concentraciones que se calculan según el peso del paciente. Su administración dura unos 20-30 min. A diferencia de la autohemoterapia mayor, la solución salina ozonizada ha demostrado ser especialmente efectiva en enfermedades virales como Epstein Barr, citomegalovirus, virus del papiloma, VIH, herpes zoster, herpes simple, etc. Dado que la solución salina es un expansor plasmático, en comparación con la MAH, ésta ozoniza una cantidad mayor de sangre, por lo tanto, es posible reducir el número de sesiones.

Un análisis de los datos bibliográficos sobre la interacción del ozono con NaCl en soluciones acuosas, nos permite concluir que la descomposición del ozono en soluciones acuosas de NaCl no está acompañada de la formación de productos distintos al oxígeno. En particular, no se observan cantidades notables de hipocloritos y cloratos. Esto es particularmente significativo para la aplicación medicinal de soluciones isotónicas ozonizadas.^{78,79}


Cuando el ozono se disuelve en agua, se forman radicales libres, peróxido de hidrógeno (¡en una cantidad insignificante!), se forman estructuras de agua hexagonales y moléculas pequeñas. Las moléculas de agua hexagonales formadas durante la ozonización de soluciones acuosas mejoran el transporte a través de la membrana celular no solo de electrolitos, sino posiblemente también de otras sustancias.⁸⁰

Boyarinov G.A. y Sokolov V.V.^{81,82} demostraron que cuando se realiza un bypass cardiopulmonar ozonizado, las células del organismo del paciente usan más glucosa que cuando se oxigena. Por lo tanto, se concluye que la mezcla de O₂ / O₃ disuelta, los radicales libres, el peróxido de hidrógeno y las estructuras acuosas hexagonales formadas durante el burbujeo de las soluciones acuosas de NaCl con una mezcla de gas O₂ / O₃, determinan el efecto terapéutico de la solución fisiológica ozonizada.

El procedimiento no solo es efectivo y seguro, sino que es mucho más económico y fácil de implementar.

Rutas de administración recomendadas

Las vías de administración recomendadas son las sistémicas y en este orden: solución salina ozonizada (O₃SS), autohemoterapia mayor (MAH), oxigenación-ozonización extracorpórea (EBOO) y una variante de la autohemoterapia menor (MiAH) (usando 70-90 µg/mL). El resumen de la administración de cada procedimiento se describe en la Declaración de Madrid sobre la Ozonoterapia.⁷⁴ Además, hay un procedimiento paso a

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 12 of 18</p>
---	---	--

paso disponible por escrito de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas para llevar a cabo cada procedimiento y se puede descargar desde el sitio web de ISCO3 (www.isoc3.org).⁸³⁻⁸⁵

Protocolo clínico recomendado con O₃SS

Estas recomendaciones se basan en la experiencia clínica del ozonoterapeuta que deben someterse a ensayos clínicos adicionales. Tener en cuenta que actualmente hay tres ensayos clínicos en curso en China usando la autohemoterapia mayor, pero los resultados preliminares aún no están disponibles.¹⁷⁻¹⁹

Protocolo preventivo con O₃SS

Saturación de 250 mL de solución salina fisiológica 0.9% a 3 μg / NmL durante 10 min. Administrar al/la paciente bajo burbujeo constante, (para que el ozono diluido en la solución no se degrade) manteniendo los mismos parámetros descritos a una velocidad de 80/120 gotas/min. Administrar dos veces por semana, seis tratamientos en total. Después de administrar la O₃SS, sugerimos administrar i.v. Glutación (GSH) 600 mg + Vit. C 1 g disuelto en 100 mL de solución fisiológica. Dos veces por semana, 6 tratamientos en total.


Protocolo intervencionista con O₃SS

Saturación de la solución salina fisiológica 0.9% a 5 μg /NmL durante 10 min. Administrar al/la paciente bajo burbujeo continuo con los mismos parámetros descritos a una velocidad 80/120 gotas/min. Aplicar diariamente, durante 5 días. En los siguientes 5 días se reduce la concentración a 3 μg / NmL y se administra diariamente. 10 tratamientos en total. Después de O₃SS, administrar i.v. GSH 1,2 g + Vit. C 2 g. disuelto en 100 mL de solución fisiológica. Administrar 10 tratamientos, dos veces por semana.

Dado que la enfermedad coincide con un estrés oxidativo agudo, incluimos el Glutación (GSH) debido a su capacidad para donar electrones y estabilizar los radicales libres generados por el virus. El GSH es un antioxidante no enzimático, y es una de las primeras líneas de defensa contra el daño oxidativo. Durante el envejecimiento, el contenido de GSH disminuye y el sistema inmune sufre una deficiencia en la inducción de la respuesta Th1. La secreción reducida de citoquinas Th1, que está asociada con el agotamiento de GSH, podría debilitar las defensas del huésped contra las infecciones virales.⁸⁶

Dispositivos (generadores de ozono y desechables)

El ozono debe ser producido por un generador médicamente confiable y certificado. Los generadores de ozono son dispositivos médicos clasificados en la Unión Europea como dispositivos médicos de clase IIb y deben tener el sello CE acompañado de cuatro números (artículo 9, Directiva 93/42 / CEE del Consejo, de conformidad con el Anexo IX de la misma directiva).

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 13 of 18</p>
---	---	--

El generador debe permitir la medición de concentraciones precisas de ozono (de 1 μg / NmL - 80 μg / NmL) y producir ozono exclusivamente a partir de oxígeno medicinal proveniente de un contenedor certificado de calidad médica.

El equipo debe tener la facilidad de regular el flujo de salida (caudal) entre 200-500 mL/min y poder administrar el ozono a flujo continuo a concentraciones muy bajas (2-5 μg /N mL).

Los insumos desechables para administrar la terapia deben ser libres de ftalatos y resistentes al ozono. Estos deben tener la misma clasificación que el generador de ozono, clase IIb (dispositivo médico). En España contamos con esos dispositivos que responden ampliamente las directivas sanitarias de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).

Observaciones finales


El ozono puede ser útil para la desinfección, su máxima eficacia antiviral requiere un corto período de alta humedad (> 90% de humedad relativa) después de alcanzar la concentración máxima de gas ozono (20-25 ppm, 39-49 mg / m³). El ambiente a tratar debe estar libre de personas y animales debido a la toxicidad relativa del ozono por inhalación.

La ozonoterapia sistémica puede ser potencialmente útil en el SARS-CoV-2. La justificación y el mecanismo de acción ya se han demostrado clínicamente con otras infecciones virales y se ha demostrado su efectividad con estudios pre clínicos y clínicos. El mecanismo de acción es el siguiente:

- 1) Produce la inducción de la adaptación al estrés oxidativo, por lo tanto, produce un reequilibrio del estado redox celular.
- 2) Produce la inducción de IFN-gamma y citocinas proinflamatorias.
- 3) Produce el aumento del flujo sanguíneo (perfusión) y la oxigenación de los tejidos a órganos vitales (es decir, circulación renal, pulmonar y cardíaca).
- 4) Tiene el potencial de actuar como una autovacuna cuando se administra en forma de autohemoterapia menor.

La administración sistémica recomendada es en este orden: solución salina ozonizada (SSO3), autohemoterapia mayor (MAH) y oxigenación-ozonización sanguínea extracorpórea (EBOO). Los protocolos clínicos deben cumplir con las dosis y procedimientos estándar definidos en la Declaración de Madrid sobre la Ozonoterapia.⁷¹


En China se están llevando a cabo al menos tres ensayos clínicos con autohemoterapia mayor y se necesitan más ensayos clínicos para confirmar la eficacia de la ozonoterapia como terapia complementaria en el tratamiento de enfermedades con COVID-19.

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 14 of 18</p>
---	---	--


La ozonoterapia, es una terapia complementaria, porque mientras el paciente infectado es tratado con medicina alopática, al mismo tiempo el paciente puede recibir el tratamiento complementario propuesto en este documento, sin interferir con el tratamiento base si lo hubiere.

BIBLIOGRAFÍA


1. WHO. Responding to community spread of COVID-19 Interim guidance 7 March 2020. WHO file:///C:/Users/USER-PC/Downloads/WHO-COVID-19-Community_Transmission-2020.1-eng.pdf (Accessed on 12/03/2020)2020.
2. Ghebreyesus T. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (Accessed on 12/03/2020)2020.
3. Ghebreyesus T. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 12 March 2020. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-mission-briefing-on-covid-19---12-march-2020> (Accesses on 12/03/2020)2020.
4. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents*. Feb 17 2020;105924.
5. WHO. World Health Organization. Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020> (Accessed on March 3, 2020). 2020.
6. Li X, Zai J, Zhao Q, et al. Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. *J Med Virol*. Feb 27 2020.
7. Phan T. Genetic diversity and evolution of SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. Feb 21 2020;81:104260.
8. Habibzadeh P, Stoneman EK. The Novel Coronavirus: A Bird's Eye View. *Int J Occup Environ Med*. Feb 5 2020;11(2):65-71.
9. Xiong Y, Sun D, Liu Y, et al. Clinical and High-Resolution CT Features of the COVID-19 Infection: Comparison of the Initial and Follow-up Changes. *Invest Radiol*. Mar 3 2020.
10. Wang M, Cao R, Zhang L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*. Mar 2020;30(3):269-271.
11. WHO. World Health Organization. International Clinical Trials Registry Platform. <http://apps.who.int/trialsearch/> [Accessed on 07/03/2020]. 2020.
12. NIH. U.S. National Library of Medicine. Clinical Trials.gov <https://www.clinicaltrials.gov/> [Accessed on 07/03/2020]. 2020.
13. Ding Y, He L, Zhang Q, et al. Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *J Pathol*. Jun 2004;203(2):622-630.
14. Gurwitz D. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. *Drug Dev Res*. Mar 4 2020.
15. Deng SQ, Peng HJ. Characteristics of and Public Health Responses to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in China. *J Clin Med*. Feb 20 2020;9(2).

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 15 of 18</p>
---	---	--


16. Hudson JB, Sharma M, Vimalanathan S. Development of a Practical Method for Using Ozone Gas as a Virus Decontaminating Agent. *Ozone: Science & Engineering*. 2009;31:216-223.
17. Guangjian N, Hongzhi Y. Clinical study for ozonated autohemotherapy in the treatment of Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19). ChiCTR2000030165. Academy of Medical Engineering and Translational Medicine, Tianjin University. 2020-02-24. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=49947> (Accessed 8/03/2020). . 2020.
18. Linlin H, Xiangdong C. A randomized controlled trial for the efficacy of ozonated autohemotherapy in the treatment of Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19). ChiCTR2000030006. Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology. 2020-02-19. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=49737> (Accessed 8/03/2020). . 2020.
19. Huiling H, Tong X. A multicenter randomized controlled trial for ozone autohemotherapy in the treatment of novel coronavirus pneumonia (COVID-19). ChiCTR2000030102. Tianjin Huanhu Hospita. 2020-02-23. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=49747> (Accessed 8/03/2020). 2020.
20. Soodmand M. A survey of the effect of ozonated water mouthwash on oral health and incidence of ventilator-associated pneumonia in patients connected to mechanical ventilation in intensive care units - A randomized clinical trial. IRCT20180213038720N2. Registration date: 2019-12-18, 1398/09/27 <https://en.irct.ir/trial/41951> (Accessed 8/03/2020). . 2019.
21. WHO. World Health Organization. Home care for patients with suspected novel coronavirus (nCoV) infection presenting with mild symptoms and management of contacts. Updated February 4, 2020. [https://www.who.int/publications-detail/home-care-for-patients-with-suspected-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-presenting-with-mild-symptoms-and-management-of-contacts](https://www.who.int/publications-detail/home-care-for-patients-with-suspected-novel-coronavirus-(ncov)-infection-presenting-with-mild-symptoms-and-management-of-contacts) (Accessed on March 8, 2020). 2020.
22. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for persons who may have 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) to prevent spread in homes and residential communities. https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/guidance-prevent-spread.html#First_heading (Accessed on March 08, 2020). 2020.
23. WHO. World Health Organization. Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected. January 25, 2020. [https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected-20200125](https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected-20200125) (Accessed on March 08, 2020). 2020.
24. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Infection Prevention and Control Recommendations for Patients with Confirmed 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) or Patients Under Investigation for 2019-nCoV in Healthcare Settings. February 3, 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/hcp/infection-control.html> (Accessed on March 08, 2020). 2020.
25. Ong SWX, Tan YK, Chia PY, et al. Air, Surface Environmental, and Personal Protective Equipment Contamination by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) From a Symptomatic Patient. *JAMA*. Mar 4 2020.
26. EPA. United States Environmental Protection Agency. EPA's Registered Antimicrobial Products for Use Against Novel Coronavirus SARS-CoV-2, the Cause of COVID-19. 03/03/2020. <https://www.epa.gov/pesticide-registration/list-n-disinfectants-use-against-sars-cov-2> (Accessed 8/03/2020). 2020.
27. Otter JA, Donskey C, Yezli S, Douthwaite S, Goldenberg SD, Weber DJ. Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination. *J Hosp Infect*. Mar 2016;92(3):235-250.

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 16 of 18</p>
---	---	--

28. Roy D, Wong PK, Engelbrecht RS, Chian ES. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone. *Appl Environ Microbiol.* Mar 1981;41(3):718-723.
29. Murray BK, Ohmine S, Tomer DP, et al. Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species. *J Virol Methods.* Oct 2008;153(1):74-77.
30. Lin YC, Wu SC. Effects of ozone exposure on inactivation of intra- and extracellular enterovirus 71. *Antiviral Res.* Jul 2006;70(3):147-153.
31. Kekez MM, Sattar SA. A new ozone-based method for virus inactivation: preliminary study. *Phys Med Biol.* Nov 1997;42(11):2027-2039.
32. Barker J, Vipond IB, Bloomfield SF. Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus contamination via environmental surfaces. *J Hosp Infect.* Sep 2004;58(1):42-49.
33. Hudson JB, Sharma M, Petric M. Inactivation of Norovirus by ozone gas in conditions relevant to healthcare. *J Hosp Infect.* May 2007;66(1):40-45.
34. OSAHA. Occupational Safety and Health Administration. Occupational Safety and Health Standards. Toxic and Hazardous Substances. 1910.1000 TABLE Z-1 Limits for Air Contaminants. <https://www.osha.gov/laws-regs/regulations/standardnumber/1910/1910.1000TABLEZ1> (Accessed 8/03/2020). 2020.
35. Dyas A, Boughton BJ, Das BC. Ozone killing action against bacterial and fungal species; microbiological testing of a domestic ozone generator. *J Clin Pathol.* Oct 1983;36(10):1102-1104.
36. Foarde KK, VanOsdell DW, Steiber RS. Investigation of Gas-Phase Ozone as a Potential Biocide. *Applied Occupational and Environmental Hygiene* 1997;12(8):535-542.
37. Lemon SM. SARS: Clearing the air. In: Knobler S, Mahmoud A, Lemon S, Mack A, Sivitz L, Oberholtzer K, eds. *Learning from SARS: Preparing for the Next Disease Outbreak: Workshop Summary.* Washington (DC): National Academies Press; 2004:376.
38. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev.* Jul 2009;29(4):646-682.
39. ISCO3. First Aids in Ozone Therapy. (Inhalatory exposition and accidental over dose). 2015; 16. Available at: www.isco3.org. Accessed March 8, 2020.
40. Cardoso CC, Fiorini JE, Ferriera LR, Gurjao JW, Amaral LA. Disinfection of hospital laundry using ozone: microbiological evaluation. *Infect Control Hosp Epidemiol.* Apr 2000;21(4):248.
41. Wang J, Shih Y, Wang PY, Yu YH, Su JF, Huang CP. Hazardous waste treatment technologies. *Water Environ Res.* Oct 2019;91(10):1177-1198.
42. Wang H, Sikora P, Rutgersson C, et al. Differential removal of human pathogenic viruses from sewage by conventional and ozone treatments. *Int J Hyg Environ Health.* Apr 2018;221(3):479-488.
43. Gottschalk C, Libra JA, Saupe A. *Ozonation of Water and Waste Water: A Practical Guide to Understanding Ozone and its Application:* ohn Wiley & Sons; 2008.
44. Cardis D, Tapp C, DeBrum M, Rice RG. Ozone in the Laundry Industry-Practical Experiences in the United Kingdom. *Ozone: Sci. Eng.* 2007;29:85-89.
45. Shin GA, Sobsey MD. Reduction of Norwalk virus, poliovirus 1, and bacteriophage MS2 by ozone disinfection of water. *Appl Environ Microbiol.* Jul 2003;69(7):3975-3978.
46. Kim JG, Yousef AE, Dave S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *J Food Prot.* Sep 1999;62(9):1071-1087.
47. Naito S, Takahara H. Ozone Contribution in Food Industry in Japan. *Ozone Sci. Eng.* 2006;28:425-429.
48. Wolf C, von Gunten U, Kohn T. Kinetics of Inactivation of Waterborne Enteric Viruses by Ozone. *Environ Sci Technol.* Feb 20 2018;52(4):2170-2177.
49. Bocci V. *Ozone: A new medical drug.* Netherlands: Springer; 2011.

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 17 of 18</p>
---	---	--

50. ISCO3. Non-recommended routes of application in ozone therapy *ISCO3/LEG/00/10*. 2017;13. www.isco3.org.
51. Burgassi S, Zanardi I, Travagli V, Montomoli E, Bocci V. How much ozone bactericidal activity is compromised by plasma components? *J Appl Microbiol*. May 2009;106(5):1715-1721.
52. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica*. Nov-Dec 1990;75(6):510-515.
53. Martinez-Sanchez G. Mechanisms of action of O3. Genomic pathways. *Ozone Therapy Global Journal*. 2019 2019;9(1):21-22.
54. Delgado-Roche L, Riera-Romo M, Mesta F, Hernández-Matos Y, Barrios JM, Martínez-Sánchez G. Medical Ozone Promotes Nrf2 Phosphorylation Reducing Oxidative Stress And Proinflammatory Cytokines In Multiple Sclerosis Patients. *Rev Esp Ozonoterapia*. 2018 2018;8(2 Supp 1):48-49.
55. Martinez-Sanchez G, Delgado-Roche L. Up-date on the mechanisms of action of ozone through the modification of cellular signaling pathways. Role of Nrf2 and NFkb. *Rev Esp Ozonoterapia*. 2017 2017;7(2):17-18.
56. Bocci V, Valacchi G. Nrf2 activation as target to implement therapeutic treatments. *Front Chem*. 2015;3:4.
57. Re L, Martinez-Sanchez G, Bordicchia M, et al. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway in vivo? A preliminary result. *Eur J Pharmacol*. Nov 5 2014;742:158-162.
58. Pecorelli A, Bocci V, Acquaviva A, et al. NRF2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. Feb 15 2013;267(1):30-40.
59. Imai Y, Kuba K, Neely GG, et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell*. Apr 18 2008;133(2):235-249.
60. Larini A, Bocci V. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells. *Toxicol In Vitro*. Feb 2005;19(1):55-61.
61. Lintas G, Liboni W, Simonetti V, et al. Long-term cerebrovascular reactivity mediated by ozone autohemotherapy: a NIRS study. Paper presented at: Terzo Congresso del Gruppo Nazionale di Bioingegneria; 2012, 2012.
62. Zaky S, Fouad EA, Kotb HIM. The effect of rectal ozone on the portal vein oxygenation and pharmacokinetics of propranolol in liver cirrhosis (a preliminary human study). *British Journal of Clinical Pharmacology*. Mar 2011 2011;71(3):411-415.
63. Guan YJ, Tang XP, Yin CB, Yi ZQ. [Study on the damage of liver in patients with SARS]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. May 2004;16(5):267-270.
64. Venkataraman T, Frieman MB. The role of epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in SARS coronavirus-induced pulmonary fibrosis. *Antiviral Res*. Jul 2017;143:142-150.
65. Khan G. A novel coronavirus capable of lethal human infections: an emerging picture. *Virology*. Feb 28 2013;10:66.
66. Simonetti V, Quagliariello V, Franzini M, Iaffaioli RV, Maurea N, Valdenassi L. Ozone Exerts Cytoprotective and Anti-Inflammatory Effects in Cardiomyocytes and Skin Fibroblasts after Incubation with Doxorubicin. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019;2019:2169103.
67. Delgado-Roche L, Hernandez-Matos Y, Medina EA, Morejon DA, Gonzalez MR, Martinez-Sanchez G. Ozone-Oxidative Preconditioning Prevents Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Sprague-Dawley Rats. *Sultan Qaboos Univ Med J*. Aug 2014;14(3):e342-348.
68. Adali Y, Eroglu HA, Makav M, Guvendi GF. Efficacy of Ozone and Selenium Therapy for Alcoholic Liver Injury: An Experimental Model. *In Vivo*. May-Jun 2019;33(3):763-769.

	<p style="text-align: center;">International Scientific Committee of Ozone Therapy</p> <p style="text-align: center;">Tel/Fax (+34) 913515175. Cell Phone (+34) 669685429 Avenida Juan Andrés 60. Local 1 – Bajo Izquierdo 28035, Madrid (Spain) info@isco3.org www.isco3.org</p>	<p>SOP: ISCO3/ EPI /00/04 Versión: Castellano Fecha: 13/03/2020 Pag 18 of 18</p>
---	---	--

69. Tezcan AH, Ozturk O, Ustebay S, Adali Y, Yagmurdur H. The beneficial effects of ozone therapy in acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Pharmacol Rep.* Apr 2018;70(2):340-345.
70. Kaldirim U, Uysal B, Yuksel R, et al. Ozone therapy ameliorates paraquat-induced lung injury in rats. *Exp Biol Med (Maywood).* Dec 2014;239(12):1699-1704.
71. Wang L, Chen H, Liu XH, et al. Ozone oxidative preconditioning inhibits renal fibrosis induced by ischemia and reperfusion injury in rats. *Exp Ther Med.* Dec 2014;8(6):1764-1768.
72. Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Ozonation of human HIV-infected plasmas for producing a global vaccine: How HIV-patients may help fight the HIV pandemia. *Virulence.* May-Jun 2010;1(3):215-217.
73. Bocci V, Travagli V, Zanardi I. The failure of HIV vaccines: a new autovaccine may overcome some problems. *Medical Hypotheses.* Jun 2009 2009;72(6):662-664.
74. Schwartz-Tapia A, Martínez-Sánchez G, Sabah F, et al. Madrid Declaration on Ozone Therapy. *ISCO3.* 2015:50.
75. Peretiagyn SP, Struchkov AA, eretiagyn NC, Kulechina NB, Inventors; 2289413, assignee. Ozonization Method of Saline Solution 2006.
76. Shmakova IP, Nazarov EI. Methods of application of ozone in medicine (guidelines). 2004.
77. Maslennikov OV, Kontorshikova CN, Gribkova IA. *Ozone therapy in Practice. Health Manual, Ministry Health Service of The Russian Federation The State Medical Academy Of Nizhny Novgorod, Russia.* http://www.absoluteozone.com/assets/ozone_therapy_in_practice.pdf. 1 ed 2008.
78. Razumovskii SD, Konstantinova ML, Grinevich TV, Korovina GV, Zaitsev VY. Mechanism and kinetics of the reaction of ozone with sodium chloride in aqueous solutions. *Kinetics and Catalysis.* 2010;51(4):492-496.
79. Boyarinov GA, Gordetsov AS, Peretyagin SP, Matusyak KS, Ovchinnikov YV, Boyarinova LV. The analysis of interaction of ozone and sodium chloride in Aqueous solution. *Rev Esp de Ozonoterapia.* 2016;6(Supp 1):77.
80. Gorbunov SN, Korhouknov AE, Mozhaev MV, et al. [Structural-molecular transformations of water solutions of electrolytes under the influence of medical ozone]. *Meditsinskii almanakh.* 2013 2013(3):38-40.
81. Boyarinov GA, Sokolov VV. *Ozonized cardiopulmonary bypass (experimental justification and clinical results).* Nizhny Novgorod, 1999.
82. Boyarinov GA, Monakhov AN, Medvedev AP, Chiginev VA, Beaver VM, Gamzaev AB. *The effect of the ozonized cardioplegic solution on cardiodynamics during cardiac valve prostheses // In the book: Ozone in biology and medicine: Abstract. Doc. II Vseros. Scientific and practical confer. with international participation Nizhny Novgorod.* Nizhny Novgorod 1995.
83. ISCO3 I. ISCO3/MET/00/01 Major Autohemotherapy (AHT mayor).
84. ISCO3. ISCO3/MET/00/02 Minor Autohemotherapy. www.isco3.org2016.
85. ISCO3. Extracorporeal blood oxygenation-ozonation (EBOO) ISCO3/MET/00/22. 2016;1:9.
86. Amatore D, Celestino I, Brundu S, et al. Glutathione increase by the n-butanoyl glutathione derivative (GSH-C4) inhibits viral replication and induces a predominant Th1 immune profile in old mice infected with influenza virus. *FASEB Bioadv.* May 2019;1(5):296-305.