

CONSENSUS CONFERENCE

**LINEE GUIDA E BUONE PRATICHE
in OSSIGENO-OZONO TERAPIA**

(Art. 6 - L. 8 marzo 2017, n. 24)

Roma
3 febbraio 2018

Revisione 26.2.2018

Il presente Studio è stato realizzato con la collaborazione di:

Matteo Bonetti - Specialista in Radiologia. Neuroradiologo Interventista Spinale. Responsabile Servizio di Neuroradiologia Istituto Clinico - Città di Brescia (Brescia).

Viviana Covi - Medico Chirurgo, Poliambulatorio San Rocco - Montichiari (Brescia).

Nicola Dardes - Specialista in Pneumologia. Responsabile Unità di Pneumologia, Casa di Cura Paideia - Roma. Docente Master Oncologia Integrata, Università "G. Marconi"- Roma.

Massimo Fioranelli - Professore Associato di Fisiologia Umana, Università "G. Marconi" – Roma

Morena Anna Guaragna - Medico Chirurgo, A.O. "Sant'Andrea" – Roma.

Maurizio Maggiorotti - Specialista in Ortopedia e Traumatologia. Presidente progettOzono. Presidente A.M.A.M.I. (Associazione per i Medici Accusati di Malpractice Ingiustamente).

Manuela Malatesta - Professore Associato di Anatomia Umana - Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento Sezione di Anatomia e Istologia - Università di Verona.

Mauro Martinelli - Specialista in Medicina Interna e Nefrologia. Responsabile di U.O.S., Dip. Scienze Biologiche, Ospedale "San Pietro FBF" – Roma.

Carmela Mendola - Specialista in Neurochirurgia - Milano.

Mario Muto - Direttore UOC Neuroradiologia diagnostica e terapeutica, AO Cardarelli - Napoli. Presidente AINR (Associazione Italiana di Neuroradiologia).

Marco Rascaroli - Specialista in Neurofisiologia Clinica e Medicina Fisica e Riabilitazione. Responsabile Servizio di Neurofisiopatologia, "Istituti Ospedalieri Bergamaschi" – Bergamo.

Raoul Saggini - Professore Ordinario in Medicina Fisica e Riabilitazione e Direttore della Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione, Università "G. d'Annunzio" - Chieti. Presidente SIMRIM (Società Italiana di Medicina Riabilitativa Interventistica Multidisciplinare).

Gabriele Tabaracci - Specialista in Ortopedia e Traumatologia. Presidente Nuova Fio.

Valter Travagli - Professore Associato di Tecnica Farmaceutica, Galenica e Neogalenica. Direttore della Scuola di Specializzazione in Farmacia Ospedaliera, Dipartimento di Biotecnologie, Chimica e Farmacia, Università degli Studi di Siena.

Paolo Tordiglione - Specialista in Anestesia e Rianimazione Policlinico Umberto I – Roma. Dottore di Ricerca in Neuroscienze Università "La Sapienza"- Roma.

(Lo Studio subirà revisioni periodiche sulla base di nuova e rilevante produzione scientifica)

PREMESSA

L'art. 6 della **Legge 8 marzo 2017 n. 24**, ha sancito l'improcrastinabilità della emanazione di Linee Guida da parte delle Società scientifiche accreditate presso il Ministero della Salute ai sensi della stessa Legge.

Ciò perché la Norma ha apportato un importante cambiamento in seno al Codice Penale che si è arricchito dell'**articolo 590-sexies** che prevede l'impunità per imperizia per i sanitari che, nello svolgimento della loro funzione, abbiano agito rispettando *"... le raccomandazioni previste dalle linee guida come definite e pubblicate ai sensi di legge ovvero, in mancanza di queste, le buone pratiche clinico-assistenziali..."*.

Purtroppo le **Linee Guida italiane** valide ed utilizzabili -ai sensi di Legge- sotto il profilo della credibilità scientifica, in materia di ossigeno-ozono terapia sono praticamente inesistenti. Infatti, le così dette "Linee Guida" proposte da varie Società scientifiche, non rispecchiano i canoni imposti dal GIMBE (Gruppo Italiano Medicina Basata sull'Evidenza), dal GIN (Guidelines International Network) e dall'Istituto Superiore di Sanità, in modo particolare per quanto attiene al conflitto di interessi, per la composizione del Gruppo di Sviluppo delle Linee guida stesse e per le metodologie utilizzate.

La **Società scientifica Nuova FIO** (Federazione Italiana di Ossigeno-ozono) in regola con il disposto giuridico, dopo essersi accreditata presso il Ministero della Salute, ha sentito l'obbligo di ottemperare a quanto previsto in tema di **Linee guida e buone pratiche clinico-assistenziali**. Allo scopo si è data un regolamento interno, in linea con il precetto, al fine di produrre nel più breve tempo possibile le prime Linee guida, in tema di ossigeno-ozono terapia, valide secondo gli standard di riferimento.

Nel frattempo, sentito la cogente necessità e in accordo con il disposto giuridico, ha riunito il Comitato scientifico per rispondere ai quesiti relativi all'efficacia, alle applicazioni cliniche e ai rischi dell'ossigeno ozono terapia e

- dopo avere operato una attenta ricognizione di quanto in letteratura in tema di ossigeno ozono terapia (oltre 1200 lavori scientifici pubblicati);
- valutata la "Dichiarazione di Madrid sull' Ozonoterapia" (del 2010 e le revisioni del 2014 e 2015) prodotta dall'ISCO3 - International Scientific Committee of Ozone Therapy, composta da 38 associazioni nazionali e internazionali di ozono;
- valutato il Documento "Ozonoterapia basata sull'Evidenza" prodotto nel 2015 dalla WFOT - World Federation of Ozone Therapy, composta da 22 società scientifiche internazionali di ozono terapia;

ha tenuto la prima **Consensus Conference in tema di ossigeno-ozono terapia** in Roma il 3 febbraio 2018.

Da questa sono emerse le seguenti **evidenze e raccomandazioni** che vanno comprese nell'alveo delle **BUONE PRATICHE CLINICO ASSISTENZIALI**

BUONE PRATICHE CLINICO ASSISTENZIALI IN OSSIGENO-OZONO TERAPIA

L'ozono terapia è un trattamento medico che utilizza una miscela di ossigeno e ozono come agente terapeutico per trattare una vasta gamma di malattie. Il rationale di impiego si basa sul concetto che basse concentrazioni di ozono possono rivestire importanti funzioni sulla cellula e numerosi sono stati i meccanismi d'azione dimostrati che confermano questa evidenza clinica.¹⁻¹⁰

1. UTILIZZO DELLA MISCELA DI OSSIGENO-OZONO

Per uso medico la miscela di ossigeno-ozono viene prodotta da una apposita apparecchiatura certificata in conformità con gli standard stabiliti, ad esempio all'interno dell'Unione Europea deve soddisfare le direttive CE. Il principio di funzionamento del generatore è quello di trasformare parte dell'ossigeno in ingresso in ozono medicale, in quantità tale da poterlo dosare in concentrazione variabile. La macchina deve essere obbligatoriamente provvista di fotometro, dispositivo per la quantificazione accurata dell'ozono prodotto.

Generalmente i generatori medicali sono dotati di tubi ad alto voltaggio (tubi Siemens) connessi in serie e collegati ad un trasformatore ad alta tensione controllato elettronicamente per generare un adeguato voltaggio. L'energia fornita consente la scissione della molecola di O_2 e la sua ricombinazione formando una miscela gassosa di O_2O_3 il cui rapporto sarà variabile in funzione del voltaggio applicato e del flusso di O_2 in ingresso. L'ossigeno in ingresso deve essere puro ed erogato da bombole medicali o da sistema centralizzato (vd. Ospedali e Case di Cura). La concentrazione di ozono è indicata direttamente con il dato in $\mu g/ml$. Un distruttore catalitico consente di ritrasformare di nuovo l'ozono in eccesso in ossigeno.

2. MATERIALI

Tutti i materiali impiegati devono essere monouso e resistenti all'ozono, certificati CE (nell'Unione Europea), registrati all'ente preposto. Si prediligono pertanto vetro, silicone, Teflon, siringhe siliconate, Etilene Vinil Acetato (EVA), PVC no dop (senza ftalato). I tubi e i guanti latex non possono essere impiegati perché a contatto con l'ozono si disintegrano rapidamente.

3. UTILIZZATORI

L'Ossigeno-Ozono terapia è una terapia medica e come tale può essere praticata esclusivamente da personale medico ed essere eseguita con assoluto rigore scientifico. Come ogni altra terapia medica (ad eccezione dell'anestesiologia e della radiologia) non è sottoposta né vincolata ad alcun conseguimento di specializzazione specifica post laurea. Nell'iter formativo professionale specifico è consigliabile *-ma non obbligatorio-* seguire un un Master o Corso universitario di Perfezionamento monotematico o comunque contenente almeno 3 moduli di 3 CFU in Ossigeno ozono terapia Medica oppure altro Corso accreditato, evitando corsi con evidente conflitto di interessi in quanto effettuati da strutture o soggetti con interessi commerciali.

4. VIE DI SOMMINISTRAZIONE

Le vie di somministrazione e di impiego, di seguito descritte, sono tutte state opportunamente testate e non si sono registrati effetti indesiderati con l'impiego dei dosaggi riportati. Accogliamo con favore il range terapeutico indicato dalle linee guida *Ozone Therapy International Library* ISCO3¹¹, *Levels of Evidence Working Group*, OCEBM¹², *Review on Evidence Based Ozone Therapy*, WFOT'S¹³, e dal contributo del dott. V. Bocci nel libro *Ozone a new medical drug*.¹⁴

Tranne che per la via inalatoria, da evitare per la tossicità bronco-polmonare, molte vie parenterali e topiche sono impiegate per somministrare ozono senza effetti tossici e partendo dal minimo dosaggio possibile.¹⁵

Per quanto attiene alle vie intra peritoneali e intra pleuriche sono disponibili allo stato attuale segnalazioni da parte di gruppi di studio¹²⁸. Sono anche disponibili segnalazioni, ma non studi clinici controllati, relativi alla efficacia della somministrazione intra peritoneale in caso di carcinosi da tumori ovarici. Ma per questa particolare via di somministrazione sono necessari ulteriori studi osservazionali e studi clinici controllati.^{16,17}

Le applicazioni cutanee (esempio ulcera diabetica) si effettuano con ozono in forma gassosa utilizzando dispositivi medici certificati CE costituiti da materiali resistenti all'ozono.^{18,19}

La via sistemica comprende diverse modalità:

- **VIA VENOSA:** vengono prelevati, in flaconi sterili, in vetro o sacche di plastica ozonoresistente, in conformità con i regolamenti dell'Unione Europea, tra i 100 mL ed i 200 mL di sangue venoso dal paziente. In questi flaconi deve essere presente anticoagulante⁵⁰. Ad esso viene poi miscelata una concentrazione di ozono che varia, preferibilmente, tra i 10 µg/mL e gli 80 µg/mL. Questa miscela viene poi ri-somministrata immediatamente nella vena del paziente, senza interrompere il circuito.²⁰⁻²¹⁻²²
- **VIA MUSCOLARE PROFONDA (glutea):** vengono prelevati 10 mL di sangue venoso in una siringa sterile da 30 cc già caricata con la stessa quantità di miscela ossigeno-ozono alla concentrazione massima di 40 µg/mL e reintrodotta intramuscolo nel gluteo.²³
- **VIA RETTALE:** il gas viene somministrato mediante un catetere attraverso l'orifizio anale nell'ampolla rettale. Il volume consigliato per questa pratica va fino ai 200 mL con concentrazione di ozono tra le 20 µg/mL e le 50 µg/mL. Si consiglia adeguata preparazione.^{14, 24}

La via periferica comprende diverse modalità:

Per quanto riguarda le **vie di somministrazione periferiche**, l'ozono viene somministrato più frequentemente attraverso infiltrazione. Si utilizza una siringa sterile monouso, riempita con la miscela solo alcuni istanti prima dell'utilizzo. Questo perché l'ozono degrada rapidamente, fino a scomparire del tutto trasformandosi nuovamente in ossigeno. In questo caso, la somministrazione diverrebbe del tutto inefficace, sebbene innocua. Tale via comprende:

- INTRAMUSCOLARE PARAVERTEBRALE con possibilità di essere effettuate lungo tutta la lunghezza della colonna vertebrale. Per la parte cervicale si utilizzano concentrazioni di ozono fino a 5 µg/mL; per la parte dorsale e lombare al massimo 20 µg/mL.^{25,26}
- PROFONDA PARAVERTEBRALE Sono consigliate concentrazioni da 10 a 30 µg/mL di ossigeno-ozono con un volume tra i 5 e i 10 mL per punto di inserzione.²⁷
- INTRADISCALE viene effettuata con supporto radioguidato, spesso con paziente sedato. Si consiglia singola infiltrazione, ripetuta solo se necessario non prima di due, tre settimana. Si consiglia, per la discopatia lombare, 5-10 mL di O₂-O₃ ad una concentrazione di 25-35 µg/mL. Per la discopatia cervicale, si indica, 2-3 mL di O₂-O₃ ad una concentrazione di 25-35 µg/mL.^{28,29}
- INTRAFORAMINALE per l'infiltrazione cervicale, si indica, un volume di 3-4 mL ad una concentrazione di 10-20 µg/mL. Per quella lombare, si utilizza la stessa concentrazione ad un volume di 7-10 mL alla stessa concentrazione.³⁰
- INTRARTICOLARE si utilizza una concentrazione tra 10 e 20 µg/mL con un volume dipendente dalla dimensione dell'articolazione trattata.³¹
- USO TOPICO CON SACCHETTO DI OZONO, indicata nelle lesioni cutanee con concentrazioni che vanno da 10 ad 30 µg/mL a seconda della gravità della lesione per una durata di 10-20 minuti.³²
- SOTTOCUTANEA può essere indicata a fini cosmetici nella panniculite fibro-edematosa, in cui si consigliano volumi limite di 100 mL totali per seduta ed un volume di 1-2 mL per punto con concentrazioni di 8-10 µg/mL con ago di 0.4 mm (27 G). Si consiglia l'associazione con Terapia sistemica per una maggior efficacia.³³
- INSUFFLAZIONE IN FISTOLA, con una concentrazione di O₂O₃ di 10-80 µg/mL.¹⁴
- INSUFFLAZIONE VESCICO-URETRALE di 50-100 mL di O₂O₃ direttamente in uretra o vescica alla concentrazione, raccomandata, di 10-25 µg/mL.^{34,35}
- INTRA PROSTATICA Tecnica infiltrativa con una concentrazione di O₂O₃ di 30 µg/mL.¹³²
- APPLICAZIONE AURICOLARE La concentrazione raccomandata è 10-25 µg/mL per 5 minuti.^{36,38}
- VIA NASALE Ponendo grande attenzione a non far inalare la miscela che viene somministrata in apnea. Una dose massima di 60 mL di O₂-O₃, ad una concentrazione di 10-12 µg/mL.³⁹
- MICRODOSI DI O₂-O₃ NEI TRIGGER POINTS E NEI PUNTI DI AGOPUNTURA si consiglia infiltrazione intramuscolare di 3-5 mL di O₂-O₃ con concentrazione di 6-9 µg/mL, oppure per quanto riguarda l'agopuntura si indica l'infiltrazione di 0.1-0.3 mL (massimo 1 mL) con concentrazioni di 6-9 µg/mL.⁴⁰
- VIA TRANSDERMICA A MEZZO DI SAUNA OZONIZZATA, APPLICAZIONE TOPICA DI ACQUA, OLIO E CREME OZONIZZATE. L'ozonizzazione di acqua distillata viene effettuata in ambiente ambulatoriale mentre gli olii devono essere prodotti in laboratori semi-industriali.^{41,131}
- APPLICAZIONI ODONTOIATRICHE⁴²⁻⁴⁴

5. DOSI E VOLUMI

Per uso medico vengono utilizzate, a seconda della via e della modalità di somministrazione, dosi di ossigeno-ozono ad adeguate basse concentrazioni. Le dosi raccomandate per ciascun impiego sopra considerato non ha fatto registrare danni o fenomeni di tossicità, infatti, alle dosi terapeutiche i meccanismi di protezione antiossidante dell'organismo sono sufficienti a controllare la produzione di radicali liberi -neutralizzandone l'azione nociva- e favorendo la reazione antiossidante che è alla base del meccanismo d'azione della terapia. Nella somministrazione per via sistemica è necessario definire il volume di sangue da prelevare. Di norma, è ritenuto accettabile un prelievo del 2% di sangue autologo, prendendo in considerazione il peso del paziente da trattare e considerando disordini emodinamici e ipovolemici.

6. CONTROINDICAZIONI

La somministrazione di ozono è controindicata ⁴⁵⁻⁵¹

- in **Associazione contemporanea con altri medicinali** (nella stessa siringa o flacone) per l'effetto ossidante della miscela.
- **Deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD)** (nella somministrazione sistemica).

6a. RACCOMANDAZIONI

- **Gravidanza.** Nonostante non esistano studi scientifici che ne controindichino l'utilizzo ma, al contrario, sono riportate esperienze positive dell'ossigeno ozono terapia per il trattamento di alcune patologie legate alla gravidanza l'utilizzo dell'ozono terapia sistemica può essere sconsigliato da un punto di vista medico-legale per evitare un contenzioso -oggi- dall'esito dubbio. ⁵²⁻⁵⁴

- **Sport agonistico.** Sebbene non esistano studi scientifici che ne controindichino l'utilizzo poiché l'ozono esercita una benefica funzione antiossidante, le attuali normative in materia di doping ne vietano l'uso per via sistemica.

- **Pazienti in terapia con Ace inibitori.** In alcuni studi sono stati registrati episodi ipotensivi in pazienti trattati con ACE-inibitori. Tale effetto può essere dovuto all'attivazione della cascata callicreina-chininogeno, come descritto in passato anche da Shiba et al. (1997) e Abe et al. (1998). In ogni caso, la bradichinina plasmatica è degradata in pochi minuti, dunque è consigliata l'infusione lenta per evitare effetti avversi. ^{55,56}

- **Pazienti in terapia con Dicumarolici.** Si raccomanda di monitorare più frequentemente l'INR in corso di terapia sistemica con ozono. ^{11,13}

- **Anamnesi positiva per epilessia.** Alcune esperienze hanno testimoniato il possibile scatenarsi di una crisi in concomitanza con la somministrazione. ¹¹⁻¹⁴

- **Malattia di Basedow Graves.** Allo stato attuale in letteratura è difficile reperire lavori scientifici adeguati che dimostrino eventuale tossicità dell'ozono terapia in pazienti affetti da l'ipertiroidismo, tiroiditi autoimmuni o simili. ¹³

- **Vie di somministrazione intravenosa e intra-arteriosa** (direttamente dalla siringa al torrente circolatorio) da evitare fino ad evidenze scientifiche certe in merito alla sicurezza.

7. APPLICAZIONI CLINICHE

La qualità delle prove è stata valutata in base al tipo di fonte (meta-analisi e revisione sistematica di trials clinici randomizzati) e altri fattori come validità statistica e rilevanza clinica.^{11-14, 57} I livelli di evidenza sono stati adattati dalla U.S. Preventive Service Task Force e dal Centro per la Medicina Basata sulle Evidenze

Le patologie sensibili al trattamento con ossigeno-ozono possono essere classificate in tre categorie secondo la Medicina Basata sulle Evidenze (EBM). I livelli di evidenza selezionati nell'ozonoterapia sono stati classificati come:

Impieghi con Evidenza di tipo A:

Basata su revisioni sistematiche con trials controllati randomizzati, revisioni sistematiche con omogeneità di studi di coorte oppure revisioni sistematiche con omogeneità di studi caso-controllo.^{58- 91, 134, 135, 138}

Malattie della colonna vertebrale: ernia discale, protrusioni discali, discopatie, sindrome delle faccette articolari.

Gonartrosi e condromalacia rotulea.

Impieghi con Evidenza di tipo B:

Basata su trials controllati randomizzati individuali, studi di coorte o di caso-controllo.^{50, 92- 102, 133,136}

Patologie ortopediche: osteoartrite localizzata, tendinopatie, sindromi canalicolari degli arti.

Piede diabetico.

Ulcere cutanee e ustioni.

Ischemie degli arti.

Malattie infettive cutanee acute o croniche causate da batteri, virus e funghi.

Impieghi con Evidenza di tipo C:

Basata su opinioni di esperti
senza valutazioni critiche esplicite, case report, fisiologia, ricerche di laboratorio,
epidemiologia descrittiva.^{13,103-132-137-139}

Astenia correlata al cancro. L'ozonoterapia, associata alla terapia convenzionale, può diminuire gli effetti collaterali della terapia oncologica, accelerare e migliorare i risultati. Pertanto, l'ossigeno-ozono è da considerarsi terapia di supporto. Inoltre ai dosaggi impiegati nella terapia infiltrativa l'ozono non può indurre mutazioni oncogene.

Asma bronchiale.

Sindromi dolorose quali emicrania e fibromialgia.

Sindrome da fatica cronica.

Malattie autoimmuni: sclerosi multipla, artrite reumatoide, malattie infiammatorie croniche intestinali, sindrome di Raynaud.

Malattie del fegato: epatite A, B, C.

Malattia infiammatoria cronica dell'intestino.

Demenza senile, M. Alzheimer.

Sepsi grave e disfunzione multi organo.

Malattie polmonari quali enfisema, fibrosi polmonare, sindrome da distress respiratorio acuto, BPCO.

Oftalmologia: retinopatia diabetica, degenerazione maculare senile, retinite pigmentosa, glaucoma cronico.

Panniculopatia edemato-fibrosa (cellulite).

Sindrome del Tunnel Carpale.

Trattamento della carie ed altri disturbi a livello dentale.

8. BIBLIOGRAFIA

- 1- Bocci V. et al. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev.* 2009;29(4):646-682,
- 2- Schwartz A. et al. The Guide for the medical use of ozone. Therapeutic Basis and indications (2011) published by AEPRMO
- 3- Bocci V. Ozone as a bioregulator. *Pharmacology and toxicology of ozonotherapy. J. boil. Regul. Homeost. Agents,* 1996. 10: 31-53.
- 4- Pecorelli A. et al. NFR2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 267, 30-40 (2013)
- 5- Buckley RD, et al. ozone and human blood. *Arch Envir Health* 30:40, 19975
- 6- Poli G. et al. 4-hydroxynonenal: a membrane lipid oxidation product of medical interest. *Med. Res.* 28:569-631 (2008)
- 7- Forman H. et al. Hydrogen peroxide: the good, the bad and the ugly, in *Oxidants in Biology* (G. Vacchi, and P. Davis, Eds), Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 1-17
- 8- Costanzo M.,et al. Low Ozone Concentrations Stimulate Cytoskeletal Organization, Mitochondrial Activity and Nuclear Transcription. *Eur J Histochem.* 2015 Apr 13; 59(2): 2515.
- 9- Smith NL et al. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med Gas Res.* 2017 Oct 17;7(3):212-219.
- 10- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediators Inflamm.* 2000;9:271–276.
- 11- ISCO3. Learning Methodology Instructions and Perfection in Ozone Therapy fo Medical Doctors. [www-isco3.org](http://www.isco3.org) (2015)
- 12- OCEBM. Levels of Evidence Working Group. <http://www.cebm.net/oxford-centre-evidence-based-medicine-levels-evidence-march-2009>.
- 13- WFOT'S Review on Evidence Based Ozone Therapy. Comitato scientifico consultivo WFOT (2015)
- 14- Bocci V. Ozone a new medical drug, 295 (Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2005)
- 15- Berman Jesse D.,et al. Health Benefits from Large-Scale Ozone Reduction in the United States. *Environ Health Perspect.* 2012 Oct; 120(10): 1404–1410. Published online 2012 Jul 18.
- 16- Akin Y et al. Does medical ozone increase the pleurodesis effectiveness of autologous blood? *Turk Gogus Kalp Dama* 2016;24(4):736-740
- 17- Souza YM et al. Evaluation of the effects of ozone therapy in the treatment of intra-abdominal infection in rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2010 Feb;65(2):195-202.

- 18- Travagli V. et al. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. Hind Pub Corp, Mediators of Inflammations, Vol 2010, Art ID 610418
- 19- Kazancioglu HO, Comparison of Low-Level Laser Therapy versus Ozone Therapy in the Treatment of Oral Lichen Planus. *Ann Dermatol.* 2015 Oct;27(5):485-91
- 20- AEPROMO, The guide for the medical use of ozone. Therapeutic basis and indications (2011).
- 21- Bocci V et al. Proposta per un corretto procedimento di autoemoterapia ozonizzata, Emma Borrelli- Edictrice UNI Service.
- 22-Bocci V. et al. Studies on the biological effects of ozone-5. Evaluation of immunological parameters and tolerability in normal volunteers receiving ambulatory autotherapy. *Biotherapy*, vol 7, 1994,pp 8-90
- 23-Muto M. intradiscal and intramuscular injection of oxygen-ozone: pathological evaluation. *Rev Ital Ossigeno ozono Ter* 3, 7-13 (2004)
- 24- D'Ambrosio CM. Terapia delle IBD mediante Ozonoterapia per via rettale. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozono* 1:159-163,2002.
- 25- Ansele Alonso AJ et I. Prospective and randomized study in patients with low back pain or sciatic pain ozonotherapy treatment. *Patologia del aparato Locomotor* 2007, 5: 46-54
- 26- Borrelli E. Mechanism of action of oxygen ozone therapy in the treatment of disc herniation and low back pain. *Acta neurochir Suppl* 2011;108:123-125.
- 27- Bonetti M et al. Percutaneous paravertebral ozone therapy. *Riv Neurorad* 2002;15:415-9.
- 28-Andreula C et al. Interventional spinal procedures. *Eur J Radiol* 50, 112-9 (2014)
- 29-Leonard M. Disc puncture under fluoroscopic guidance. *Riv Ital Ossigeno Ozono Ter* 1, 73-8 (2002).
- 30- Fabris G et al. L'ossigeno-ozono terapia intra-foraminale. *Rivista di Neuroradiologia* 2001; 14:61-6.
- 31- Lopes de Jesus CC et al. Comparison between intra-articular ozone and placebo in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *PLoS One*; 201712(7):e0179185.
- 32- Duplà GR et al. La Ozonoterapia en el tratamiento de las úlceras crónicas de las extremidades inferiores. *Riv Angiologia* 02/91.
- 33- Matassi R et al. Impiego dell'O₃ nella terapia delle lipodistrofie distrettuali. *Minerva Mesoterapeutica*, Vol 2, N 1 pag 1-6.
- 34- Rivera Soto M.A. et al. Tratamiento con Ozonoterapia Médica vía Insuflación Vaginal, en paciente femenina mexicana infectada con VPH 16,18. Reporte de caso *Revista Española de Ozonoterapia* vol. 7, n° 1. pp. 111-120, 2017
- 35- Yarustovskaya OV, et al. Ozonotherapy as an efficient component of the combined treatment of the patients presenting with bacterial vaginosis. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2015 Sep-Oct;92(5):45-49.
- 36- Pogosov VS, et al. Medical ozone in combination with low-frequency ultrasound therapy in the treatment of patients with chronic purulent otitis media. *Vestn Otorinolaringol.* 2001;(5):24-5.
- 37- Sin'kov EV. Treatment of patients with acute and chronic suppurative middle ear diseases using ozone preparations. *Vestn Otorinolaringol.* 2009;(3):34-5.
- 38- Sanmez O et al. The evaluation of ozone and betahistine in the treatment of tinnitus. *Eur Arch Otorhinolaryngol*;2013 Jul; 270 (7):199-2006.

- 39- Holz O, et al. Repeated ozone exposures enhance bronchial allergen responses in subjects with rhinitis or asthma. *Clin Exp Allergy*. 2002 May;32(5):681-9.
- 40- Zhang Y, et al. Clinical observation on O₃ acupoint injection for treatment of low back pain. *Zhongguo Zhen Jiu*. 2007 Feb;27(2):115-6.
- 41-Tara F et al. Effects of ozonated olive oil and clotrimazole cream of treatment of vulvovaginal candidiasis. *Altern Ther Health Med*; 2016 Jul; 22(4),44-9.
- 42-Patel PV et al. Cytological assessment of healing palatal donor site wounds and grafted gingival wounds after application of ozonated oil: an eighteen-month randomized controlled clinical trial. *Acta Cytol*;2012; 56(3):277-84.
- 43-Lynch E. Evidence based efficacy of ozone for root canal irrigation. *J Esthet Restor Dent* 20, 287-93 (2008)
- 44-Holmes J et al. Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomized, controlled 18-month trial. *Gerodontology* 20, 106-14 (2003).
- 45- Bocci V. et al. Is it true ozone is always toxic? The end the dogma, *Toxicol. Appl. Pharm*, 2016:493-504 (2006)
- 46- Zambello A. et al. Safety in ozone therapy. *Riv. It. Ossigeno-Ozono*. 2004, 3:25-35
- 47- Nkhoma E.T. et al. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis* 42, 267-78 (2009)
- 48- Jerrett M, Burnett RT, Pope CA, 3rd, et al. Long-term ozone exposure and mortality. *N Engl J Med*. 2009;360(11):1085–1095.
- 49- Bocci V, Valacchi G, et al. Studies on the biological effects of ozone: 9. Effects of ozone on human platelets. *Platelets*. 1999;10(2-3):110–116
- 50- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. *Mediators of Inflammation*. 1999;8(4-5):205–209.
- 51- Kunz D, et al.. Transforming growth factor beta is increased in plasma of patients with hematologic malignancies after transfusion of platelet concentrates. *Transfusion*. 1998 Feb;38(2):156–159
- 52- Andikyan et al, Morphofunctional changes in the placenta after ozone therapy. *Bull Exp Biol Med*. 2000 Jul;130(7):715-8.
- 53- Ivanckenko VA. Ozone hemo- and antioxidant therapy and endogenous intoxication in gestosis. *Lik Sprava*. 1999 Oct-Dec;(7-8):130-3.
- 54- Olempieva et al. Peculiarities of metabolic rearrangement of gas-transporting function of the blood in the pregnant women under the influence of medical ozone applied in obstetrical practice. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*. 2011 Nov-Dec;(6):33-5
- 55- Silva P.S. et al. Antihypertensive effects exerted by enalapril in mild to moderate hypertension are not associated with changes in the circulating levels of nitric oxide-related markers. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011 Apr;67(4):365-370.
- 56- Di Girolamo G. et al. The effect of Enalapril on PGI₂ and NO levels in hypertensive patients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2002 May-Jun;66(5-6):493-8.
- 57- Bocci V. et al. Oxygen-ozone therapy in medicine: an update, *Blood Purif*. 28:373-376 (2009)

- 58- ISCO3. Ozone in non-rheumatic locomotor system pathologies.
<http://www.isco.org/files/final%20onon%2reumathic%20July%202014.pdf> (2014)
- 59- Donato A.D: et al The effectiveness of endoscopic epidurolysis in treatment of degenerative chronic low back pain: a prospective analysis and follow-up at 48 months. *Acta Neurochir Suppl* 2011; 108:67-73
- 60- Magalhaes F.N. et al. Ozone therapy as a treatment for low back pain secondary to herniated disc: a systematic review an meta-analysis of randomized controlled trials. *Pain Physician*. 2012 Ma-Apr;15(2):E115-29
- 61- Huanqui C et al. Eficacia y seguridad del ozono intraarticular en artrosis de rodilla refractaria al tratamiento. *Rev. Perù Reum*. Vol 12, n 1, 20016. P. 19-24
- 62- Samper Bernal D et al. Role of intra-articular ozone in osteoarthritis of knee for functional and symptomatic improvement. *Ind J Phys Med Rehabil* 2011;22:65-69
- 63- Elawamy A. et al. Implication of Two Different Doses of Intradiscal Ozone-Oxygen Injection upon the Pain Alleviation in Patients with Low Back Pain: A Randomized, Single-Blind Study. *Pain Physician*. 2018;21(1):25-31
- 64- Andreula C.F., Simonetti L., De Santis F., Agati R., Ricci R., Leonardi M. Minimally Invasive Oxygen-Ozone Therapy for Lumbar Disk Herniation *AJNR* 24; 996-1000, May 2003
- 65- Andreula CF, Muto M, Leonardi M. Interventional spinal procedures. *European Journal of Radiology* 2004 50:112-9.
- 66- Bonetti M, et al. Intraforaminal O2-O3 versus periradicular steroidal infiltrations in lower back pain: randomized controlled study. *American Journal of Neuroradiology* 2005 26:996-1000.
- 67- Bonetti M., et al. Ossigeno-ozono terapia vs infiltrazioni epidurali cortisoniche *Rivista di Neuroradiologia* 13; 203-206, 2000
- 68- De Santis F, Leonardi M, Simonetti L, Dall'Olio M, Princiotta C, Menetti F. Ossigeno-Ozonoterapia: la tecnica intradiscale. *International Journal of Ozone Therapy* 2009 8:138-46.
- 69- Gallucci M., Limbucci N., et al. Sciatica: Treatment with Intradiscal and Intraforaminal Injections of Steroid and Oxygen-Ozone versus Steroid Only *Radiology*. 2007 Mar;242(3):907-13
- 70- Iliakis E. Ozone treatment in low back pain. *Orthopaedics* 1: 29-33,1995.
- 71- Iliakis E., Valadakis V., Vynios D.H., Tsiganos C.P., Agapitos E. Rationalization of the activity of medical ozone on intervertebral disc and histological and biochemical study. *Rivista di Neuroradiologia* 14 (suppl.1) 25-30, 2001
- 72- Lehnert T, Naguib NN, Wutzler S, Nour-Eldin NE, Bauer RW, Kerl JM, Vogl TJ, . Analysis of disk volume before and after CT-guided intradiscal and periganglionic ozone-oxygen injection for the treatment of lumbar disk herniation. *J Vasc Interv Radiol*. 2012 Nov;23(11):1430-6.
- 73- Leonardi M, Albin Riccioli L, Battaglia S, de Santis F, Cenni P, Raffi L, Simonetti L. Oxygen-ozone chemonucleolysis for herniated disc with sciatica. A comparison of treatments in patients with subacute and chronic symptoms. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia* 2006 5:33-6.
- 74- Leonardi M, Andreula C, Simonetti L. Percutaneous techniques for treating disc disease. *Functional Neurology* 2003 18:242-4.
- 75- Leonardi M, Barbara C, Agati R, Simonetti L, Giatti S. Trattamento percutaneo dell'ernia discale lombare con iniezione intradiscale di miscela di ozono. *Rivista di Neuroradiologia* 2001 14(Suppl. 1):51-3.
- 76- Leonardi M, Simonetti L, Barbara C: The effects of the ozone on the nucleous pulposus: pathological data on one surgical specimen. *Rivista di Neuroradiologia* 2001 14:57-61.

- 77- Leonardi M, Simonetti L, Raffi L, Cenni P, Barbara C. Mini-invasive treatment of herniated disc by oxygen-ozone injection. *Interventional Neuroradiology* 2003 9(Suppl.2):75
- 78- Leonardi M., Simonetti L., Barbara C. Effetti dell'ozono sul nucleo polposo: reperti anatomico-patologici su un caso operato. *Rivista di Neuroradiologia* 2001 14(Suppl.1):57-9.
- 79- Muto M, Andreula C, Leonardi M. Treatment of herniated lumbar disc by intradiscal and intraforaminal oxygen-ozone (O₂-O₃) injection. *Journal de Neuroradiologie* 2004 31:183-9.
- 80- Pellicanò F. et al. The Italian Oxygen-Ozone Therapy Federation (FIO) study on oxygen-ozone treatment of herniated disc. *International Journal of Ozone Therapy* 2007 6:7-15.
- 81- Rahimi-Movaghar V, Eslami V. The major efficient mechanisms of ozone therapy are obtained in intradiscal procedures. *Pain Physician*. 2012 Nov-Dec;15(6)
- 82- Bonetti M, Intraforaminal O₂-O₃ versus periradicular steroidal infiltrations in lower back pain: randomized controlled study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2005 May;26(5):996-1000
- 83- Alexandre A Intradiscal injection of oxygen-ozone gas mixture for the treatment of cervical disc herniations. *Acta Neurochir Suppl*. 2005;92:79-8
- 84- Dähnhardt JE Treating sensitive cervical areas with ozone. A prospective controlled clinical trial. *Am J Dent*. 2008 Apr;21(2):74-6.
- 85- Oder B. CT-guided ozone/steroid therapy for the treatment of degenerative spinal disease--effect of age, gender, disc pathology and multi-segmental changes. *Neuroradiology*. 2008 Sep;50(9):777-85
- 86- Dall'Olio M, et al. . Oxygen-Ozone Therapy for Herniated Lumbar Disc in Patients with Subacute Partial Motor Weakness Due to Nerve Root Compression *Interventional Neuroradiology* 20: 547-554, 2014.
- 87- Splendiani A, et al. MR assessment of lumbar disk herniation treated with oxygen-ozone diskolysis: the role of DWI and related ADC versus intervertebral disk volumetric analysis for detecting treatment response. *Neuroradiol J*. 2013 Jun;26(3):347-56.
- 88- Steppan J, Meaders T, Muto M, Murphy KJ. A metaanalysis of the effectiveness and safety of ozone treatments for herniated lumbar discs. *J Vasc Interv Radiol*. 2010 Apr;21(4):534-48.
- 89- Zhang Y, Ma Y, Jiang J, Ding T, Wang J. Treatment of the lumbar disc herniation with intradiscal and intraforaminal injection of oxygen-ozone. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2013;26(3):317-22.
- 90- Apuzzo D, An observational retrospective/horizontal study to compare oxygen-ozone therapy and/or global postural re-education in complicated chronic low back pain. *Funct Neurol*. 2014 Jan-Mar;29(1):31-9.
- 91- Bocci V. et al. The usefulness of ozone treatment in spinal pain. *Drug Des Devel Ther*. 2015; 9: 2677–2685.
- 92- Martinez-Sanchez G et al. Therapeutic efficacy of ozone medical treatments in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol* 2005;523: 151e161
- 93- Gulmen S, et al. Ozone therapy as an adjunct to vancomycin enhances bacterial elimination in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* mediastinitis. *J Surg Res*. 2013;185:64–69.
- 94- Ragab A, et al. Randomised, double-blinded, placebo-controlled, clinical trial of ozone therapy as treatment of sudden sensorineural hearing loss. *J Laryngol Otol*. 2009;123:54–60.
- 95- Bonforte G, et al. Ozone therapy: a potential adjunct approach to lower urinary tract infection? A case series report. *G Ital Nefrol*. 2013;30:gin/30.34.16.
- 96- Johansson E et al. Antibacterial effect of ozone on cariogenic bacterial species. *J Dent*. 2009;37:449–53.

- 97- Bocci V, et al. Diabetes and chronic oxidative stress. A perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Diabetes Metab Syndr*. 2011;5:45–49.
- 98- Romero Valdés A, et al. Ozone therapy in the advanced stages of arteriosclerosis obliterans. *Angiologia*. 1993;45:146–148
- 99- Vinnik IuS . The results of combined ozone therapy using in complex treatment of soft tissues infections in patients with diabetes mellitus type II]. *Khirurgiia (Mosk)*. 2015;(2):63-9. Russian.
- 100- Abyshov NS,[Prolonged epidural analgesia and ozonated autohemotherapy in complex surgical treatment at patients with thromboangiitis obliterans and critical limb ischemia]. *Khirurgiia (Mosk)*. 2014;(7):82-8
- 101- Foglieni C, Ozonated autohemotherapy: protection of kidneys from ischemia in rats subjected to unilateral nephrectomy. *BMC Nephrol*. 2011 Nov 14;12:61
- 102- Di Paolo N et al. Necrotizing fasciitis successfully treated with extracorporeal blood oxygenation and ozonization (EBOO) in man. *Int. J. Artif Organs* 23:131-141 (2005)
- 103- Chang JD, et al. Ameliorative effect of ozone on cytokine production in mice injected with human rheumatoid arthritis synovial fibroblast cells. *Rheumatol Int*. 2005;26:142–151
- 104- Bell ML, et al. A meta-analysis of time-series studies of ozone and mortality with comparison to the National Morbidity, Mortality, and Air Pollution Study. *Epidemiology*. 2005;16(4):436–445.
- 105- D’Ambrosio C. M. Trattamento delle malattie infiammatorie croniche dell’intestino mediante ossigeno-ozonoterapia, *Riv. Ital. Ossigeno Ozonoterapia* 1:155-158 (2002)
- 106- Elvis A. M et al. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med*. 2011 Jan-Jun; 2(1): 66–70.
- 107- Kal A, et al. The protective effect of prophylactic ozone administration against retinal ischemia-reperfusion injury. *Cutan Ocul Toxicol*. 2017;36:39–47.
- 108- Beeh KM, et al. Bimosiamose, an inhaled small-molecule pan-selectin antagonist, attenuates late asthmatic reactions following allergen challenge in mild asthmatics: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical cross-over-trial. *Pulm Pharmacol Ther*. 2006;19:233–41.
- 109- Lintas G et al. Long-term cerebrovascular reactivity mediated by ozone autohemotherapy: a NIRSS study. *GNB* 2012, June 26th-29th 2012, Rome, Italy
- 110- Di Filippo C, et al. Daily Oxygen/O₃ Treatment Reduces Muscular Fatigue and Improves Cardiac Performance in Rats Subjected to Prolonged High Intensity Physical Exercise. *Oxid Med Cell Longev*. 2015; 2015: 190640.
- 111- Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Implications for the therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases. *Medical Hypotheses*. 1996;46(2):150–154.
- 112- Bell M. L., et al. Who is More Affected by Ozone Pollution? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Epidemiol*. 2014 Jul 1; 180(1): 15–28.
- 113- Szyszkowicz M, et al. Ambient ozone and emergency department visits for cellulitis. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;7(11):4078–4088.
- 114- Sönmez O The evaluation of ozone and betahistine in the treatment of tinnitus. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2013 Jul;270(7):1999-2006
- 115- Taşdemir Z, The Effects of Ozone Therapy on the Early Healing Period of De-epithelialized Gingival Grafts: A Randomized Placebo-controlled Clinical Trial. *J Periodontol*. 2016 Jan 16:1-17

- 116- Clavo B, Ozone Therapy in the Management of Persistent Radiation-Induced Rectal Bleeding in Prostate Cancer Patients. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:480369
- 117- Vanni D. Intraforaminal ozone therapy and particular side effects: preliminary results and early warning. *Acta Neurochir (Wien).* 2016 Mar;158(3):491-6
- 118- Doğan M, Effects of high-frequency bio-oxidative ozone therapy in temporomandibular disorder-related pain. *Med Princ Pract.* 2014;23(6):507-10.
- 119- Kazancioglu HO Effects of ozone therapy on pain, swelling, and trismus following third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2014 May;43(5):644-8
- 120- Patel PV. Evaluation of ozonated olive oil with or without adjunctive application of calcium sodium phosphosilicate on post-surgical root dentin hypersensitivity: a randomized, double-blinded, controlled, clinical trial. *Minerva Stomatol.* 2013 May;62(5):147-61
- 121- Kazancioglu HO Comparison of the influence of ozone and laser therapies on pain, swelling, and trismus following impacted third-molar surgery. *Lasers Med Sci.* 2014 Jul;29(4):1313-9
- 122- Clavo B, Brain ischemia and hypometabolism treated by ozone therapy. *Forsch Komplementmed.* 2011;18(5):283-7
- 123- Fuccio C, A single subcutaneous injection of ozone prevents allodynia and decreases the over-expression of pro-inflammatory caspases in the orbito-frontal cortex of neuropathic mice. *Eur J Pharmacol.* 2009 Jan 28;603(1-3):42-9
- 124- Azarpazhooh A, Evaluating the effect of an ozone delivery system on the reversal of dentin hypersensitivity: a randomized, double-blinded clinical trial. *J Endod.* 2009 Jan;35(1):1-9
- 125- Rickard GD, Ozone therapy for the treatment of dental caries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(3):CD004153.
- 126- Białoszewski D. The use of the intraoperative ozone - therapy as prophylaxis of infections in surgery of locomotor system with special regard to total hip plasty - a preliminary study. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2003 Dec 30;5(6):781-6
- 127- Hidalgo-Tallon et al. Ozone therapy as add-on treatment in fibromyalgia management by rectal insufflation: an open-label pilot study. *J Altern Complement Med.* 2013 Mar;19(3):238-42. doi: 10.1089/acm.2011.0739. Epub 2012 Oct 9.
- 128- Chernyshev AL, et al. Combined treatment including ozonotherapy of patients with viral hepatitis. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2008 May-Jun;(3):19-22
- 129- Vaughn JM, et al. Effects of ozone treatment on the infectivity of hepatitis A virus. *Can J Microbiol.* 1990 Aug;36(8):557-60.
- 130- Aslan MK et al. Protective effect of intraperitoneal ozone application in experimental ovarian ischemia/reperfusion injury. *J Pediatr Surg.* 2012 Sep;47(9):1730-4.
- 131- Muzi, F., and Tati, G. Oxygen-Ozone Autohaemotherapy and Intravescical Oxygen-Ozone Insufflations in Treatment of Recurrent and Interstitial Cystitis: Preliminary Results. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5 (2017) 512-4 doi:10.17265/2328-2150/2017.08.004
- 132- Hussain S et al. Intraprostatic ozone therapy: A minimally invasive approach in benign prostatic hyperplasia. *Urol Ann.* 2017 Jan-Mar;9(1):37-40. doi: 10.4103/0974-7796.198843.

- 133 -Valacchi G. Fortino V. Bocci V. The dual action of ozone on the skin *British J. of Dermatology* Vol. 153 Issue 6 dec 2005: 1096-1100
- 134- Giombini A et al. Comparison between intrarticular injection of hyaluronic acid, oxygen ozone, and the combination of both in the treatment of knee osteoarthritis. *J Biol Regul Homeost Agent*. 2016 Apr-Jun; 30(2):621-5
- 135- Lopes de Jesus CC et al. Comparison between intra-articular ozone and placebo in the treatment of knee osteoarthritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *PLoS One*. 2017 Jul 24;12(7):e0179185. doi: 10.1371/journal.pone.0179185. eCollection 2017
- 136- Martinelli M et al. Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology. *J Prev Med Hyg*. 2017 Mar;58(1):E48-E52
- 137 - Cannizzaro A. et al. O₂O₃ Exposure inhibits cell progression affecting cyclin B1/cdk1 activity in SK-N-SK while induced apoptosis in SK-N-DZ neuronal stoma cells. *JCP* 9999:1-11,2007
- 138 - Amendola D. et al. Ozone treatment does not induced toxicity in human NIH3T3 fibroblast cells. *Int J Ozone therapy* 7:1318,2008
- 139 - Kuroda K et al. The safety and anti-tumor effect of ozonated water in vivo. *Int J Mol Sci*. 16,25108-25120,2015

