

Comparison of autologous serum with a commercial product as an adjunct in the treatment of uncomplicated corneal ulceration in dogs[□]

Comparación de suero autólogo con un producto comercial como complemento en el tratamiento de úlceras corneales no complicadas en caninos

Comparaçãõ de soro autólogo com um produto comercial, como adjuvante no tratamento de úlcera de córnea não complicada em cães

José F Ortiz^{1,2*}, MV, Esp; Sandra P Acevedo², MV, Esp, cMSc; Luis F Restrepo B², Esp.

¹Grupo de Investigación GIVET, Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias, Corporación Universitaria Lasallista, AA 50130, Caldas, Antioquia, Colombia; ²Grupo de investigación CENTAURO, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

(Recibido: 19 abril, 2010; aceptado: 15 septiembre, 2011)

Summary

Corneal ulcers are among the most common presentations of ocular ailments in dogs. **Objective:** this study compares the efficacy of a commercial ointment based on vitamin A, E and hydrolyzed casein, with the use of autologous serum eyedrops in the re-epithelialization of uncomplicated corneal ulcers. **Methods:** forty-one dogs with superficial corneal ulcers, and otherwise healthy, were enrolled in the study and randomly allocated into two groups. They all received standard therapy based on antimicrobial eye drops of ciprofloxacin and use of an Elizabethan collar. With prior owner consent, blood samples were taken from group A, allowed clotting, and serum separated and stored in sterile containers for use topically on the affected eye. In addition to the standard therapy, patients received either 2 drops of autologous serum (group A) or 1 cc of the re-epithelializing ointment (group B) every hours 6 hours, and 10 minutes following the antimicrobial drops. Healing was monitored by measuring the wound size with calipers on days 3 and 7 of the follow-up, and a Mann-Whitney test was used to compare both groups (SAS, version 9.1). **Results:** no significant differences were observed between groups in the re-epithelialization process. On day 3, the reduction of the disepithelialized area was 1.47 ± 1.42 and 1.26 ± 0.99 mm for groups A and B, respectively. By day 7, the average decrease was 0.94 ± 0.77 and 1.42 ± 1.21 mm for groups A and B, respectively. **Conclusion:** autologous serum was as effective as a commercial re-epithelializing ointment to treat uncomplicated corneal ulcer in dogs.

Key words: dog, ophthalmology, serum autologous, corneal ulcer.

□ Para citar este artículo: Ortiz JF, Acevedo SP, Restrepo LF. Comparación de suero autólogo con un producto comercial como complemento en el tratamiento de úlceras corneales no complicadas en caninos. Rev Colomb Cienc Pecu 2012; 25:90-96.

* Autor para correspondencia: José F Ortiz. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia. E-mail: cvgenesis1@yahoo.com.ar.

Resumen

Las afecciones del globo ocular son frecuentes en pequeños animales, siendo la úlcera corneal una de las presentaciones más comunes. **Objetivo:** en este trabajo se comparó la eficacia del suero autólogo frente a un ungüento oftálmico a base de vitaminas A, E y caseína hidrolizada, en el tiempo de reepitelización de úlceras no complicadas en caninos. **Métodos:** para el estudio se formaron dos grupos aleatorios de 21 pacientes cada uno, que presentaban úlceras superficiales en grado I y II. Previo consentimiento del propietario, al grupo A se extrajo sangre para obtención del suero que posteriormente se aplicaría en forma de gotas tópicas en el ojo afectado. Ambos grupos recibieron terapia estándar antimicrobiana en forma de gotas de ciprofloxacina y uso de collar isabelino. A los 10 minutos de instalar el antimicrobiano, se hicieron aplicaciones tópicas cada 6 horas, de 2 gotas de suero autólogo (grupo A) o de 1 cc del ungüento reepitelizante (grupo B). La respuesta se evaluó mediante dos mediciones del tamaño de la úlcera a los 3 y 7 días de iniciar el tratamiento. Como método estadístico se empleó el contraste de Mann-Whitney con base en un 95% de confiabilidad para las variables de disminución de la úlcera corneal y el tiempo de curación (SAS versión 9.1). **Resultados:** no hubo diferencias significativas al día 3 con respecto a la disminución del tamaño de la úlcera corneal, que fue de 1.47 ± 1.42 mm y 1.26 ± 0.99 mm para los grupos A y B, respectivamente. Al día 7, la media de disminución fue de 0.94 ± 0.77 mm para el grupo A, y de 1.42 ± 1.21 mm para el B, sin haber diferencias estadísticas. **Conclusión:** los resultados permiten concluir que el suero autólogo es igual de efectivo que el ungüento comercial epitelizante como complemento en el tratamiento de la úlcera corneal no complicada en caninos.

Palabras clave: oftalmología, perros, suero autólogo, úlcera corneal.

Resumo

As afecções dos olhos são comuns na prática de pequenos animais, das quais a úlcera de córnea é uma das apresentações mais comuns. A pesquisa consistiu em comparar um produto comercial com o soro autólogo como coadjuvante no tratamento de úlcera de córnea, e determinar após a pesquisa qual seria o tratamento mais adequado. Além disto, esperava-se determinar qual tratamento permitia reduzir mais o tamanho das úlceras de córnea não complicada em cães. **Métodos:** formaram-se dois grupos de 21 indivíduos cada um; o grupo A recebeu antibiótico tópico mais soro autólogo, e o B recebeu o mesmo antibiótico mais a preparação comercial (epitelizante). A resposta ao tratamento foi avaliada através de duas medidas do tamanho da úlcera. O método estatístico utilizado foi o teste de Mann-Whitney, com uma confiabilidade de 95% para as variáveis de redução da úlcera de córnea e de tempo. Para a análise dos dados foi empregado o software SAS versão 9.1. **Resultados:** a média no dia 3 do tratamento para reduzir o tamanho médio de uma úlcera de córnea foi de 1.47 ± 1.42 mm para o tratamento A e 1.26 ± 0.99 mm para o B, não se encontrou diferença estatística entre os tratamentos ($p > 0.05$); no dia 7 a redução média no tratamento A foi de 0.94 ± 0.77 mm e 1.42 ± 1.21 mm para o B, neste caso, também não houve diferença estatística entre os tratamentos ($p > 0.05$). Em nenhuma das amostras cultivadas encontrou-se contaminação microbiana. **Conclusão:** nós concluímos que o soro autólogo é tão eficaz quanto o produto comercial epitelizante como adjuvante no tratamento de úlcera de córnea não complicada em cães. Também foi observado que a preparação do soro autólogo pode ser utilizada por um período máximo de sete dias sob refrigeração sem ter problemas de contaminação microbiológica.

Palavras chave: cães, oftalmologia, soro autólogo, úlceras de córnea.

Introducción

La córnea es una estructura con dos propiedades que la diferencian de los demás tejidos del organismo: transparencia y avascularidad (Gelatt, 2003; Herrera, 2007; Hartley, 2006) y por esto cuando se afecta puede sufrir graves daños y cambios en su conformación que pueden afectar

la capacidad visual del animal (Herrera, 2007). Dentro de las lesiones oculares más frecuentes en los pequeños animales esta la úlcera corneal, esta se caracteriza por involucrar el epitelio corneal en todo su espesor y con mayor o menor grado al estrato estromal (Betech, 2007; Gelatt, 2003; López y García, 2007).

Las úlceras corneales se pueden clasificar así (Tabla 1):

Tabla 1. Clasificación de las úlceras corneales.

Tiempo de Evolución	
Clasificación	Características
Simple	Cicatrización sin problemas en un periodo normal (8 días).
Complicada	Cursa con retraso de la cicatrización relacionada con infecciones u otros procesos.
Progresiva	El área afectada crece o se profundiza (Gelatt, 2003; Slatter', 2008).
La presentación clínica	
Grado I	Lesión de contornos redondeados, bordes edematosos, ausencia o escaso infiltrado estromal, dolor leve en proporción al defecto.
Grado II	Dolor ocular, enrojecimiento del ojo, fotofobia.
Grado III	Episcleritis severa, opacidad corneal y neovascularización severa, fotofobia moderada, ardor, picazón y secreción ocular, epifora marcada u ojos llorosos (Gelatt, 2003; Slatter', 2008).

El diagnóstico se realiza por la prueba de fluoresceína, colorante que tiñe el estroma corneal expuesto. La úlcera corneal se puede tratar medicamente o en el caso de úlceras complicadas, su tratamiento puede ser quirúrgico; el tratamiento médico utiliza antibióticos tópicos para evitar la contaminación de la herida. Para favorecer la cicatrización se usan factores epitelizantes: ácido hialurónico, condroitín sulfato, suero autólogo, caseína hidrolizada con vitaminas A y E (Kirschner, 1990; Ledbetter y Riis, 2006; Shigeto, 2003). En veterinaria hay muy pocos estudios clínicos sobre la utilización de suero autólogo para tratar problemas oculares, (Kirschner, 1990) el suero autólogo presenta unas propiedades mecánicas y bioquímicas similares a las de la lágrima, y al igual que esta, contiene componentes como la fibronectina, vitamina A y factores de crecimiento que tienen un efecto epiteliotrófico sobre las células epiteliales de la superficie ocular (Herrera, 2007; Kirschner, 1990; Robert, 2007).

Son pocos los trabajos que se han realizado sobre este tema en caninos, por eso se llevó a cabo este estudio con el objetivo de comparar el suero autólogo y un preparado comercial como complemento del tratamiento del úlcera corneal no complicada en caninos y determinar cuál de los dos preparados contribuyen a disminuir

más rápidamente el tamaño del defecto corneal; otro objetivo es poder precisar cuál de los dos tratamientos puede resultar más económico en el tratamiento de dicho problema.

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Se seleccionarán 42 pacientes que cumplieran con las siguientes características:

1. Perros con úlcera corneal superficial con clasificación clínica grado I y II (Gelatt, 2003; Slatter, 2008).
2. Al momento de la consulta no debían haber recibido ningún tipo de tratamiento previo sobre la patología
3. El tiempo desde el inicio de la úlcera hasta que fue llevado a consulta no debía ser mayor a 7 días.
4. El rango de edad de los pacientes que ingresaron debía ser entre 2-5 años. Se excluyeron del estudio los pacientes de razas braquiocefálicas ya que por el exoftalmos intrínseco que presentan, están predispuestos a un periodo de cicatrización más largo y los ejemplares que no cumplieran las características anteriormente enunciadas.

Tratamiento

Los pacientes se dividieron, aleatoriamente en dos grupos de 21 individuos cada uno, a los cuales se les aplicó el siguiente tratamiento:

Grupo A:

1. Antibiótico tópico (ciprofloxacina al 3%), de este se aplicaron dos gotas en el ojo afectado cada 4 horas.
2. Suero autólogo, se aplicaron dos gotas en el ojo afectado cada 6 horas

Grupo B:

1. Antibiótico tópico (ciprofloxacina al 3%) en la misma forma que en el tratamiento A.

2. Producto epitelizante comercial (vitamina A palmitato 1g, vitamina E acetato 0.1 g caseína hidrolizada 2.5 g), se aplicó 1 centímetro cúbico (cc) cada 6 horas en el ojo afectado.

El epitelizante y el suero autólogo, fueron aplicados 10 minutos después del antibiótico, el tratamiento se administró por lo propietarios con las indicaciones de los investigadores, en ambos grupos se utilizó el collar isabelino para impedir autolesiones del globo ocular.

La muestra de sangre de donde se obtuvo el suero autólogo se recolectó por venopunción yugular o cefálica, dependiendo del tamaño del animal y se procesó según el método utilizado por García y Veiga (2003), en nuestro caso se modificó al no utilizar cámara de flujo laminar para la manipulación de la muestra y empaquetado del suero. Luego de procesar la muestra se refrigeró a 4 °C empacada en frascos goteros de 2 ml de capacidad, esterilizados Algunos estudios han demostrado que la conservación de las muestras obtenidas a estas temperaturas previenen la pérdida de algunos de sus componentes como son los factores de crecimiento (Geerling *et al.*, 2004).

Los dueños de los pacientes seleccionados fueron informados sobre el objetivo del estudio y se les pidió que firmaran un consentimiento escrito. Los propietarios fueron instruidos sobre el manejo, conservación y manipulación de las sustancias utilizadas, se les entregó, según fuera el caso, el producto comercial necesario para todo el tratamiento o el frasco gotero con el suero autólogo, el cual debía permanecer bajo refrigeración. A los pacientes se les realizaron dos seguimientos, a los 3 y 7 días luego de iniciado el tratamiento, para medir el tamaño de la úlcera. Esto se realizó midiendo el defecto con un instrumento graduado en milímetros, para facilitar la toma de las medidas.

Por último, como medida sanitaria se realizaron cultivos bacteriológicos de cinco muestras de los sueros autólogos escogidos aleatoriamente entre el grupo de pacientes que recibieron dicho tratamiento y de una muestra control, las muestras

de suero se cultivaron el último día del seguimiento en agar sangre o Mackonkkey dependiendo de la disponibilidad de los medios de cultivo en el laboratorio y se incubaron a 37 °C con 5% de CO₂. La lectura se realizó a las 12, 24 y 48 horas luego de la siembra, para la evaluación micológica se utilizó agar Saubeoroud, se incubó a 37 °C y se leyeron los resultados a los 5 días (García y Veiga 2003).

Análisis estadístico

Se probó un diseño de clasificación experimental complementario aleatorizado con efecto fijo balanceado, convalidándose las supuestas adscritas con los modelos de clasificación experimental. Contrastado el efecto promedio por medio de la técnica Tukey con base en un error tipo 1 del 5%, al no convalidarse los supuestos estadísticos se utilizó la prueba no paramétrica de mann whitney con base en un nivel de confiabilidad del 95%, complementando el análisis a través de la estadística descriptiva de tipo unidimensional cuyo objetivo fue establecer la media, desviación estándar y el coeficiente de variación por fecha y tratamiento; se empleó el paquete estadístico S.A.S versión 9.1, para realizar el análisis se utilizó en primera instancia el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \bar{\tau}_i + \epsilon_j(i)$$

Y_{ij} : variable respuesta asociada con la medición del tamaño de la úlcera corneal expresada en milímetros.

μ : efecto promedio.

$\bar{\tau}_i$: efecto del i – ésimo tratamiento

$\epsilon_j(i)$: error experimental.

Resultados

La reducción en milímetros de la úlcera corneal en el día 3 con el tratamiento A fue de 1.47 ± 1.42 mm, y 1.26 ± 78.46 mm con el tratamiento B, no se encontró diferencia estadística ($p > 0.05$); al día 7 fue de 0.94 ± 0.77 mm para el tratamiento A y de 1.42 ± 1.21 mm para el B, tampoco se encontró diferencia estadística ($p > 0.05$) (Tabla 2 y Figura 1).

Tabla 2. Disminución promedio en milímetros del tamaño de la úlcera corneal al día 3 y 7 de iniciados los tratamientos.

Día	Tratamiento A		Tratamiento B	
	$\bar{x} \pm \text{Std}$	CV	$\bar{x} \pm \text{Std}$	CV
3	1.47 ± 1.42 ^a	96.94	1.26 ± 0.99 ^a	78.46
7	0.94 ± 0.77 ^a	82.31	1.42 ± 1.21 ^a	85.59

\bar{X} : media aritmética, Std: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, a= no hay diferencia estadística ($p > 0.05$)



Figura 2. Disminución promedio en milímetros del tamaño de la úlcera corneal en los días 3 y 7. La barra azul representa el promedio de milímetro de reducción del tamaño de la lesión corneal luego de instaurado el tratamiento A, la barra roja es el promedio de milímetros reducidos con el tratamiento B.

La reducción en milímetros de la úlcera corneal en el resultado global con el tratamiento A fue de 2.41 ± 2.19 mm, y 2.68 ± 2.20 mm con el tratamiento B, no se encontró diferencia estadística ($p > 0.05$); (Tabla 3 y Figura 3).

Tabla 3. Disminución global del promedio en milímetros del tamaño de la lesión corneal con los tratamientos A y B.

Tratamiento A		Tratamiento B	
$\bar{x} \pm \text{Std}$	CV	$\bar{x} \pm \text{Std}$	CV
2.41 ± 2.19 ^a	89.62	2.68 ± 2.2 ^a	82.02



Figura 3. Disminución total en milímetros del tamaño de la úlcera corneal. La barra azul representa el promedio de milímetro de reducción del tamaño de la lesión, luego de instaurado el tratamiento A, la barra roja es el promedio de milímetros reducidos con el tratamiento B.

No se encontró contaminación microbiológica de las seis muestras de sueros autólogos cultivadas.

Discusión

En el tratamiento de la úlcera corneal se utiliza antibiótico y algunas sustancias como las vitaminas y los factores de crecimiento que ayudan a disminuir el tiempo de cicatrización y evitar la complicación del proceso cicatrizal (Slatte'r, 2008); en la oftalmología humana se han visto los beneficios de la utilización del suero autólogo en el manejo de diferentes patologías del globo ocular, como síndrome de Sjögren, la queratoconjuntivitis seca y otras. Adicionalmente se han encontrado problemas relacionados con la contaminación microbiológica del mismo suero, lo que ha generado serias dificultades con la utilización del mismo (López y García 2007; Quinto *et al.*, 2008). Se han realizado varios estudios en los cuales se ha utilizado suero autólogo como único tratamiento y como parte del tratamiento convencional de varios problemas oculares en humanos (Noble, 2004); en veterinaria no hay muchos estudios sobre la utilización de suero autólogo en el manejo de problemas oculares (Kirschner, 1990; Ledbetter *et al.*, 2008).

En el suero autólogo se encuentran diferentes sustancias como los factores de crecimiento epidermal (EGF) vitamina A, fibronectina, albúmina y factores de crecimiento derivados de plaquetas; su acción incluye efectos mitogénicos y quimiotácticos sobre fibroblastos y estimulación de la síntesis de moléculas de matriz como colágeno, ácido hialurónico, fibronectina y proteoglicanos (Barbeito, 2005; Quinto *et al.*, 2008). Se ha encontrado que el suero autólogo es similar a la película lagrimal en cuanto al pH, osmolaridad y acción antibacteriana (Quinto *et al.*, 2008; Koffler, 2006), muchas de estas sustancias ayudan al proceso de remodelación de las fibras colágenas, para el mejoramiento del proceso cicatrizal (Kuszak, 2006; Koffler, 2006).

En el presente estudio no se observó diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) al comparar el suero autólogo y un producto comercial como complementos en el tratamiento de úlcera corneales no complicadas. En el resultado global se pudo observar una mínima diferencia en la disminución del tamaño del defecto corneal luego de la implementación de ambos tratamientos, y aunque

estadísticamente esta diferencia no fue significativa, el suero autólogo puede ser una alternativa para complementar el tratamiento de la úlcera corneal no complicada en perros.

En conclusión se pudo lograr uno de los objetivos propuestos para este estudio al evaluar la funcionalidad del suero autólogo como complemento en la terapia de la úlcera corneal no complicada en perros, además desde la parte del costo del tratamiento, la opción del suero autólogo es más económica que los productos epitelizantes que hay en el mercado. Geerling *et al.* (2004) analizaron diferentes factores que podían influir en la utilización de suero autólogo, uno de los factores mencionados era el costo económico, en su estudio se comentó que en año 2003 el costo del procesamiento de una muestra de sangre para obtener suero autólogo oscilaba entre 2.27 y 4.61 euros, este costo era alto por la utilización de personal especializado, laboratorios con cámaras de flujo laminar y la implementación de pruebas serológicas para diagnosticar VIH, hepatitis y otras enfermedades que se pueden transmitir en los seres humanos por la utilización del suero. En nuestro estudio el costo estimado de la preparación de 2 ml del suero pudo variar entre 5 y 7 mil pesos que es inferior al costo de muchos medicamentos oftalmológicos del mercado.

Aunque no se obtuvo diferencia estadística significativa ($p > 0.05$), es preciso continuar con la realización de otros estudios, para observar el comportamiento del suero autólogo en pacientes caninos con otras patologías oculares, como son las úlceras indolentes que se presentan en perros braquiocefálicos, y mascotas con problemas de queratitis seca; teniendo en cuenta esto último hay reportes en humanos que demuestran la disminución en la utilización de la ciclosporina cuando también se utiliza suero autólogo en pacientes con esta misma enfermedad (Gaytan *et al.*, 2005).

La contaminación microbiana del suero autólogo es uno de los factores que ha provocado la disminución de su utilización en oftalmología humana (García *et al.*, 2003), en este estudio no se encontró contaminación microbiana en las muestras analizadas, esto se puede deberse a los cuidados tenidos en la recolección y procesamiento de la

muestra, además de la conservación y manejo del suero por parte de los dueños de las mascotas.

De este estudio se concluyó que el suero autólogo es igual de efectivo que un producto epitelizante del mercado como complemento en el tratamiento de la úlcera corneal no complicada en caninos, también se encontró que la utilización de dicho suero es segura si se maneja la muestra bajo un protocolo que incluya un correcto procesamiento de la muestra de sangre y una delicada manipulación y almacenaje del suero a una temperatura adecuada.

Agradecimientos

A los consultorios veterinarios de la ciudad de Medellín por su colaboración en la obtención de los pacientes y en especial a los dueños de las mascotas que permitieron que sus ejemplares hicieran parte del estudio, a los laboratorios clínico y microbiológico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia por su apoyo en el procesamiento de las muestras.

Referencias

- Barbeito CG, Laube A. Los factores de crecimiento. Aspectos básicos y potencialidades terapéuticas. *Analecta Vet* 2005; 25:8-27.
- Betech M, Baca O. Hallazgos histopatológicos de la neovascularización corneal en correlación con la fluorangiografía corneal. *Rev Mex Oftalmol* 2007; 81:164-170.
- García B, Veiga A. Elaboración, utilización y evaluación de colirio con suero autólogo en las lesiones corneales. *FARM Hosp.* (Madrid) 2003; 27:21-25.
- Gaytan JA, Baca O, Velasco R, Viggiano D. Comparación entre suero autólogo, clorhidrato de olopatadina y fumarato de ketotifeno, en el manejo de la conjuntivitis alérgica. *Rev Mex Oftalmol* 2005; 79:1:25-31.
- Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004; 88:1467-1474.
- Gelatt K. Fundamentos de Oftalmología Veterinaria. Barcelona; MASSON; 2003:124-135.
- Hartley C, Williams DL, Adams VJ. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. *Vet Ophthalmol* 2006; 9:53-57.
- Herrera D. Oftalmología Clínica en Animales de Compañía. Buenos Aires: Intermédica; 2007:56-75.

- Kirschner SE. Persistent corneal ulcers. What to do when ulcers won't heal. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1990; 20:627-642.
- Koffler BH. Autologous serum therapy of the ocular surface with novel delivery by platelet concentrate gel. *Ocul Surf* 2006; 4:188-95.
- Kuszak JR, Mazurkiewicz M, Jison L. Quantitative analysis of animal model lens anatomy: accommodative range is related to fiber structure and organization. *Vet Ophthalmol* 2006; 9:266-280.
- Ledbetter EC, Munger RJ, Ring RD, Scarlett JM. Efficacy of two chondroitin sulfate ophthalmic solutions in the therapy of spontaneous chronic corneal epithelial defects and ulcerative keratitis associated with bullous keratopathy in dogs. *Vet Ophthalmol* 2006; 9:77-87.
- Ledbetter EC, Riis RC, Kern TJ. Corneal ulceration associated with naturally occurring canine herpesvirus-1 infection in two adult dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 229:3:376-384.
- López JS, García I. Aplicaciones del suero autólogo en oftalmología. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2007; 82:9-20.
- Noble BA, Loh K, MacLennan S, Pesudovs K. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomized controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 2004; 88:5:647-52.
- Quinto G, Campos M, Behrens A. Autologous serum for ocular surface diseases. *Arq Bras Ophthalmol* 2008; 71:34-36.
- Robert L, Peiffer JR. *Oftalmología de Pequeños Animales*. 3° ed. España: Harcourt 2002: 110-126.
- Shigeto S, Rie I. Lecithin-boud superoxide dismutase in the treatment on noninfectious corneal ulcers. *Am J Ophthalmol* 2003; 135:613-619.
- Slatter'r. *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4° ed. China: Elsevier Saunders 2008: 86-97.