



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EXTRACCIÓN Y APLICACIÓN DE ACEITE ESENCIAL
DE *Thymus vulgaris* (TOMILLO), EN EL MANEJO
MÉDICO RUTINARIO DE LESIONES BACTERIANAS
EN REPTILES DEL HERPETARIO DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS, UNAM.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

CARLOS FEDERICO MONTALVO GONZÁLEZ

ASESORES:

MVZ PhD. Roberto Arnulfo Cervantes Olivares

Mvz esp. Enedina Silva Cabrera

Bióloga Mónica Salmerón Estrada.





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVOS e HIPÓTESIS.....	8
MATERIAL Y MÉTODOS	
1) Obtención del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> ...	9
2) Casos clínicos.....	9
3) Desarrollo de los fitofármacos.....	11
4) Análisis bacteriológicos de muestras clínicas.....	12
5) Sistematización de datos.....	12
RESULTADOS	
1) Aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>	14
2) Casos clínicos.....	15
3) Desarrollo de los fitofármacos.....	15
4) Análisis bacteriológico de muestras clínicas.....	16
5) Sistematización de datos.....	31
DISCUSIÓN	
1) Aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>	33
2) Casos clínicos.....	33
3) Fitofármacos.....	34
4) Análisis bacteriológico de muestras clínicas.....	34
5) Sistematización de datos.....	35
CONCLUSIÓN.....	36
REFERENCIAS.....	37
IMÁGENES.....	41
GRÁFICAS.....	65
CUADROS.....	69
ANEXO.....	73

**EXTRACCIÓN Y APLICACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE
Thymus vulgaris (TOMILLO), EN EL MANEJO MÉDICO
RUTINARIO DE LESIONES BACTERIANAS EN
REPTILES DEL HERPETARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS,
UNAM**

Asesores:

MVZ. PhD Roberto Arnulfo Cervantes Olivares.
MVZ. esp. Enedina Silva Cabrera.
Bióloga Mónica Salmerón Estrada.

Carlos Federico Montalvo González

México D.F.

2010

(I)

Dedicatoria:

Principalmente a mi hijo hermoso Tlahui Izcalli, ya que es él el motivo más precioso para seguir siempre adelante en todos los avatares que el destino ofrece.

A mi madre, QFB Eva Hilda González López, por todo su apoyo personal y científico, ya que sin ella esto no hubiera sido posible, a ella le debo ahora la calidad humana y profesional que he adquirido, gracias madre

A mi hermano José Angel y familia, porque siempre estuvo ahí cuando de su apoyo precisé.

A todas y todos aquellos que han defendido la educación pública y gratuita, gracias.

Agradecimientos

Al Doctor José Manuel Jiménez, jefe del Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Química, UNAM, por su invaluable colaboración, estímulo y dedicación para este estudio, ojalá existieran más científicos como él avocados al bien del país y la humanidad.

A la M. en C. Edelmira Linares Mazari del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM por su valiosa colaboración, ya que gracias a su trabajo en campo fue posible conseguir el recurso herbolario, con su plena identificación botánica, de donde partió esta investigación

Al Doctor Ernesto Andrés Ducoing Watty por su orientación en el manejo de los datos estadísticos

Al personal del Herpetario de la Facultad de Ciencias: Roberto, Marlen, Paola, Dulce y a todos los bichos que hacen posible que ese maravilloso lugar siga adelante

Al personal, del Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico y Micológico de la FMVZ: Ceci, Andira, Jesús, David, Fabiola, Ivone, Raúl y a la Doctora Carolina por su apoyo y amistad.

Y a todas y todos aquellos que de alguna forma tuvieron que ver en esto, positiva o negativamente, pero con el mismo resultado, concluir satisfactoriamente este ciclo de mi historia:

A Irene madre de mi hijo hermoso, a la Bú gata nahual de mis pensamientos, a los zapatistas por permitir que con ellos me iniciara en la herbolaria, a la poesía por darme la fuerza de seguir avante, y a toda la banda: el bacho, la Viki, Sandra, Itzel, Angola, Amanda, el Rik, y por supuesto al tomillo... gracias también a todas y todos a quienes mi memoria bien cobijados los tiene...

MONTALVO GONZALEZ CARLOS FEDERICO. Extracción y aplicación de aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo), en el manejo médico rutinario, de lesiones bacterianas en reptiles del Herpetario de la Facultad de Ciencias UNAM. (Bajo la dirección de: MVZ. PhD Roberto A. Cervantes O.; MVZ Enedina Silva Cabrera y Bióloga Mónica Salmerón Estrada.).

Resumen.

La presente investigación se desarrolló en el Herpetario de la Facultad de Ciencias (FC), el Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico y Micológico del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) y en el Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Química (IQ), pertenecientes a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Se compraron 10 kilos de planta fresca de *Thymus vulgaris* (Tomillo) con campesinos de San Esteban Tepetlixpa, Estado de México, México. Se secaron y se destilaron por arrastre con vapor en el Laboratorio de Productos Naturales del IQ obteniendo su aceite esencial. En el Herpetario de la F.C. se diagnosticaron 11 casos clínicos en 10 reptiles con infecciones bacterianas, tomando muestras clínicas para su análisis en el Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico y Micológico de la FMVZ identificando al agente causal y aplicando la prueba de susceptibilidad con el aceite esencial y 7 antibacterianos convencionales; mientras en el Herpetario de la FC, se desarrollaron terapias clínicas antibacterianas utilizando el aceite esencial de tomillo como principio activo; los vehículos fueron glicerina pura y aceite de aguacate, el primero solo para aplicación local y el segundo tanto tópica como oral. De los 10 animales 1 falleció antes de comenzar el tratamiento, al cual sólo se le realizó toma de muestra para análisis bacteriológico; los demás fueron 8 casos clínicos de lesiones bacterianas cutáneas con aplicación local del aceite esencial curándose todos y 2 casos de infecciones sistémicas donde el aceite esencial se aplicó de forma oral, de estos últimos hubo un deceso, realizando examen postmortem en el Departamento de Patología de la FMVZ, para conocer la causa de la muerte y descartar su relación con el uso del aceite esencial. En el Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico y Micológico de la FMVZ, de los 11 casos clínicos, se identificaron 15 bacterias distintas por medio de 27 pruebas de identificación y se efectuaron análisis de susceptibilidad frente a: ampicilina con 15.8% de efectividad, carbencilina con 37%, cefazolín con 12.5%, enrofloxacina con 63.15%, florfenicol con 87.5%, sulfas con 66%, tetraciclinas con 52% y el aceite esencial con 100%, siendo este el único en presentar susceptibilidad bacteriana en todas las pruebas.

INTRODUCCIÓN

México ocupa el tercer puesto de los países considerados como mega diversos, siendo el primer lugar mundial en cuanto a diversidad de reptiles con 717 especies, lo que representa el 10% de la herpetofauna mundial (1,2) Los reptiles son los primeros organismos vertebrados adaptados a una vida enteramente terrestre, teniendo aproximadamente 325 millones de años de haber aparecido. Considerando esto podemos pensar que poseen una fisiología exitosa, donde los cambios han sido mínimos permitiéndoles adaptarse a la mayoría de los hábitats terrestres y acuáticos. Socialmente han sido símbolos culturales importantes, así como parte de los recursos naturales en distintos pueblos; con la llegada de los españoles a nuestras tierras, este sentido cultural vino a trastocarse de manera tal, que contrariamente a su historia, se les estigmatizó y su importancia se minimizó, incluso hasta nuestra época. En la actualidad varias especies se han extinguido y otras tantas se encuentran en peligro de correr la misma suerte (3), ya sea por ataque directo, por destrucción de sus hábitats, o por saqueo a las poblaciones dado el comercio indiscriminado de estos animales como mascotas, además de la introducción de reptiles de otros continentes sin control zoonosanitario y sin garantías de una cautividad segura; es por esta situación, aunada a los centros de investigación dedicados a su estudio, lo que ha puesto de relieve lo necesario que es profundizar en su atención médica. A diferencia de aves y mamíferos, la clínica herpetológica lleva apenas una década desarrollándose de manera más profunda (4), sin embargo esto no ha sido por el lugar mundial en que nos encontramos en cuanto a la diversidad de estos organismos, sino por la mercantilización que han sufrido estas especies; los reptiles no desarrollan sentimientos de apego como los mamíferos, por lo que no son aptos para ser mascotas o de compañía y al imponérseles esta situación, padecen serios trastornos a la salud que no se generan en libertad, por lo mismo la manipulación constante tanto ambiental como física de la que son objetos

por manos inexpertas, es una de las principales causas de traumatismos e inmunosupresión, aunado a las condiciones medioambientales y a la calidad alimenticia que se les ofrezca (5), siendo todos estos factores determinantes para su salud. Es mucho lo que aún falta por conocer clínicamente sobre los reptiles, dado que si bien las condiciones de manejo, medio ambientales y de nutrición pueden ser los adecuados, aun así llegan a presentarse alteraciones médicas.

En reptiles las enfermedades infecciosas más comunes son las de origen bacteriano, donde la mayoría de los microorganismos responsables son oportunistas (6) los cuales pueden llegar a comprometer la vida del animal siendo las bacterias Gram negativas los principales patógenos (7) con resoluciones fatales en muchos de los casos, para lo cual existen antibacterianos sugeridos (8) los cuales pese a sus efectos antimicrobianos, las secuelas orgánicas que pueden generar como efectos nefrotóxicos o afecciones hepáticas (9), los hacen de alto riesgo y por ende en la mayoría de los casos se reportan 1, 2 o hasta 3 días entre cada aplicación, con la indicación de suministrar suero al paciente dado el grado de toxicidad que representan para estos animales (10). Además la mayoría de los medicamentos utilizados en reptiles son traspolados de los empleados para aves y mamíferos, donde las contraindicaciones de estos productos para estos animales no son claras y las concentraciones comerciales son la mayoría de las veces muy elevadas, teniendo que hacer en muchas ocasiones diluciones para su aplicación, sobre todo en los casos sistémicos. Existen pruebas de farmacocinética y farmacodinamia de algunos antibacterianos en reptiles, de los cuales se ha establecido una posología específica para estos animales, pero la realidad es que la gama de alternativas terapéuticas antibacterianas continúan siendo pocas. Se entiende que debe ser cuidadoso el uso de antibacterianos convencionales en reptiles; por un lado obviamente no puede hacerse un uso preventivo de estos por la resistencia bacteriana que se genera, y por otro lado su empleo terapéutico tiene el riesgo de ocasionar daños orgánicos,

por lo que se hace evidente la necesidad de encontrar medicamentos antibacterianos, que no generen resistencia y que aminoren o nulifiquen problemas secundarios en reptiles.

El Herpetario de la Facultad de Ciencias de la UNAM está dedicado a realizar actividades de docencia, difusión e investigación mediante el mantenimiento de anfibios y reptiles en cautiverio, para lo cual se divide en dos áreas principalmente: exhibición y cuarentena (en esta zona la cuarentena es de tres meses, además de contar aquí con el área de hospitalización). El manejo clínico es indispensable para coadyuvar a los procesos de salud, dado que con diagnósticos y tratamientos seguros y oportunos, se reduce el riesgo de morbilidad y mortalidad por procesos patológicos. Los animales que integran la colección proceden de distintas fuentes, ya sea por decomisos realizados por la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, donación voluntaria de particulares, nacimientos de organismos en el herpetario o por intercambio con otras instituciones. De mediados de 1998 hasta el 2003, se hizo una recopilación de datos clínicos en el Herpetario de la Facultad de Ciencias, para establecer cuales eran las principales enfermedades que se presentan en los reptiles de la colección con los siguientes resultados (11):

Porcentaje de enfermedades de 81 reportes clínicos:

bacterianas	49	61.25%
traumáticas	15	18.5%
parasitarias	8	10%
micóticas	6	7.5%
metabólicas	3	3%

Se observó que los traumatismos y las enfermedades bacterianas son las más comunes; si bien los primeros la mayoría de veces no ponen en peligro la vida del animal, las infecciones bacterianas sí requieren de mayor atención clínica, para lo

cual es importante la elección correcta de antibacterianos seguros y eficaces; una posibilidad es el empleo de plantas medicinales con efecto antibacteriano.

Se realizó una recapitulación de los trabajos de tesis sobre fitofármacos en la FMVZ, en el periodo comprendido entre 1916 y 1987, y se encontró que solo 24 tesis abordan el tema de herbolaria, que en veterinaria se ha relegado a remedios caseros (12). Las plantas medicinales han sido empleadas desde hace miles de años para su uso en humanos y actualmente van teniendo la atención científica que requieren, como en el Hospital Centro Médico del Instituto Mexicano del Seguro Social donde existe un herbario con un área dedicada para su estudio, lo mismo en educación superior como la Universidad Autónoma de Chapingo o el Instituto Politécnico Nacional, así como en los Institutos de Química y Biología de la UNAM, donde hasta el momento la investigación se enfoca principalmente en la medicina humana, sin embargo los resultados de estos estudios permiten pensar sobre la posibilidad de su aplicación en la medicina veterinaria, en este caso concreto en la clínica herpetológica, y en específico, empleando el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) para curar infecciones bacterianas.

El tomillo es una planta perenne de la familia de las Lamiaceas, originaria del mediterráneo; no pasa los 40 cm de altura, muy poblada de hojas diminutas a lo sumo de 1 cm incluido el rabillo de imagen entre ovalada y lanceolada (13). Color verde oscuro y flores lilas, florece en primavera. En la familia Lamiacea las flores son bisexuales, poseen tallos cuadrangulados, las hojas y demás partes aéreas poseen pelos tectores y pelos glandulosos que segregan esencia (14). Crece en terrenos soleados y pedregosos, es de tallo leñoso; de su aceite esencial, 25 a 40% está constituido por timol, menos cantidades de carvacrol, p-cimeno, l-borneol, linalol, gomas, resinas, vitamina C, terpineol, flavonoides, ácidos fenólicos, taninos

y saponinas (15). El rendimiento de aceite esencial por kilogramo de planta seca, va de 0.5 a 1.5% (16).

En el tomillo, los componentes fundamentales son los dos fenoles: timol (17) y carvacrol, dotados de actividad antiséptica y antiespasmódica respectivamente, que varía según la concentración de estos dos compuestos y que además dependen del origen y manejo de la planta y la modalidad de destilación (18). El timol y el carvacrol, comparados ambos con el fenol, presentan mejor actividad antibacteriana y fungicida (19). En el proceso de extracción se obtienen dos tipos de aceites, el rojo y el blanco, al hacer la primera destilación se obtiene un producto rojo aromático, de sabor pungente, si a este producto se le hace una segunda destilación, el producto resultante será el aceite blanco; el rojo es rico en timol, mientras el blanco lo es en carvacrol (20). A nivel de la planta, el carvacrol está presente principalmente en tallos y raíces, mientras en las hojas y flores el timol es el que prevalece. La actividad terapéutica de los extractos de tomillo y el aceite esencial va siempre en relación directa con la especie botánica (*Thymus vulgaris*, tomillo morado, *Thymus zizgys*, tomillo blanco; siendo el morado el de interés terapéutico en la presente investigación), en el origen de la droga (dependiente de la ubicación geográfica, fecha del corte y partes de la planta a utilizar) y con la modalidad de destilación del aceite esencial (hidrodestilación, arrastre con vapor, etc).

La bibliografía reporta que la Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) de los aceites esenciales con acción antibacteriana es de 1×10^{-4} g/ml, es decir, 0.1mg o 100microgramos/ml; considerando la acción bactericida de los aceites esenciales, tomando el 100% como máxima acción antibacteriana, el aceite esencial de tomillo lo reportan con un 75% de actividad bactericida; también reportan de él que presenta cierta toxicidad (D.L.₅₀, 4,7 g/Kg., rata) (21); sin embargo al utilizarlo de forma terapéutica con la concentración bactericida que señalan, esta dosis letal no se

alcanza. Por su contenido en timol se mencionan algunos casos de su aplicación en abejas para la varroasis y en pollos como sedante (22), como antibiótico en animales el tomillo se tiene registrado en Cuba para tratar otitis bacteriana en perros (23), sin embargo, el aceite esencial del tomillo se ha estudiado principalmente en la clínica humana, reportándose como parasimpaticolítico, antiinfeccioso general y pulmonar, recomendado en el tratamiento general respiratorio, como elemento de drenaje y antitusígeno; en sinusitis se inhala como antiinfeccioso y descongestionante local; en el caso de Zoster, una enfermedad causada por el virus VZ, idéntico a la varicela, el tomillo también está indicado como parte del tratamiento integral. Otros usos son en el reumatismo febril, en artritis crónicas, como digestivo, contra trastornos dispépticos secundarios o asociados, en el manejo de la colitis por micosis; como vagolítico; en el caso de hipotensión arterial y para corregir la hiperparasimpaticotonía absoluta. Dentro de sus efectos terapéuticos más importantes, se señala como estimulante de la corteza suprarrenal, inmunoestimulante, antiinflamatorio, antiespasmódico neutropo (parasimpaticolítico), antiinfeccioso, antibacteriano (pulmonar, faríngeo, intestinal, genitourinario), antifúngico, antivírico (Herpes), antihelmíntico, drenador renal, diurético, volumétrico, antimicrobiano, drenador hepatovesicular, colerético y cicatrizante (21).

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la eficacia del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*), integrándolo al manejo médico rutinario de reptiles en cautiverio, comparando su actividad *in vitro* con antibacterianos convencionales y empleándolo como principio activo en tratamientos clínicos, para sanar lesiones bacterianas en organismos del Herpetario de la Facultad de Ciencias, UNAM.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Conseguir la planta y diseñar el procedimiento mediante el cual se obtendrá el aceite esencial de *Thymus vulgaris* que se empleará en la investigación.
- Realizar el diagnóstico clínico de pacientes con lesiones bacterianas.
- Determinar la forma fitofarmacológica y dosificación del aceite esencial de *Thymus vulgaris* para cada paciente.
- Realizar la identificación bacteriana y la prueba de susceptibilidad a antibacterianos convencionales y al aceite esencial de *Thymus vulgaris*.
- Establecer los datos con los que se evaluará la eficacia médica del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*), como principio activo en la terapia clínica de reptiles en cautiverio, para sanar lesiones bacterianas en organismos del Herpetario de la Facultad de Ciencias.

HIPÓTESIS:

El aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) empleado como principio activo en el desarrollo y aplicación médica de fitofármacos antibacterianos, es eficaz para sanar lesiones bacterianas en reptiles en cautiverio en el Herpetario de la Facultad de Ciencias, UNAM.

MATERIAL Y MÉTODOS.

1) Obtención del aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

Se compraron 10 Kg de planta fresca de *Thymus vulgaris* (Tomillo), con campesinos de San Esteban Tepetlixpa, Estado de México, México, el cual se identificó mediante la elaboración de su ficha de colecta (cuadro 1); se estableció el proceso de destilación por arrastre con vapor (24) y se montó el equipo (25) con el que se obtuvo el aceite esencial del *Thymus vulgaris* en el Laboratorio de Productos Naturales en el I.Q. de la UNAM.

Durante el montaje se utilizó 1 kg de planta fresca para hacer las precisiones necesarias, una vez que se implementó correctamente el equipo, los 9 kg de planta fresca restantes se secaron y utilizaron principalmente las hojas y flores, dado que la mayor concentración de timol se encuentra en estas partes de la planta, siendo un total de 3.050 Kg de planta seca que se destiló. Se realizaron series continuas de destilación, siendo de 150 gr de planta seca cada vez con 700 ml agua por espacio de una hora, poniendo atención a que toda el agua corriera de una vez en forma gaseosa por el tomillo, evitando su condensación en ese matraz.

Al aceite resultante se le aplicaron las pruebas de cromatografía en placa de sílice (26) para corroborar que la calidad en el proceso entre cada destilación fuera continua en cuanto a características cualitativas de los elementos químicos del aceite esencial, y la espectrometría de masas (27) donde se revisaron los principios químicos exactos y su cantidad relativa en la totalidad del aceite esencial; con estas pruebas se pudo establecer la característica química de este aceite esencial en particular.

2) Casos clínicos.

Se separaron animales sospechosos de padecer alguna enfermedad infecciosa; a estos se les hizo un examen clínico y de ellos se identificaron y diagnosticaron 10 reptiles con lesiones bacterianas; el criterio de inclusión para el estudio fue presentar una lesión con aparente infección bacteriana, el lapso de tiempo se estableció hasta completar el diagnóstico y tratamiento de 10 casos clínicos (lo que duró 4 meses) y debido a los

limitados casos encontrados las muestras fueron obtenidas por el sistema de conveniencia. La proporción de especies presentes en el estudio coincidió con los reportes clínicos que el herpetario tiene registrados, hechos en los años 1999, 2001, 2002 y 2003 (11), donde el porcentaje de enfermedades bacterianas en reptiles del Herpetario de la Facultad de Ciencias fue de 61.25%.

Porcentaje de grupo animal en el presente estudio: Porcentaje de grupo animal con lesiones bacterianas reportadas en el herpetario:

5 tortugas	50%	43 tortugas	53.7%
4 serpientes	40%	27 serpientes	33.7%
1 iguánido	10%	10 iguánidos	12.5%

Una vez diagnosticados los animales fueron alojados por separado, manteniendo constantes la humedad y temperatura ambientes, en un rango de 60-75% (8) y de 25 a 29° Celsius respectivamente, conservándolos en su zona de preferencia de temperatura óptima. A cada paciente se le tomaron datos individuales de especie, sexo, edad, peso y talla, además de hacerle un registro fotográfico del desarrollo de la enfermedad y los resultados de la terapia.

Se realizó el examen físico de los pacientes, siguiendo el protocolo del herpetario y con base en la hoja clínica que ahí se maneja. (Anexo 1)

Lo que respecta a análisis de laboratorio, a todos los casos clínicos sospechosos de padecer una infección bacteriana, se les tomó muestra para su estudio bacteriológico, con el fin de corroborar el diagnóstico y establecer la identificación de las bacterias involucradas. Dentro del periodo de estudio se presentó el caso de un deceso, se realizó necropsia y se remitieron muestras de estómago, hígado, intestino y pulmón al Departamento de Patología de la FMVZ, para determinar si existió alguna relación del aceite esencial con la causa de la muerte.

3) Desarrollo de los fitofármacos.

La dosis mínima bactericida reportada para los aceites esenciales con este efecto es de 0.1mg de aceite esencial por 1ml de diluyente (21), esta dosis es la que se tomó como referente para el uso del aceite esencial como antibacteriano

Se emplearon de manera local como vehículos glicerina pura y aceite de aguacate extra refinado, y como sistémico, solo de manera oral, el aceite de aguacate. La glicerina tiene la ventaja de ser hipoalérgica y biodegradable, por lo que no deja residuos y es un muy buen vehículo en piel para extractos herbarios y aceites esenciales, el aceite de aguacate al ser extra refinado, elimina la posibilidad de contener algún principio químico que interfiera en la terapia y es un vehículo ligero y de rápida distribución, oralmente no es laxante y en la piel tiene una buena absorción. En los casos de aplicación local, se hizo una preparación de glicerina al 1% (21): en 35 ml de glicerina, se disolvieron 0.35mg de aceite esencial, obteniendo una concentración de 0.1mg de aceite esencial/ml de glicerina, se aplicó por gotas, tres gotas son aproximadamente 1.05ml. El aceite de aguacate se preparó teniendo una concentración mínima de 0.1mg de aceite esencial/ml de aceite de aguacate. Para los casos sistémicos se empleó sólo el aceite de aguacate como vehículo y se dosificó con base en las características de cada paciente.

4) Análisis bacteriológico de muestras clínicas.

Las muestras para análisis bacteriológico se tomaron de las lesiones dérmicas mediante un hisopo estéril, y en las lesiones internas se tomaron de las secreciones infecciosas, tanto por punción como por aspiración, inmediatamente se colocaron en un medio de transporte Stuart y se llevaron al Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico y Micológico de la FMVZ el mismo día de la toma. A todas las muestras se les aplicaron los pasos generales para el aislamiento e identificación de bacterias a partir de muestras clínicas (28). Las muestras se sembraron en Agar Sangre y Agar MacConkey (29), las

provenientes de contenido digestivo fueron sembradas en Agar Verde Brillante. Se cultivaron las muestras en la estufa de 25° Celsius, dadas las temperaturas habituales en estos organismos, además de que se reporta que la incubación de cultivos debe realizarse en un rango de entre 23° a 37° Celsius. (6).

Se les aplicó la tinción de Gram así como las pruebas bioquímicas para identificación (29). Una vez obtenidos los resultados, se compararon con esquemas de identificación del manual para identificación de bacterias de interés veterinario que usa el laboratorio (30), mismo que se emplea en el hospital de enseñanza médica veterinaria de la Universidad de Davis, California.

Las pruebas de susceptibilidad de aceite esencial de tomillo para los microorganismos identificados, se realizaron conforme a la técnica de Schroeder y Messing (21) con la siguiente interpretación:

Concentración de aceite esencial:	Interpretación de susceptibilidad:			
1 microlitro/mm de diámetro.	Diámetro del halo de inhibición en mm.			
Sensidisco: 6microlitros /6mm de diámetro	Nula hasta 8	Baja 8.1-13	Media 13.1-19.9	Alta 20 o más.

Se realizó también junto al tomillo la prueba de susceptibilidad a 7 antibacterianos convencionales: ampicilina, carbencilina, cefazolín, enrofloxacina, florfenicol, sulfas y tetraciclinas, tomando como rangos de susceptibilidad los reportados por los mismos laboratorios que fabrican estos sensidiscos (31).

5) Sistematización de datos.

En el registro clínico que estuvo en cada alojamiento se anotaron los diagnósticos, tratamientos, especificaciones y observaciones médicas, además de registrarlos también en la bitácora de tratamientos; al final de éste se integró un archivo con la hoja y el registro clínicos indicando la resolución de la enfermedad. A los estudios bacteriológicos *in vitro*, se les aplicó una prueba estadística no paramétrica, mediante análisis para tablas de contingencia, por medio de la prueba de Xi

cuadrada. Los resultados bacteriológicos de las pruebas de susceptibilidad del aceite esencial y de los antibacterianos convencionales, se compararon para evaluar la eficacia bactericida del aceite esencial de *Thymus vulgaris* ante éstos. A su vez, la eficacia del aceite esencial *in vitro*, sirvió para fundamentar la posibilidad de la acción del aceite esencial *in vivo*.

RESULTADOS.

1) Aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

Se obtuvo un total de 4.3ml de aceite esencial, lo que representa el 0.14% del total de planta seca. Se realizó la destilación por arrastre con vapor y se efectuó la separación del aceite esencial del agua, sin embargo se notó que el agua destilada, aún después del proceso de separación, presentaba algunas coloraciones que hicieron suponer que aun tenía aceite esencial. Siendo así no se desechó, se guardó y posteriormente se le volvió a aplicar el proceso de separación de agua y aceite logrando recuperar este último. Así se obtuvo aceite esencial de primera intención, 3.6ml el 85% del total, y de segunda intención recuperado del agua que se desecharía, 0.7ml, el 15% del total. Al aceite esencial obtenido en ambas instancias, se le aplicaron por separado las pruebas de cromatografía en placa de sílice **imágenes 1, 2 y 3** donde se observó que el aceite esencial era constante en composición química y la espectrometría de masas (Cuadro 2) reveló que el timol fue el que se encontró en gran cantidad, corroborando lo que se buscaba al destilar hojas y subunidades floridas De las dos muestras examinadas, la de primera y segunda intención, ambas presentaron las mismas características en sus componentes químicos, por lo que se juntaron en un solo aceite esencial.

La distribución del producto obtenido fue de 7mg de aceite esencial para los 8 casos de aplicación dérmica local, y para los dos casos de aplicación oral se emplearon 288mg; en total se consumieron 295mg del aceite esencial para los casos clínicos. Para los estudios bacteriológicos, se prepararon 27 sensidiscos con 6 microlitros cada uno de aceite esencial para las pruebas de susceptibilidad, empleando 162mg en total. El aceite esencial de tomillo utilizado en la investigación fue de 457mg, el equivalente a 326gr de planta seca.

2) Casos clínicos.

Se diagnosticaron un total de 11 casos clínicos por enfermedades bacterianas, 8 fueron infecciones cutáneas locales de las cuales en el caso 2 se usó sólo glicerina al 1% con una aplicación diaria durante 7 días, lo que generó necrosis, los casos 2a, 5 y 6 sólo se usó aceite de aguacate como vehículo y en los casos 3, 4, 7 y 8 se usó la combinación de glicerina al 1% y aceite de aguacate a una concentración de 0.1mg/ml; también hubieron 3 infecciones sistémicas, de estas últimas el caso 10 falleció antes de iniciar el tratamiento, solo se identificaron agentes causales y su susceptibilidad al aceite esencial *in vitro*, por lo mismo no se integró a la discusión clínica, los otros dos casos, el 1 y el 9, se aplicó el tratamiento por vía oral mediante sonda gástrica con el aceite de aguacate como vehículo.

3) Desarrollo de fitofármacos.

El protocolo de tratamiento para los casos locales fue el siguiente:

La glicerina es altamente higroscópica, por lo que atrae y retiene agua, generando deshidratación sobre los tejidos que se aplica, por lo que se decidió utilizarla en los casos donde el tejido estuviera necrótico o muy dañado, con el fin de que fuera más fácil su desprendimiento; así puede decirse que ésta se usó para limpiar las heridas de detritos y desinfectarlas. El criterio para usar el aceite de aguacate fue el de regenerar y reestructurar la epidermis, por lo que se aplicó en los casos donde el tejido no estuviera muy dañado y sólo se necesitara desinfectar y regenerar. Así el protocolo consistió en aplicar glicerina al 1% en casos de tejido muy dañado y el aceite de aguacate cuando la lesión tisular no fuera grave; en varios casos dependiendo del grado de daño en el tejido, se usó primero la glicerina pura y posteriormente el aceite de aguacate, ambos a una concentración de 0.1mg/ml; la primera para limpiar y desinfectar y el segundo para mantener la desinfección y regenerar el tejido.

Para establecer el criterio de dosificación en los casos sistémicos, se partió del hecho de que no se cuenta con estudios de farmacocinética ni farmacodinamia del aceite esencial

de tomillo en reptiles, sin embargo se cuenta con dos datos del aceite esencial: la Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) reportada según Durreford de 0.1mg de aceite esencial por ml de diluyente, y la Dosis Letal 50 en ratas de 4.7gr/Kg de peso (21). La lógica de dosificación para los casos sistémicos fue partir del C.M.I y dosificarlo con base en líquido corporal como diluyente máximo y el volumen sanguíneo como diluyente mínimo, una tercera dosis que se estableció fue la mitad de líquido corporal. Las tres fueron dosis empíricas dentro de un margen de seguridad muy amplio, ya que con este criterio, se garantiza que la DL50 de 4700 mg/Kg de peso, nunca se alcanzará puesto que considerando que el líquido corporal representa el 70% del peso total, entonces la dosis máxima que puede administrarse con esta lógica es de 70mg de aceite esencial/Kg de peso.

4) Análisis bacteriológico de muestras clínicas.

Se realizaron 27 aislamientos con sus correspondientes pruebas de susceptibilidad; fueron un total de 15 agentes bacterianos distintos, procedentes de 11 casos clínicos de reptiles del Herpetario de la Facultad de Ciencias UNAM.

Todas las bacterias fueron Gram negativas, algunas de ellas estuvieron presentes en uno, dos y hasta en tres casos clínicos diferentes. Los agentes etiológicos y su relación con los casos clínicos se muestran en el cuadro 3.

Dados los informes bibliográficos de los antibacterianos empleados para reptiles, así como los reportados para los agentes bacterianos identificados, se usaron 7 antibacterianos convencionales distintos:

ampicilina, carbencilina, sulfas, tetraciclinas (6), cefazolín, enrofloxacina (32) y florfenicol (33); aplicando sólo 5 por caso y rotando otros 2, escogiéndose tanto por sus resultados *in vitro* como por las referencias bibliográficas reportadas. En todas las pruebas de susceptibilidad se aplicó un sensidisco con 6 microlitros de aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

-CASO 01

Especie: *Trachemys scripta* (tortuga de orejas rojas). Sexo: macho Edad: juvenil. Peso: 400gr Talla: 13.5cm

Presentó abscesos en oídos, siendo el derecho el más grande de aproximadamente 2 cm de diámetro, el izquierdo midió aproximadamente 1 cm.

A la palpación, se detectó aumento de volumen en el foramen óseo auricular derecho.

Imagen 4.

Diagnóstico: otitis infecciosa bilateral.

Se tomó muestra por punción del absceso derecho para estudio bacteriológico.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agente: *Aeromonas hydrophila*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en centímetros)

Aceite esencial de tomillo: 2.5cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas

0.0 cm 0.0 cm 0.0cm No se aplicó. No se aplicó. 2.1cm 4 cm

Imagen 5

Terapia clínica.- Se desarrolló un tratamiento oral dosificado con base en el líquido corporal, considerando que este representa el 70% del peso corporal y que el peso real es la tercera parte del peso total en tortugas, la dosis resultante fue de 9.3mg de aceite esencial de tomillo para este animal. El tratamiento se dio en una toma de 4.65mg aceite esencial cada 12 horas diluidos en 0.5ml de aceite de aguacate, por medio de sonda gástrica durante 3 días.

A los 3 días la apariencia física de la tortuga fue de gran humectación y al tacto se sentía aceitoso el caparazón, el tamaño del absceso disminuyó a 1.4cm. El absceso desbridó hacia el interior de la cavidad bucal por medio del canal del tubo de Eustaquio.

Al cuarto día de tratamiento, pensando que el efecto terapéutico se había alcanzado y que solo se necesitaba una dosis de mantenimiento, se ajustó la dosis a concentración

sanguínea, considerando este como el 5% del líquido corporal total, fue de 0.46mg por día dándolo en dos tomas diluido en 0.25ml de aceite de aguacate durante 3 días.

Al tercer día aumentó el exudado purulento en forma caseosa, por lo que se notó que la dosis no tuvo efecto terapéutico, así se ajustó la dosis a mitad de líquido corporal durante 5 días, siendo 4.65mg de aceite esencial en 0.5ml de aceite de aguacate en una sola toma diaria. A los dos días la secreción cambió de caseosa a mucopurulenta. A los 6 días desapareció la hiperemia bucal y el exudado purulento, el absceso se redujo a 0.6cm de diámetro, no regeneró del todo, persistió el aumento de volumen en la cavidad auditiva.

Resolución del caso.- A una dosis de 4.65mg oral C/12hrs durante 3 días se favoreció la desbridación, al reducir la dosis a 0.46mg C/12hrs durante tres días desapareció el efecto clínico y por último se adecuó a la media corporal a 4.65mg oral C/24hrs durante 5 días donde se observaron los mejores resultados. A los 12 días de iniciado el tratamiento, el aumento de volumen auricular persistía aunque ya no había exudado, se hizo una punción para bacteriología lo que resultó negativo. **Imagen 6**

CASO 02

Especie: *Crysemis scripta* (tortuga jicotera) Sexo: macho. Edad: juvenil. Peso: 1.050Kg. Talla: 22.5 cm

Presentó una lesión por mordedura en la nuca de aproximadamente 2cm de ancho por 3 cm de largo, se observó inflamación y ruborización. **Imagen 7.**

Diagnóstico: herida infectada en nuca.

Se tomó muestra de la lesión para diagnóstico bacteriológico.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agentes: a)*Aeromonas hydrophila* b)*Pseudomonas maltophilia*

c)*Enterobacter aerogenes*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Aeromonas hydrophila*

Aceite esencial de tomillo: 2.8cm

Ampicilina Carbencilina Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 0.0cm 0.0 cm No se aplicó No se aplicó 2.3cm 2.8cm

Imagen 8.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Pseudomonas maltophilia*

Aceite esencial de tomillo: 1.4 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 0.0 cm 0.0 cm No se aplicó No se aplicó 0.0 cm 2 cm

Imagen 9.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) c) *Enterobacter aerogenes*

Aceite esencial de tomillo: 2.5 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 2.4 cm 0.0 cm No se aplicó. No se aplicó. 2.2 cm 1.6 cm

Imagen 10.

Terapia clínica.- Se limpió la herida y al notar la presencia de tejido necrótico, se decidió aplicar 3 gotas de glicerina al 1% C/12hrs; al segundo día empezó a verse limpia la herida, ya no sangró, había algunas petequias; al tercer día la herida medía 1.4cm de largo, se veía limpia, ya no hubo petequias; al cuarto día empezó a aparecer tejido de cicatrización en los bordes de la herida; se continuó este tratamiento dos días más; al séptimo día se vio el tejido acartonado y laceraciones.

Resolución del caso.- A los 4 días con glicerina al 1% desinfectó, pero no cicatrizó y tres días más de aplicación generó necrosis; por la falta de cicatrización se generaron laceraciones, predisponiendo a una segunda infección que se identificó como el caso

02a. **Imagen 11.**

CASO 02a.- Presenta herida en nuca con tejido acartonado y laceraciones, se tomó muestra para diagnóstico bacteriológico, lo que reveló una infección por parte de bacterias entéricas comunes en estos animales, corroborando que la primera infección desapareció. **Imagen 12.**

Diagnóstico: laceraciones e infección en herida en nuca.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agentes: a) *Escherichia coli* b) *Salmonella arizonae* c) *Salmonella arizonae*
d) *Pasteurella multocida*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Escherichia coli*

Aceite esencial de tomillo: 2.1 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 2.6 cm 0.0 cm No se aplicó. No se aplicó. 2.8 cm 2.5 cm

Sin imagen

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Salmonella arizonae*

Aceite esencial de tomillo: 2.1 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 1.4 cm 0.0 cm No se aplicó. No se aplicó. 2.7 cm 2.4 cm

Sin imagen

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) c) *Salmonella arizonae*

Aceite esencial de tomillo: 2.2 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 2.6 cm 0.0 cm No se aplicó. No se aplicó. 2.8 cm 2.5 cm

Sin imagen

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) d) *Pasteurella multocida*

Aceite esencial de tomillo: 1.4 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

1.2 cm 0.0 cm 2.3 cm No se aplicó. No se aplicó. 2.6 cm 2.7 cm

Sin imagen

Terapia clínica.- El tratamiento se estableció a una concentración de 0.1mg de aceite esencial en 1 ml de aceite de aguacate con el fin de desinfectar y regenerar el tejido; al primer día de este manejo se retiró tejido necrótico, la herida medía 1.1cm de largo, se dio el tratamiento por tres días.

Resolución del caso.- A los tres días se generó desinfección y el tejido regeneró, se dejó cicatrizar sola la herida. **Imagen 13.**

CASO 03

Especie: *Boa constrictor* (boa o mazacuata). Sexo: macho Edad: adulto. Peso: 1.5kg

Talla: 162 cm

Presentó infección deformante bilateral en ápice maxilar, con hiperemia y petequias. **Imagen 14.**

Diagnóstico: estomatitis infecciosa con deformación bilateral en ápice maxilar.

Se tomó muestra de la lesión para estudio bacteriológico.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agente: *Proteus vulgaris*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm)

Aceite esencial de tomillo: 1.4 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 2.6 cm No se aplicó. 3 cm No se aplicó. 1.4 cm 0.0 cm

Imagen 15.

Terapia clínica.- Se dio un tratamiento local con el objetivo de eliminar el tejido necrótico, el primer día se aplicaron 3 gotas de glicerina al 1% en cada extremo del maxilar, al siguiente día la lesión se veía limpia e hiperémica, así que ahora se dieron 2 días 0.1mg de aceite esencial de tomillo en 1 ml de aceite de aguacate, la lesión se fue regenerando aunque no desapareció la deformación, al tercer día se veía limpia sin hiperemia, se descansó y observó un proceso cicatrizante; a los 5 días la lesión estaba limpia y se notó un buen proceso de regeneración.

Resolución del caso.- Al hacer una aplicación local de glicerina al 1% el tejido necrótico se retiró, entonces se cambió el fitofármaco por aceite de aguacate con aceite esencial de tomillo en una concentración de 0.1mg/ml; los siguientes dos días la herida estaba limpia y comenzaba a regenerar; a los 5 días se mantuvo la deformación maxilar. **Imagen 16.**

- CASO 04

Especie: *Trachemys scripta* (tortuga de orejas rojas) Sexo: macho. Edad: juvenil. Peso: 430gr, Talla: 13.5cm

Padeció otitis por *Aeromonas hydrophila*, de la cual evolucionó favorablemente y se curó, aunque permaneció la fibrosis auricular, siendo un factor predisponente a infecciones.

Presentó otitis purulenta lado derecho, absceso blanquecino y friable. **Imagen 17.**

Diagnóstico: otitis infecciosa derecha.

Se tomó muestra por punción del oído para estudio bacteriológico.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agente: *Citrobacter freundii*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm)

Aceite esencial de tomillo: 1.4 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 2.3 cm No se aplicó. 1.3 cm No se aplicó. 1.8 cm 0.0 cm

Imagen 18.

Terapia clínica.-: Al hacer la punción para bacteriología el absceso fistuló, se administraron de manera tópica 3 gotas de glicerina al 1% en la lesión para retirar tejido necrótico; al siguiente día se dio aceite esencial de tomillo 0.1mg en 1ml aceite de aguacate en la herida cada 24 horas durante tres días para mantener la desinfección y regenerar el tejido; se descansó durante dos días, se repitió el tratamiento con aceite de aguacate otros dos días.

Resolución del caso.- El paciente presentaba inflamación crónica auricular, lo que provocó una predisposición a infecciones; con una aplicación tópica de glicerina al 1% de aceite esencial de tomillo y 5 aplicaciones de aceite esencial de tomillo 0.1mg en 1

ml de aceite de aguacate C/24hrs, dándolo 3 días, descansando 2, y aplicándolo otra vez otros 2 días; la lesión se desinfectó y el tejido regeneró. **Imagen 19.**

- CASO 05

Especie: *Thamnophis eques* (culebra acuática) Sexo: macho, Edad: juvenil, Peso: 170gr, Talla: 67cm

Llegó desde hace 5 años faltándole el ojo derecho, comentan que después de cierto tiempo posterior a la muda se llena éste opérculo de pus.

Presentó secreción purulenta en opérculo derecho, del cual se tomó la muestra para estudio bacteriológico. **Imagen 20.**

Diagnóstico: infección en opérculo derecho.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agente: *Enterobacter aerogenes*.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm)

Aceite esencial de tomillo: 1.4 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 3 cm No se aplicó. 2.8 cm No se aplicó. 1.8 cm 0.0 cm

Imagen 21.

Terapia clínica.- Al considerar que no había un daño grave en el tejido, se desarrolló un tratamiento tópico con 0.1mg de aceite esencial de tomillo en 1ml de aceite de aguacate, se aplicó una vez al día sobre la infección durante 5 días.

Resolución del caso.- A los 5 días ya no había infección, hubo desinflamación y regeneración. **Imagen 22.**

- CASO 06

Especie: *Iguana iguana* (Iguana verde). Sexo: hembra. Edad: juvenil Peso:1.4kg
Talla:35cmcabeza-cloaca

Llevaba dos semanas con prolapso cloacal refiriendo que es muy continuo, dicen que se lo acomodan pero en un lapso de 15 días vuelve a repetirlo, llevaba aproximadamente 5 ocasiones. **Imagen 23.**

Se observó prolapso cloacal con fuerte necrosis e inflamación, a la palpación de cavidad celómica se sentía contenido intestinal endurecido. Al microscopio se observaron abundantes protozoarios de una muestra fecal.

Se tomó muestra bacteriológica del prolapso.

Diagnóstico: prolapso cloacal por parasitosis.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agentes: a) *Escherichia coli* b) *Citrobacter freundii*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Escherichia coli*

Aceite esencial de tomillo: 1.6 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.8 cm 1.2 cm No se aplicó. 2.7 cm No se aplicó. 2.2 cm 1.2 cm

Imagen 24.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Citrobacter freundii*

Aceite esencial de tomillo: 2.5 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

1.1 cm 2.2 cm No se aplicó. 2.1 cm No se aplicó. 2 cm 0.6 cm

Imagen 25.

Terapia clínica.- Se desparasitó y se lavó el prolapso, considerando que es un tejido delicado, a pesar de tener una fuerte necrosis no se usó glicerina. Se preparó una solución de 0.1mg de aceite esencial de tomillo en 1 ml de aceite de aguacate; se humectó el prolapso con 5ml de la solución, se desprendió tejido necrótico, se le colocó una gasa a manera de pañal empapado con la solución oleosa. Al siguiente día se retiró la gasa, se vio desinflamado el prolapso, fue más sencillo quitar el tejido necrótico, se retiró completamente, se redujo el prolapso. Comenzó a defecar y orinar al segundo día del tratamiento y a comer bien.

Resolución del caso.- El prolapso era consecuencia de una parasitosis no atendida, al curar ésta desapareció la causa del prolapso, a éste con un día de aplicación del fitofármaco en forma de pañal durante 24 horas, bastó para desinflamar y desinfectar, desprendiéndose el tejido necrótico; el prolapso se redujo y a los dos días de finalizado el tratamiento, el paciente comenzó a comer y defecar normalmente.
Imagen 26.

- CASO 07

Especie: *Chelydra serpentina* (tortuga lagarto) Sexo: hembra Edad: adulta Peso: 3.5Kg
 Talla: 46cm

Habita con otros organismos adultos en la fosa de exhibición, presentó una lesión profunda en mano derecha por mordida, se observó una fuerte inflamación y marcada ruborización. **Imagen 27.**

Diagnóstico: herida infectada en mano derecha por mordedura.

Se tomó muestra de la lesión para estudio bacteriológico.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agentes: a) *Aeromonas hydrophila* b) *Pseudomonas spp*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm): a) *Aeromonas hydrophila*

Aceite esencial de tomillo: 2.6 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 0.0 cm No se aplicó. 2.3 cm No se aplicó. 1.6 cm 0.8 cm

Imagen 28.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Pseudomonas spp*

Aceite esencial de tomillo: 4.4 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

2.5 cm 3.2 cm No se aplicó. 3.4 cm No se aplicó. 2.8 cm 1.5 cm

Imagen 29.

Terapia clínica.- Se lavó la herida y al detectar necrosis, se decidió aplicar 6 gotas de glicerina al 1% en la herida por día, a los tres días del tratamiento el tejido se veía limpio, entonces se cambió a aceite esencial de tomillo 0.1mg en 1ml de aceite de aguacate para mantener la desinfección y regenerar el tejido, al tenerse en una tina se le puso un guante con una gasa para evitar contaminación del medio, ésta se empapó con 10 ml de la solución y se dejó durante 3 días.

Resolución del caso.- Al quitar el guante, ya no se notaba inflamación ni ruborización, la infección había cedido y la herida regeneró, se dejó cicatrizar sola. **Imagen 30.**

- CASO 08

Especie: *Pituophis deppie* (Cincuate). Sexo: hembra. Edad: juvenil. Peso: 270gr.
Talla: 74cm.

Fue atacada por un gato, presentó múltiples heridas en boca con fractura expuesta de maxilar derecho, paciente caquética con deshidratación severa. **Imagen 31.**

Diagnóstico: estomatitis traumática e infecciosa.

Se tomó muestra de cavidad oral para estudio bacteriológico.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agentes: a) *Pseudomonas maltophilia* b) *Salmonella arizonae*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Pseudomonas maltophilia*

Aceite esencial de tomillo: 1.7 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm 1.1 cm. No se aplicó. 2.5 cm. No se aplicó. 1.7 cm. 1.5 cm.

Imagen 32.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Salmonella arizonae*

Aceite esencial de tomillo: 1.4 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm. 0.0 cm. No se aplicó. 1.5 cm. No se aplicó. 0.0 cm 0.0 cm.

Imagen 33.

Terapia clínica.- Se hidrató con suero oral, se hizo limpieza de tejido necrótico en cavidad oral con una aplicación tópica de 3 gotas de glicerina al 1%, y los siguientes 7 días se aplicó aceite esencial de tomillo 0.1mg/1ml de aceite de aguacate, 1ml de la solución C/24hrs. A los 8 días del tratamiento se recuperó el color rosado de la mucosa, ya no se veía inflamada, a los 10 días se le alimentó, la parte fracturada del maxilar comenzó la osificación.

Resolución del caso.- El paciente recuperó la función motora de la boca, la infección e inflamación disminuyeron de esta cavidad, recuperando un color rosado y buena hidratación en mucosa a los 10 días de iniciado el tratamiento, por lo cual se dio de alta por el problema de estomatitis. **Imagen 34.**

- CASO 09

Especie: *Boa constrictor* (Boa o Mazacuata). Sexo: macho Edad: adulto Peso: 1.350Kg Talla: 162cm.

Presentó sibilancias, disnea inspiratoria, auscultándose estertores húmedos en pulmón, tenía inapetencia y deshidratación moderada en los dos últimos cuartos, además de ligera estomatitis. **Imagen 35.**

Diagnóstico: bronconeumonía bacteriana.

Se tomó muestra de exudado laríngeo por aspiración para estudio bacteriológico.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agentes: a) *Klebsiella pneumoniae* b) *Proteus vulgaris*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Klebsiella pneumoniae*

Aceite esencial de tomillo: 1.6 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

1.2 cm. 3 cm. No se aplicó. 3 cm. No se aplicó. 2.6 cm. 0.0 cm

Imagen 36.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Proteus vulgaris*

Aceite esencial de tomillo: 2.2 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín . Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

0.0 cm. 0.0 cm. No se aplicó. 2.1 cm. No se aplicó. 2.7 cm. 0.0 cm

Imagen 37.

Terapia clínica.- Se preparó una solución oral de aceite esencial de tomillo como principio activo con aceite de aguacate como vehículo; según el criterio establecido, se dosificó con base en el líquido corporal la primera aplicación, y se redujo a la media corporal las posteriores dosis, correspondiendo a 94mg de aceite esencial de tomillo en 5ml de aceite de aguacate la primera aplicación y 47mg de aceite esencial de tomillo en 5 ml de aceite de aguacate cada 48 horas las siguientes tres aplicaciones. Se hizo aspiración de exudado laríngeo el primer día obteniendo 1.1 ml de exudado, al segundo día 0.6 ml y el tercero 0.2ml. Al cuarto día se le dio alimentación forzada con dos ratones. Al quinto día se veía más activo; al séptimo presentó deshidratación de leve a moderada en los dos últimos cuartos.

Resolución del caso.- Al noveno día murió, en total fueron 4 aplicaciones orales de aceite esencial de tomillo, la primera basada en líquido corporal y las tres posteriores a media corporal, tomando en total el animal una dosis de 235mg en 8 días. Los resultados de los estudios postmortem indicaron que los cambios patológicos sugieren un proceso bacteriano crónico, donde uno de los principales agentes etiológicos considerados es *Klebsiella spp.* El estudio indicó que los daños orgánicos fueron causados por la infección, descartando que el aceite esencial de tomillo haya causado algún trastorno. *In vitro*, la *Klebsiella pneumoniae* ya no creció.

09a Necropsia.- El cadáver presentó deshidratación de moderada a grave en último cuarto. Al abrirlo hubo presencia de pus caseosa en senos paranasales; presentó congestión vascular en boca; pulmón friable, hemorrágico a nivel bronquial y lesiones granulomatosas en la parte caudal del pulmón. **Imagen 38.**

Se tomó muestra de 3cm de largo por 2cm de ancho para bacteriología de pulmón distal, así como muestras de contenido intestinal y estomacal. Se mandaron a estudio patológico muestras de: pulmón, intestino delgado, estómago, hígado y riñones.

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Pulmón: a) *Proteus mirabilis* b) *Proteus vulgaris*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Proteus mirabilis*

Aceite esencial de tomillo: 3 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 0.0 cm No se aplicó. 3.4 cm 3.1 cm. 2.1 cm 2.4 cm

Imagen 39.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Proteus vulgaris*

Aceite esencial de tomillo: 2.7 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 0.0 cm. No se aplicó. 2.8 cm. 2.8 cm. 2.4 cm. 0.0 cm.

Imagen 40.

Estómago: a) *Serratia spp* b) **Proteus vulgaris*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Serratia spp*

Aceite esencial de tomillo: 2.8 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 0.0 cm. No se aplicó. 1.4 cm. 3 cm. 1.2 cm. 0.0 cm.

Imagen 41.

Intestino:

Agentes: a) *Citrobacter freundii* b) *Escherichia coli* c) **Proteus vulgaris*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Citrobacter freundii*

Aceite esencial de tomillo: 2.6 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 0.0 cm. No se aplicó. 2.6 cm 2.6 cm 1.6 cm 0.0 cm

Imagen 42.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Escherichia coli*

Aceite esencial de tomillo: 1.8 cm

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacin. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 2 cm. No se aplicó. 1.5 cm 1.2 cm 1.8 cm 1.3 cm

Imagen 43.

*El *Proteus vulgaris* se presentó en pulmón, estómago e intestino, por lo que solo se realizó una sola prueba de susceptibilidad.

Resolución del caso.- Los comentarios de la necropsia fueron: “Los cambios patológicos sugieren un proceso bacteriano crónico. Con base en la presencia de granulomas heterofílicos en pulmón y riñón, los principales agentes etiológicos considerados son: *Aeromonas spp*, *Pseudomonas spp*, *Salmonella spp* y *Klebsiella spp*; estos patógenos suelen estar asociados a una infección por extensión de lesiones en cavidad oral o infecciones virales que ocasionan inmunosupresión, favoreciendo la putrefacción”. Concluyendo que la causa de muerte fueron los daños bacterianos en pulmón y riñones.

- CASO 10

Especie: *Trachemys scripta* (tortuga de orejas rojas). Sexo: hembra Edad: juvenil

Peso: 850gr Talla: 20cm

La remitieron por problemas respiratorios. A la revisión se auscultaron sibilancias, se observó disnea inspiratoria, prueba de flotación positiva bilateral, insensibilidad en el tren posterior. **Sin imagen**

Diagnóstico: pulmonía infecciosa.

Se tomó muestra por aspiración laríngea para estudio bacteriológico

Resultados de análisis bacteriológico y prueba de susceptibilidad:

Agentes: a) *Actinobacillus spp* b) *Yersinia spp* c) *Actinobacillus salpingitidis*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) a) *Actinobacillus spp*

Aceite esencial de tomillo: 4 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 1 cm. No se aplicó. 3.2 cm. 3 cm. 2 cm. 2.4 cm.

Imagen 44.

b) *Yersinia spp*

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) b) *Yersinia spp*

Aceite esencial de tomillo: 4.2 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 0.0 cm. No se aplicó. 3.3 cm. 3.8 cm. 1.4 cm. 2.8 cm.

Imagen 45.

Antibacteriano/Susceptibilidad (diámetro en cm) c) *Actinobacillus salpingitidis*

Aceite esencial de tomillo: 4.7 cm.

Ampicilina. Carbencilina. Cefazolín. Enrofloxacina. Florfenicol. Sulfas. Tetraciclinas.

No se aplicó. 0.0 cm. No se aplicó. 0.0 cm 3 cm. 0.0 cm. 1.6 cm.

Imagen 46.

Terapia clínica.- No se desarrolló ya que el paciente murió antes de empezar el tratamiento.

5) Sistematización de datos

Se realizó un manejo estadístico no paramétrico por medio de análisis de tablas de contingencia para los resultados bacteriológicos, en los cuales puede observarse que el aceite esencial del *Thymus vulgaris*, fue el único que presentó actividad en todas las pruebas de susceptibilidad, situándose entre los rangos de intermedia (37.03%) a alta (62.96%)(Gráfica 1); a diferencia de los antibacterianos convencionales comparados, donde todos presentaron al menos algún caso de resistencia bacteriana; de estos el cefazolín (Gráfica 2) y la ampicilina (Gráfica 3) fueron en más de 80% de las pruebas de susceptibilidad inactivos, teniendo los peores resultados, seguidos por la carbencilina

(Gráfica 4) con más de 60% y las tetraciclinas con casi el 50% (Gráfica 5); por el contrario 4 antibacterianos tuvieron más de 60% de alta susceptibilidad los cuales fueron enrofloxacin (Gráfica 6), sulfas (Gráfica 7), florfenicol (Gráfica 8) y el aceite esencial de *Thymus vulgaris*. El resultado de la susceptibilidad por bacteria para el tomillo fue:

- Aeromonas hydrophila*. 3 casos: 100% alta.
- Actinobacillus spp* 1 caso: 100% alta.
- Actinobacillus salpingitidis* 1 caso: 100% alta.
- Citrobacter freundii* 3 casos: 66% alta, 33% intermedia.
- Enterobacter aerogenes* 2 casos: 50% alta, 50% intermedia.
- Escherichia coli* 3 casos: 33% alta, 66% intermedia.
- Klebsiella pneumoniae* 1 caso: 100% intermedia.
- Pasteurella spp* 1 caso: 100% intermedia.
- Proteus vulgaris* 3 casos: 66% alta, 33% intermedia.
- Proteus mirabilis* 1 caso: 100% alta.
- Pseudomonas maltophilia* 2 casos: 100% intermedia.
- Pseudomonas spp* 1 caso: 100% alta.
- Serratia spp* 1 caso: 100% alta.
- Salmonella arizonae* 3 casos: 66% alta, 33% intermedia.
- Yersinia spp* 1 caso: 100% alta.

DISCUSIÓN.

1) Aceite esencial de *Thymus vulgaris*

Considerando la gran variedad de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, es muy probable que su actividad antimicrobiana no sea atribuible a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios de ellos. En el caso de las bacterias Gram negativas, los aceites esenciales se introducen a través de los lípidos de la membrana celular, alterando su estructura y haciéndolas más permeables, como consecuencia tiene lugar una fuga de iones y de otros contenidos celulares de forma más o menos intensa, que puede llevar a la muerte celular (34). Por otro lado, se menciona que a diferencia de los antibacterianos convencionales, las plantas al ser polifármacos, presentan dos tipos de acción: la directa y la indirecta; en este caso la primera actúa sobre las bacterias y la segunda provoca cambios en los tejidos, modificando su naturaleza y volviéndose un medio hostil para el desarrollo bacteriano, así como estimulando el sistema inmune del paciente (21).

2) Casos clínicos.

Lo primero que se debe señalar, es que los animales se mantuvieron en la misma área de hospitalización donde fueron diagnosticados, manteniendo constantes los factores de humedad y temperatura que tenían desde antes de diagnosticarse; se aislaron en terrarios y acuarios individuales, disminuyendo el factor de estrés poblacional; la alimentación no varió. No fue un estudio clínico controlado tanto por ser diferentes especies, edades, sexos e infecciones, como porque no hubo un número significativo de animales ni se estableció un grupo testigo. Dadas las características del estudio, era imposible inocular animales para este fin, la temática fue trabajar con los animales que fueran presentando enfermedades bacterianas y necesitaran un tratamiento clínico para restaurar la salud, empleando para tal fin el aceite esencial de tomillo como principio activo. De 10 casos clínicos tratados con aceite esencial de tomillo, 9 se curaron y 1 murió, aunque de este, la necropsia no mostró indicios de que el aceite esencial halla

tenido relación con el deceso, además de que *in vitro* la *Klebsiella pneumoniae* ya no apareció; pese a este dato, considero que fue positivo el tratamiento en 90% de los casos y negativo en 10%. De los casos de aplicación local, el porcentaje de efectividad fue de 100%.

3) Fitofármacos.

Todos los casos de lesiones locales mejoraron con un promedio de 1.5 días de aplicación de glicerina al 1% y 3.7 días de aplicación en el caso del aceite de aguacate como vehículo a concentración de 0.1mg de aceite esencial/ml de aceite de aguacate (cuadro 4), sólo en el caso 02 hubo una necrosis fuerte predisponiendo a una segunda infección, aquí se ha reportado que el aceite esencial puede ser dermocáustico.(35), además la glicerina deshidrata tejidos lo que posiblemente sucedió ya que se aplicó cada 12 horas durante 7 días, al final la lesión se curó al hacer las adecuaciones pertinentes (Caso 02a). En los 2 casos de aplicación oral, el primero se curó, siendo la mejor dosis la basada en la media corporal durante 5 días de tratamiento con una aplicación diaria; el segundo falleció, sin embargo el reporte de patología del estudio postmortem, descartó que el aceite esencial halla estado involucrado, lo que elimina alguna relación con el tomillo como causa de la muerte, además en este caso, el agente patógeno, la *Klebsiella pneumoniae*, en los estudios bacteriológicos de pulmón, ya no apareció.

4) Análisis bacteriológico de muestras clínicas.

De las 15 bacterias encontradas, las que se reportan como comunes en infecciones en reptiles son: *Aeromonas spp*, *Pseudomonas spp*, *Citrobacter freundii*, *Serratia spp*, *Proteus spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Salmonella spp*, *Enterobacter spp* y *Pasteurella spp* (6); *Yersinia spp* ha sido poco reportada en reptiles, y *Actinobacillus spp* no es común, en el caso de *Actinobacillus salpingitidis*, principalmente se menciona en pollos.

La susceptibilidad de los antibacterianos convencionales está dividida en 3 rangos: resistente, intermedia y alta (31), en el caso del aceite esencial se reportan 4: nula, baja, media y alta (21), para lo cual, por razones de concordancia, en el caso del tomillo los rangos de baja y media las incluí en uno solo: intermedio, con el fin de estar en concordancia con los convencionales (cuadro 5), así en las 27 pruebas de susceptibilidad, la escala de efectividad del aceite esencial fue la siguiente:

Según los parámetros de Messing y Schroeder. Con las adecuaciones que realicé

para fines de concordancia.

Alta: 17 = 62.96%

Alta: 17 = 62.96%

Media: 8 = 29.62%

Intermedia: 10 = 37.03%

Baja: 2 = 7.40%

Nula: 0 = 0.0%

Nula: 0 = 0.0

5) Sistematización de datos.

Se puede establecer que los antibacterianos de elección serían elegidos por un lado, con base en los que hallan tenido un alto porcentaje de susceptibilidad, en este caso con más de 60% de efectividad fueron: enrofloxacina, florfenicol, sulfas y el aceite esencial; y por otro lado de esos se elegirían los que menos problemas secundarios puedan generar, para lo cual es importante tomar en cuenta las consideraciones clínicas que para enrofloxacina.(6), sulfas (7) y florfenicol (7) se reportan, de las consideraciones reportadas para el aceite esencial de tomillo (36), en todos los casos administrado tanto local como oralmente, en los tiempos y concentraciones que se aplicó no se generaron problemas. De estos 4 antibacterianos con mayor susceptibilidad, el tomillo fue el único que no presentó un solo caso de resistencia bacteriana.

CONCLUSIÓN.

El establecer un referente médico donde se sustente la aplicación *in vivo* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* para contrarrestar lesiones bacterianas en reptiles, no es posible con este estudio, sin embargo se deja un precedente de la integración médica del aceite esencial del tomillo como antibacteriano, en el manejo clínico de lesiones bacterianas en los reptiles del Herpetario de la Facultad de Ciencias de la UNAM,

Bacteriológicamente se comprobó *in vitro* un efecto de susceptibilidad del aceite esencial que fue de intermedio a alto en el 100% de agentes bacterianos identificados.

Por el lado clínico la relación de animales curados y no curados fue de 9:1, es decir, en el 90% de casos clínicos, mientras en los casos locales fue de 100%.

Si bien no se puede comprobar que *in vivo* el aceite esencial tuvo algo que ver en los procesos de curación, si se puede pensar que exista una relación, dados los resultados de efectividad de 100% *in vitro* y 90% *in vivo*.

Se establece entonces que el aceite esencial de *Thymus vulgaris*, puede ser considerado como una posibilidad médica en el manejo clínico de lesiones bacterianas de reptiles en cautiverio.

Es necesario realizar estudios de farmacocinética y farmacodinamia del aceite esencial de tomillo en reptiles por medio de un manejo controlado, con un número significativo de animales y formando un grupo testigo, con el fin de establecer de manera más precisa dosis y frecuencias de aplicación así como toxicidad.

Mientras tanto queda aquí un primer paso para ahondar el abanico de posibilidades terapéuticas en cuanto a herbolaria médica y clínica herpetológica se refiere.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Biodiversidad México. Instituto Nacional de Ecología. Consultado en:
<http://www.ine.gob.mx/con-eco-biodiversidad> Revisado el 25-05-10.
- 2.- Challenger, Antony. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: Pasado, presente y futuro. México. UNAM, Instituto de Biología. 1998.
- 3.- CONABIO. Recursos Naturales. Comisión Nacional para Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México. Revista Biodiversitas núm. 65 año 2006.
Consultado en: <http://www.conabio.gob.mx/biodiversidad/lbio.html> Revisado el 2009-09-09.
- 4.- Wobeser, Gary. Diseases in wild animals. Investigation and Management. 2.3 Problems related to lack of knowledge about the animals. 2a ed. Springer Distribution Center. Alemania. 2007. página: 23.
- 5.- Page, D and Mautino, M. Clinical Management of Tortoises. Johnston Dudley mvsc editor. Exotic Animal Medicine in Practice. Vol. 2 The Compendium Collection. EUA 1991. página: 80.
- 6.- El Manual Merck de Veterinaria. 3ª edición. Centrum Madrid, España. 1988.
páginas: 1165; 1165; 1166 y 1166 – 1168.
- 7.- Mader, D. Reptile Medicine and Surgery. 2ª ed. Ed. Saunders EUA 1996. páginas: 117, 230; 655; 649; 653 y 649
- 8.- Frye, Frederic. Biomedical and Surgical: Aspects of captive reptile husbandry. Volumen 1. Krieger Publishing Company. EUA. 1991. páginas: 144 y 26.
- 9.- Gardenr, S. 1. Introduction to reptilian toxicology. Oberdörster. E. editor. Toxicology of reptiles. New perspectives: Toxicology and environment. Taylor and Francis. E.U.A. 2006. páginas: 140-141

- 10.-** Ramírez Antonio. Foro reptiles/El Hospital/Usos de terapia antimicrobiana en reptiles. Consultado en: <http://www.fororeptiles.org/cgi-bin/forum/Blah.pl?v-print/m-1194367899/> Revisado el 2009-09-09.
- 11.-** Archivos clínicos del Herpetario de la Facultad de Ciencias. Años 1999, 2001, 2002 y 2003.
- 12.-** Memorias de la primera jornada sobre Herbolaria Medicinal en Veterinaria Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1993.
- 13.-** Índice de Plantas Medicinales 05. Consultado en: http://www.canal-medicina.es/Medicina_Natural/000_thymus_vulgaris_plantas_medicinales_01.htm Revisado el 2009-09-07
- 14.-** Daniel, M. Medical Plants: Chemistry and Propertis. Science Publishers. E.U.A. 2006. páginas: 68-71.
- 15.-** Departamento de Ingeniería Agrónoma y Contenidos. El cultivo del tomillo. Consultado en :<http://www.infoagro.com/aromaticas/tomillo.htm> Revisado el 2009-09-01.
- 16.-** Tomillo. Poscosecha. Consultado en: <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-tomillo.html> Revisado el 2009-11-09.
- 17.-** El árbol de la vida. Plantas Medicinales. Tomillo. Consultado en: <http://www.elarboldelavida.net/tomillo-pl-109.html>. Revisado el 2009-09-02
- 18.-** Chieregin.P. Farmacia verde. Manual Práctico de Herbolistería. España. Mundi Prensa 2000. páginas: 217-223.
- 19.-** Simoes, CMO; Schenkel EP, Gosmn G., Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. Ed. da UFRGS/ed. da UFSC, Porto Alegre, RS/Floranópolis, SC, 2004, página: 1002.
- 20.-** Eric W. Martin, E. Fullerton Cook, E. Emerson Leuallen, Arthur Osol, Linwood F. Tice y Clarence T. Van Meter. Farmacia Práctica de Remington. Instituto cubano del libro. Cuba 1965. páginas: 830-831.

21.- Durreford, C.; Hervicourt, L.D. and Lapraz,C.J. Cuadernos de fitoterapia clínica. Vol. 2 Masson. Bolivia. 1986. p. 10-11; 17, 59 y 66-67; Vol. 1. p: 12; 18 y 20; Vol. 3. p: 8; 20-21; 49; 53 y 72; Vol. 4.p: 7; 21-22 y 55; Vol. 2: 53; Vol. 1: 10 y 16.

22.- M.E. Sánchez, D.A. García, M.A.Perillo, R.H. Marín y J.A. Zygadlo.

El timol afecta la unión de flunitrazepam al receptor GABAA y posee efectos sedativos en pollos. Cátedra de Química Biológica, Cátedra de Productos Naturales. FCEFYN. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 2002.

23.- Luciana de Souza Prestes, Ricardo Frascolla, Rosema Santin, Marco Aurelio Ziemann dos Santos, Renata Costa Schram, María Regina Alves Rodrigues, *et al.*

Actividad de extractos de orégano y tomillo frente a microorganismos asociados con otitis externa en perros.

Revista Cubana de Plantas Medicinales. Versión on line ISSN 1028-4796. Rev. Cubana Plan. Med. V.13 n.4 Ciudad de la Habana sep-dic.2008

24.- Felder, Richard. Principios elementales de los procesos químicos. Capítulo 6 Sistemas multifásicos. 3ª ed. Ed. Limusa Wiley. EUA. 2004. página: 237.

25.- Laboratorio de química. Destilación por arrastre con vapor: los fundamentos.

Consultado en <http://labquimica.wordpress.com/2007/10/03/destilacion-por-arrastre-con-vapor-los-fundamentos/> revisado el 3-12-09

26.- Brian W, Fox. Laboratory Techniques in biochemistry and molecular biology.

Volumen 5 Chapter 9. Electrophoresis, centrifugation and chromatography on solid supports.9.3.2. Paper chromatography. Edit. Work, T.S and Work, E. Holland 1976. páginas: 196-198

27.- Rodwell, Victor and Kenelly, Peter. Bioquímica Ilustrada. Capítulo 4 Proteínas:

Determinación de la estructura primaria. Ed. El Manual Moderno 16ª ed.. México 2004. páginas: 131-132.

- 28.-** Carter, G.R. Bacteriología y Micología Veterinarias. Aspectos esenciales. Capítulo 8: Procedimientos generales para examen bacteriológico y micológico de muestras biológicas. Ed. El Manual Moderno. México 1994 páginas: 175-176, 180.
- 29.-** Manual de Prácticas del Laboratorio de Bacteriología y Micología Veterinarias. FMVZ.UNAM. páginas: 33-36; 29; 141; 153; 155; 157; 142; 139-140 y 148-149.
- 30.-** Jang, S.S. Biberstein, E.L. and Hirsh, D.C. A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Micology. Universidad de Davis, California. Revised Edition 1998.
- 31.-** Becton, Dickinson and Company. BD discos BBL sensi-discos para el análisis de susceptibilidad antimicrobiana. EUA.2003.
- 32.-** O'Rourke, Dorcas and Schumacher, Juerguen. Laboratory animal medicine. 18 Biology and diseases of reptiles. 2ª edición. Academic press. E.U.A. 2002 página: 849.
- 33.-** M.Andrew Stamper D.V.M., Marck G. Papich D.V.M., M.S., Gregory A. Lewbart M.S. V.M.D., Stuart B. May B.A., Delta D. Plummer, and Michael K. Stoskopf D.V.M., Ph.D. Journal of Zoo and Wildlife Medicine 34 (1):3-8. 2003.
- 34.-** Zekaria, Dan. Los aceites esenciales. Una alternativa a los antimicrobianos. Consultado en:
http://www.calier.es/pdf/Microsoft_Word__Aceites_esen_como_promotores.pdf
Revisado el 30-09-09.
- 35.-** Tomillo: Efecto tóxico. Consultado en:
<http://www.hierbitas.com/nombrecomun/Tomillo.htm>. Revisado el 20097-10-27.
- 36.-** El cultivo del tomillo. 8.2.- toxicidad. Consultado en:
<http://www.infoagro.com/aromaticas/tomillo.htm>. Revisado el: 2010-01-23

IMÁGENES.



Imagen 1

Cromatografía en placa de sílice Hexano 100%. La del lado izquierdo corresponde al aceite obtenido en primera instancia, la del lado derecho corresponde al aceite obtenido en segunda instancia.

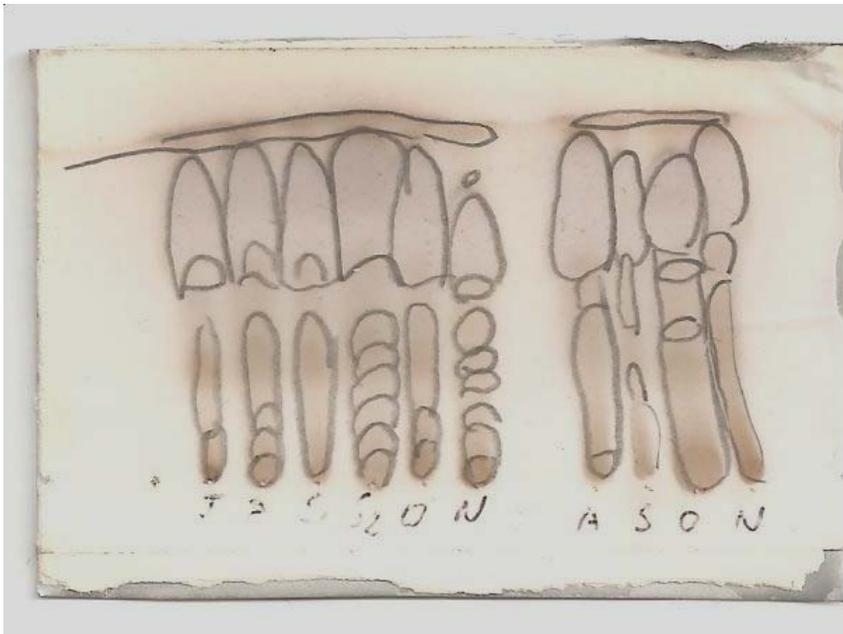


Imagen 2

Cromatografía en placa de sílice 9:1 Hexano:Acetato

La izquierda corresponde a los aceites obtenidos por mes de primera instancia, el de la derecha también es el total por mes del aceite obtenido en segunda instancia.

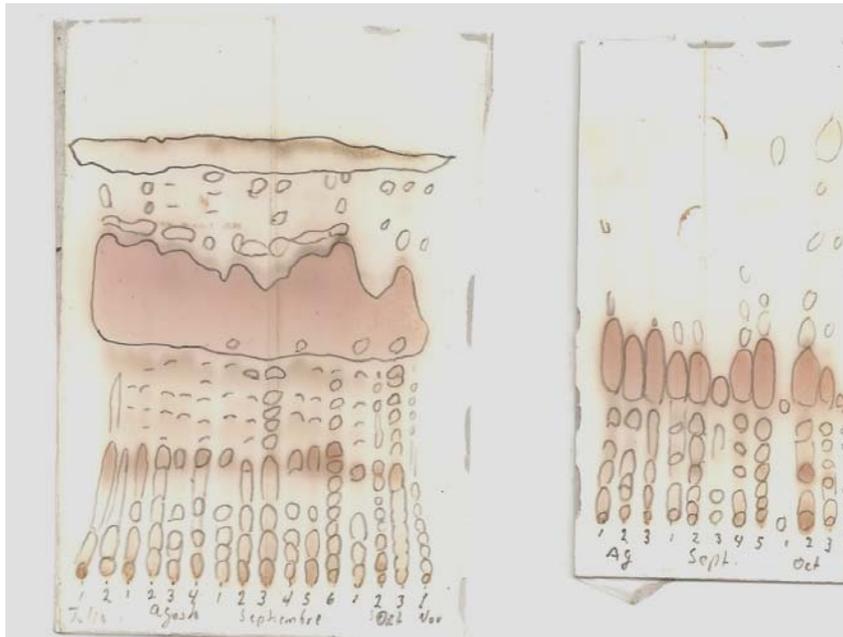


Imagen 3

Cromatografía en placa de sílice concentración Hexano: Acetato 9:1

La del lado izquierdo corresponde al aceite esencial que se obtuvo en primera instancia en la destilación: La del lado derecho corresponde al aceite esencial recuperado del agua reposada de las destilaciones, es el aceite obtenido en segunda instancia.



Imagen 4. Caso clínico 01. Diagnóstico: otitis infecciosa bilateral.



Imagen 5. Susceptibilidad: *Aeromonas hydrophila*. Caso clínico 01.



Imagen 6. Caso clínico 01. Resolución: se curó.

CASO 02

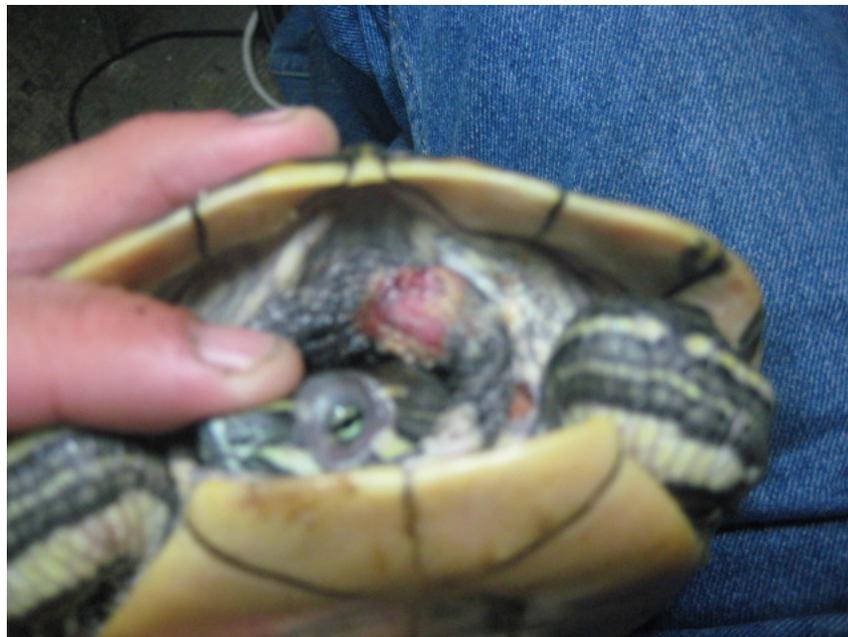


Imagen 7. Caso clínico 02. Diagnóstico: herida infectada en nuca.



Imagen 8. Susceptibilidad: *Aeromonas hydrophila*. Caso clínico 02.



Imagen 9. Susceptibilidad: *Pseudomonas maltophilia*. Caso clínico 02.



Imagen 10 Susceptibilidad: *Enterobacter aerogenes*. Caso clínico 02.

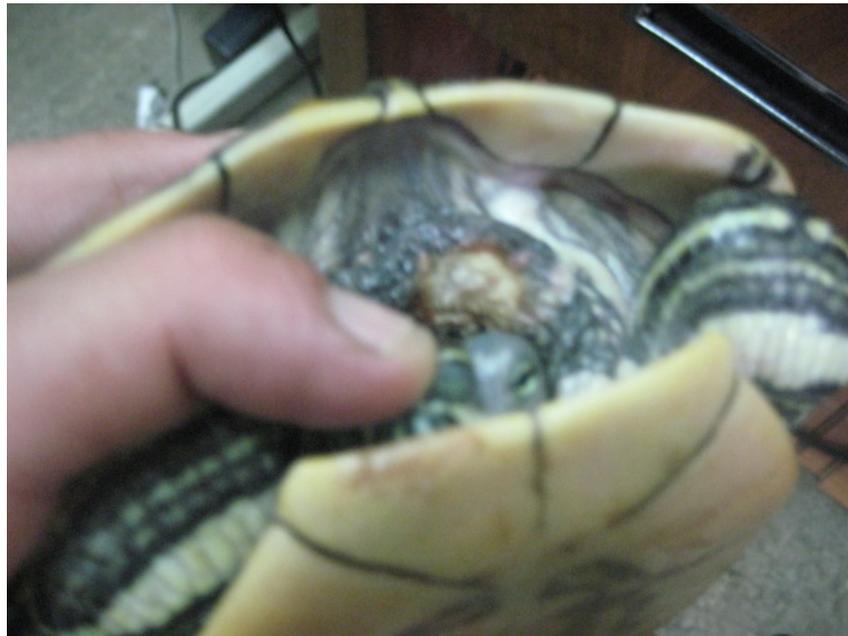


Imagen 11. Caso clínico 02. Resolución: laceraciones en tejido.

CASO 02a



Imagen 12. Caso clínico 02^a. Diagnóstico: laceraciones e infección en nuca



Imagen 13. Caso clínico 02^a. Resolución: se curó.

CASO 03



Imagen 14. Caso clínico 03. Diagnóstico: estomatitis infecciosa.



Imagen 15. Susceptibilidad: *Proteus vulgaris*. Caso clínico 03



Imagen 16. Caso clínico 03. Resolución: se curó.

CASO 04



Imagen 17. Caso clínico 04. Diagnóstico: otitis infecciosa derecha.



Imagen 18. Susceptibilidad: *Citrobacter freundii*. Caso clínico 04.



Imagen 19. Caso clínico 04. Resolución: se curó.

CASO 05



Imagen 20. Caso clínico 05. Diagnóstico: infección en opérculo derecho.

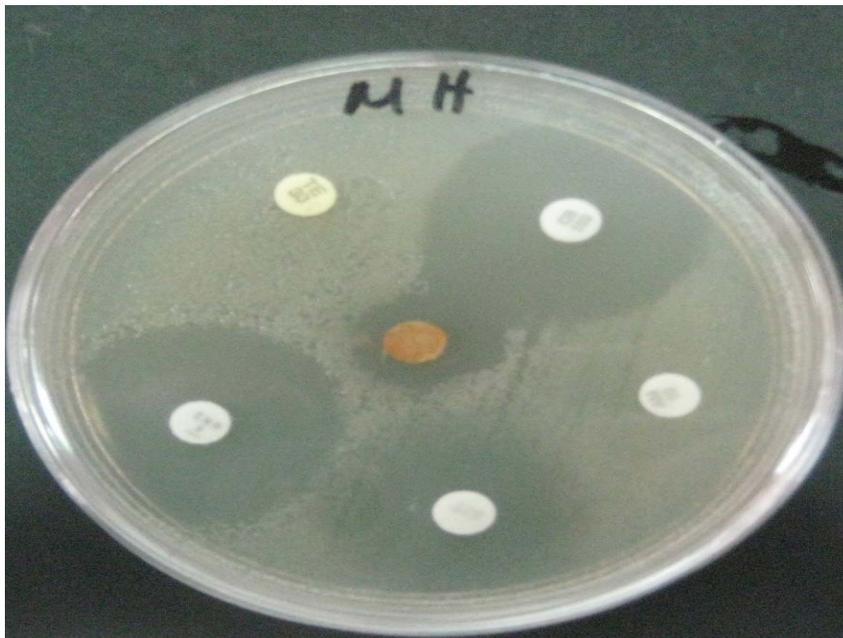


Imagen 21. Susceptibilidad: *Enterobacter aerogenes*. Caso clínico 05.



Imagen 22. Caso clínico 05. Resolución: se curó.

CASO 06



Imagen 23. Caso clínico 06. Diagnóstico: prolapso cloacal.



Imagen 24. Susceptibilidad: *Escherichia coli*. Caso clínico 06.

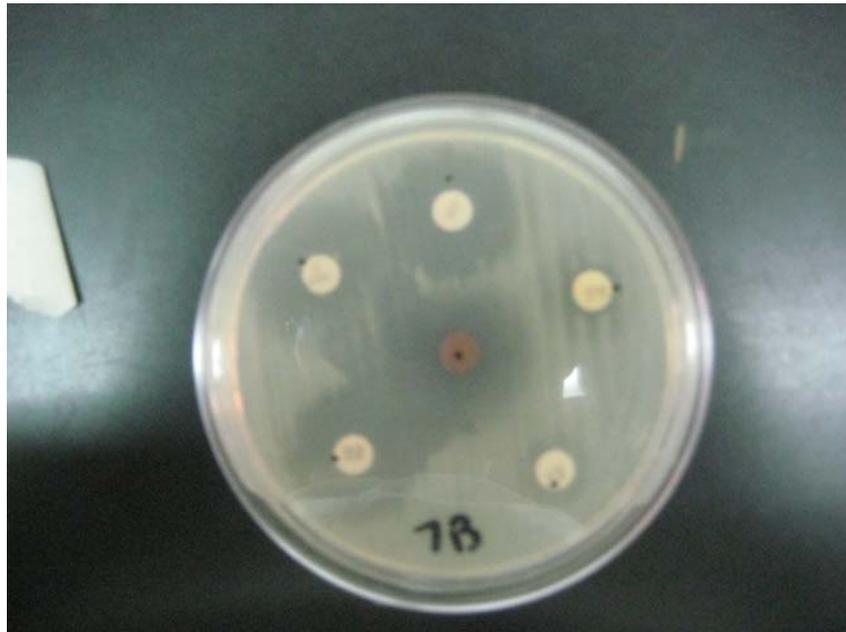


Imagen 25. Susceptibilidad: *Citrobacter freundii*. Caso clínico 06.



Imagen 26. Caso clínico 06. Resolución: se curó.

CASO 07



Imagen 27. Caso clínico 07. Diagnóstico: herida infectada en mano derecha

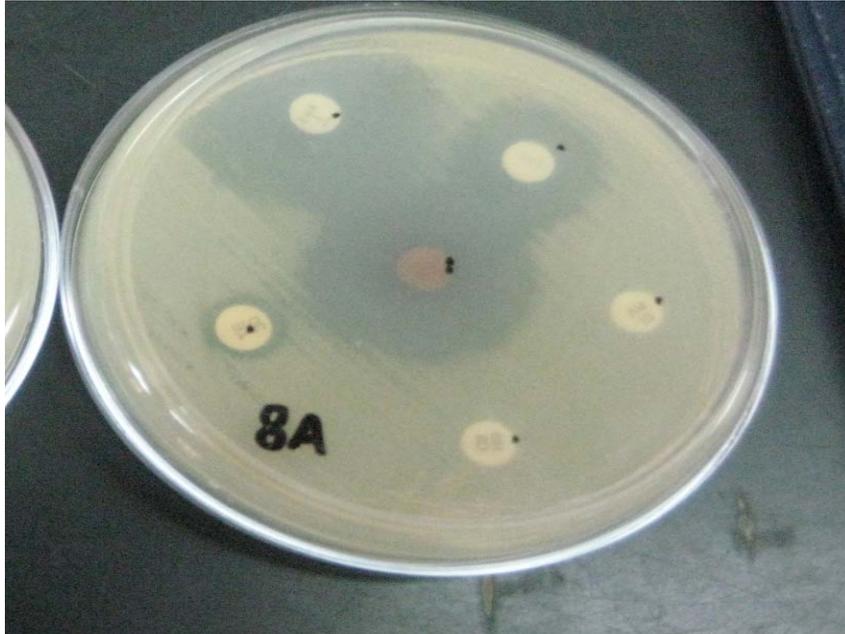


Imagen 28. Susceptibilidad: *Aeromonas hydrophila*. Caso clínico 07.

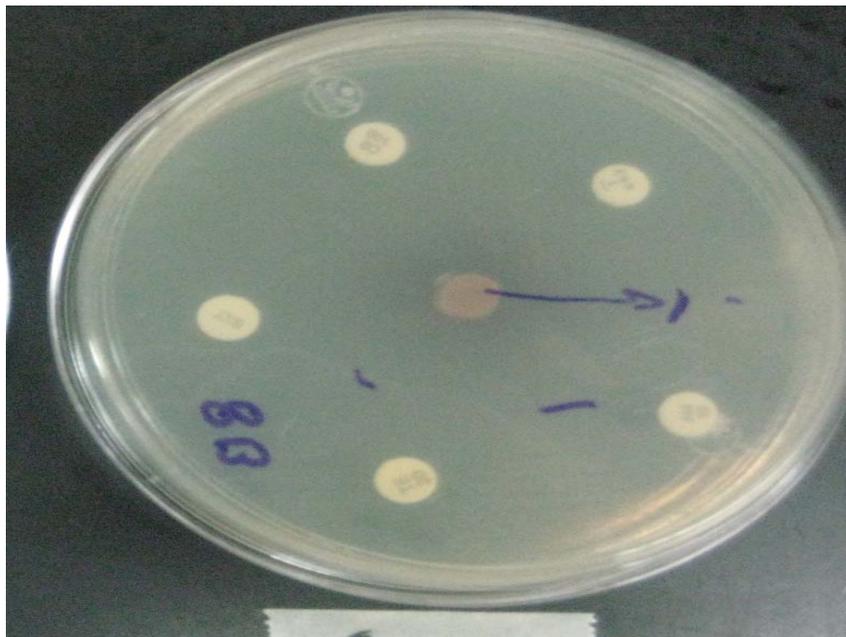


Imagen 29. Susceptibilidad: *Pseudomonas spp.* Caso clínico 07.



Imagen 30. Caso clínico 07. Resolución: se curó.

CASO 08



Imagen 31. Caso clínico 08. Diagnóstico: estomatitis traumática e infecciosa.

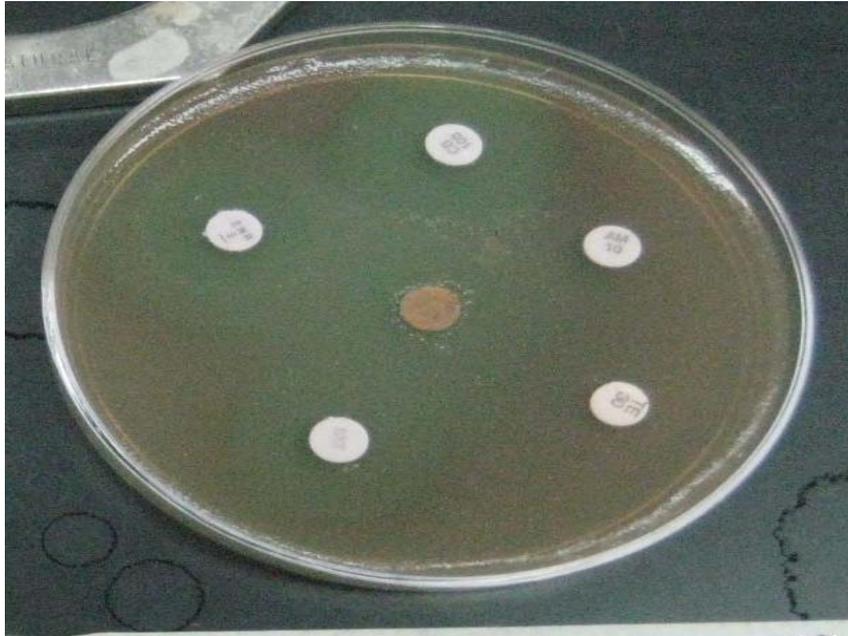


Imagen 32. Susceptibilidad: *Pseudomonas maltophilia*. Caso clínico 08.

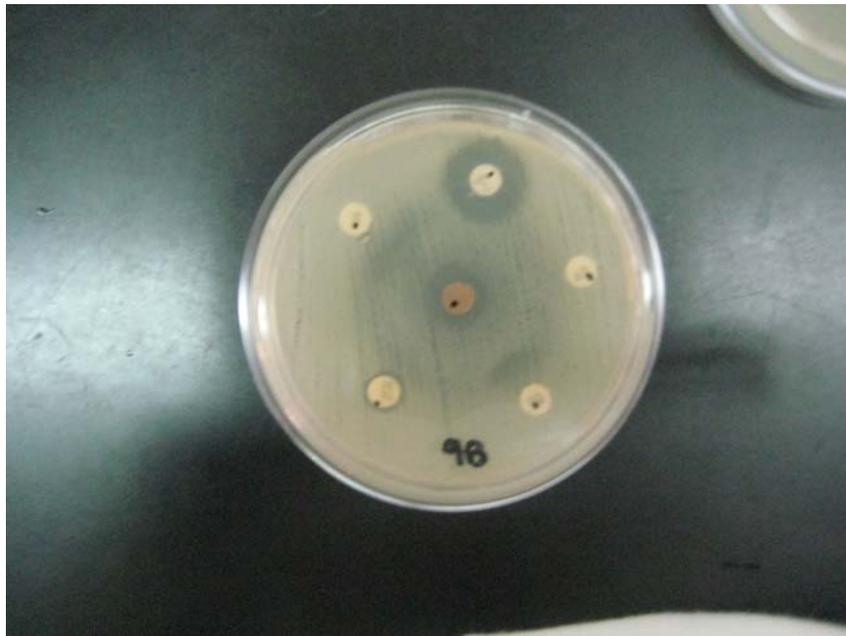


Imagen 33. Susceptibilidad: *Salmonella arizonae*. Caso clínico 08.



Imagen 34. Caso clínico 08. Resolución: se curó.

CASO 09



Imagen 35. Caso clínico 09. Diagnóstico: bronconeumonía bacteriana.



Imagen 36. Susceptibilidad: *Klebsiella pneumoniae*. Caso clínico 09.



Imagen 37. Susceptibilidad: *Proteus vulgaris*. Caso clínico 09.

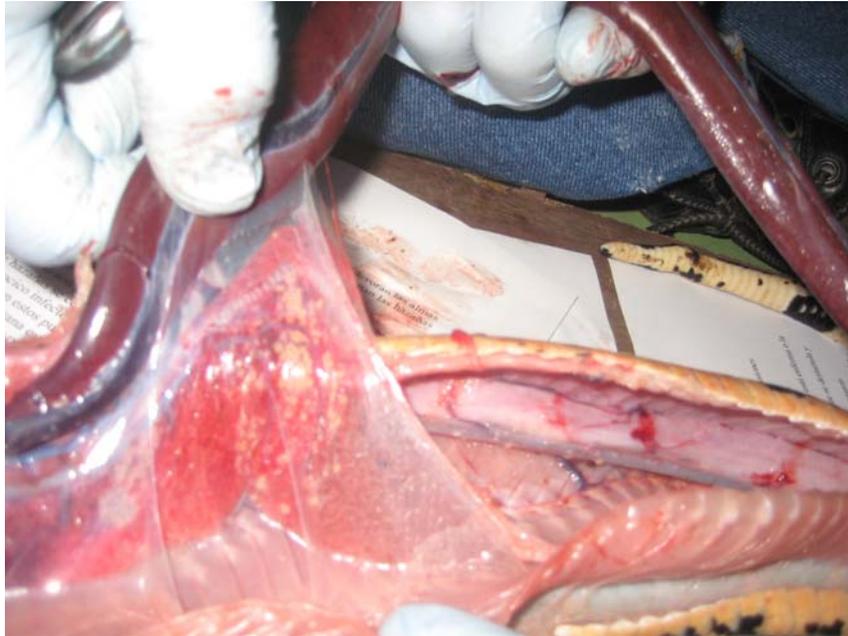


Imagen 38. Caso 09. Necropsia: Granulomas en la región distal del pulmón.



Imagen 39. Susceptibilidad: *Proteus mirabilis*. Caso clínico 09^a.

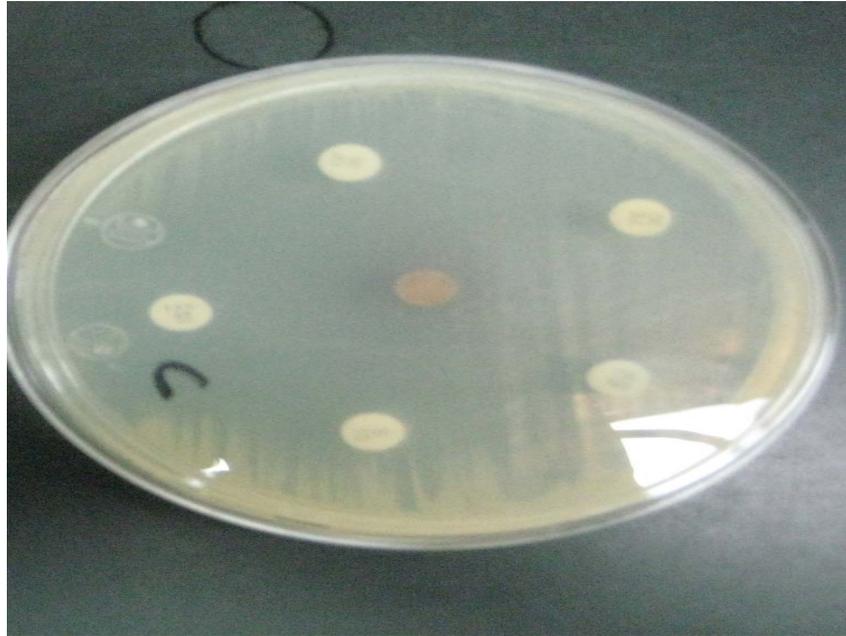


Imagen 40. Susceptibilidad: *Proteus vulgaris*. Caso clínico 09^a.



Imagen 41. Susceptibilidad: *Serratia spp.* Caso clínico 09^a.



Imagen 42. Susceptibilidad: *Citrobacter freundii*. Caso clínico 09^a.

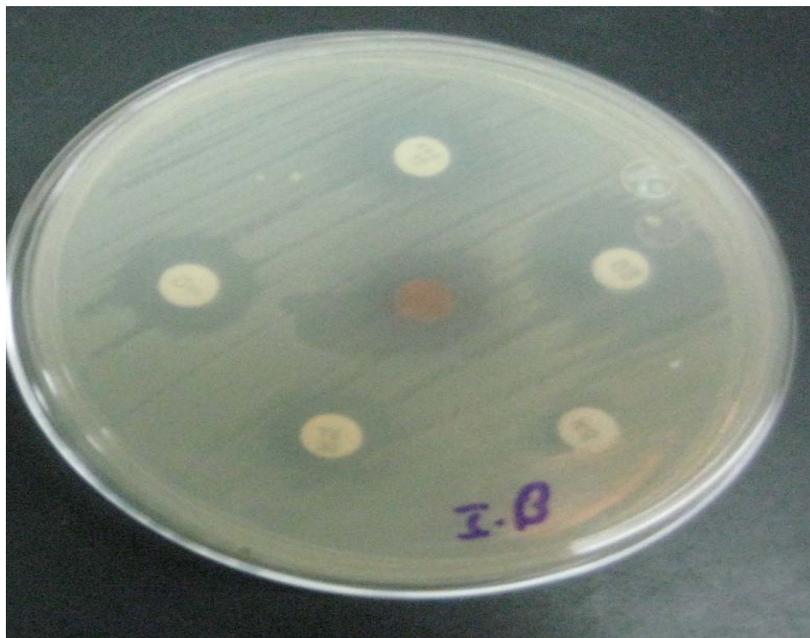


Imagen 43. Susceptibilidad: *Escherichia coli*. Caso clínico 09^a.

CASO 10



Imagen 44. Susceptibilidad. *Actinobacillus spp.* Caso clínico 10.

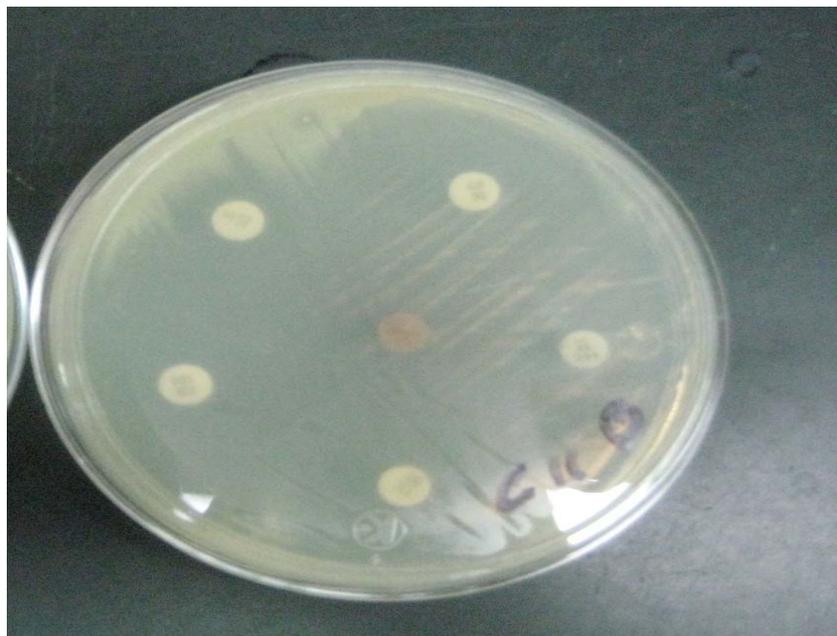


Imagen 45. Susceptibilidad: *Yersinia spp.* Caso clínico 10.



Imagen 46. Susceptibilidad: *Actinobacillus salpingitidis*. Caso clínico 10.

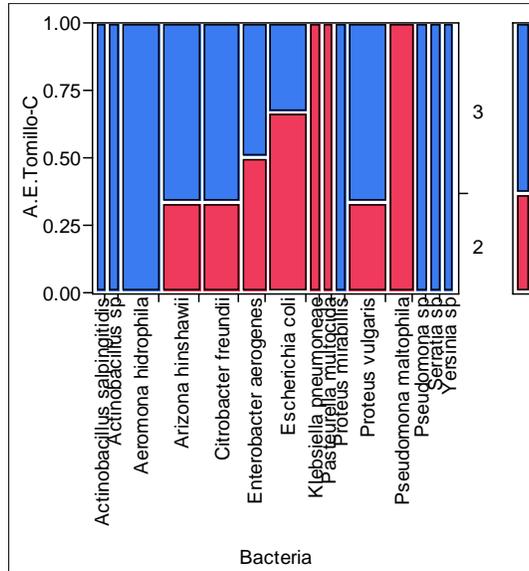
GRÁFICAS

-Análisis de tablas de contingencia por medio de la prueba de χ^2 cuadrada.

Susceptibilidad de cada antibacteriano, frente a todas las bacterias desafiado.

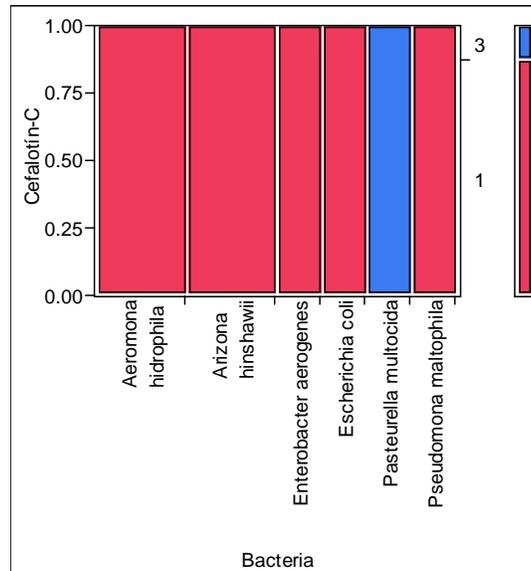
Valores de sensibilidad: 1=nula 2=intermedia 3=alta

Contingency Analysis of A.E.Tomillo By Bacteria Mosaic Plot



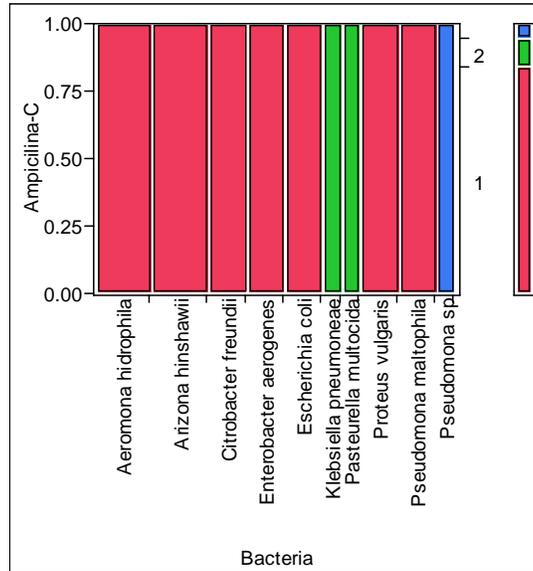
Gráfica 1.- El aceite esencial del *Thymus vulgaris*, fue el único que en ningún caso fue resistido.

Contingency Analysis of Cefazolin By Bacteria Mosaic Plot



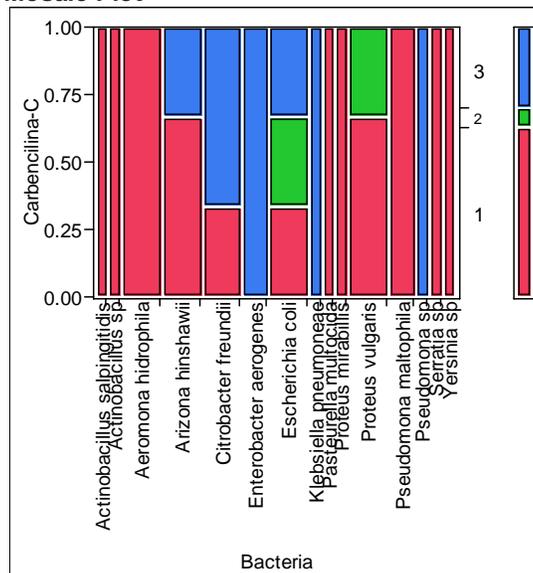
Gráfica 2. – De 8 casos empleado, para el 87.5% de las bacterias fue inactivo.

**Contingency Analysis of Ampicilina By Bacteria
Mosaic Plot**



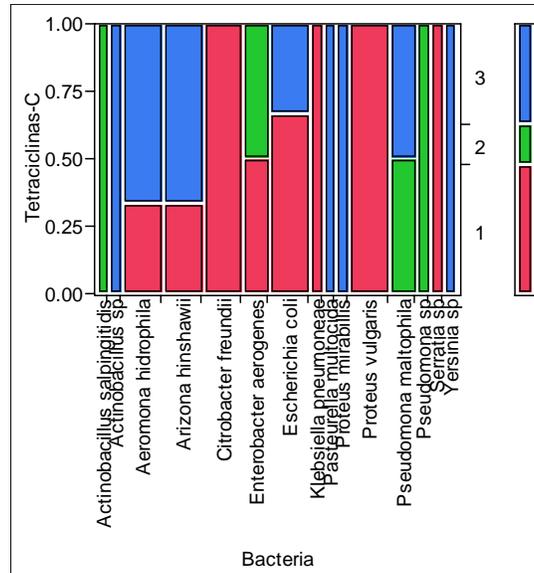
Gráfica 3.- De 19 casos, en 84.2% fue inactiva.

**Contingency Analysis of Carbencilina By Bacteria
Mosaic Plot**



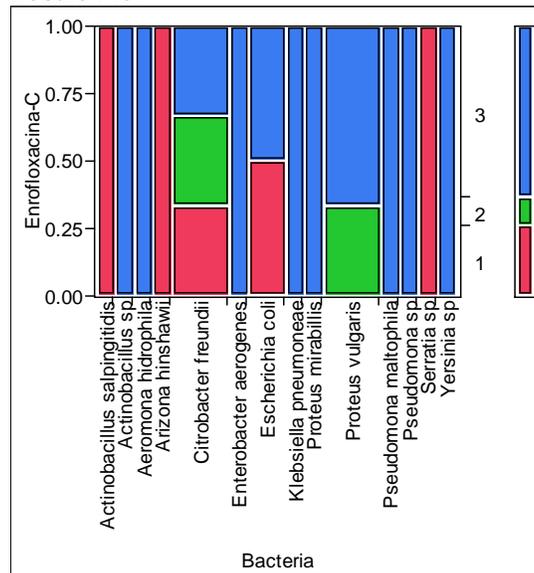
Gráfica 4.- De 27 casos, en 62.96% fue inactiva.

Contingency Analysis of Tetraciclina By Bacteria Mosaic Plot



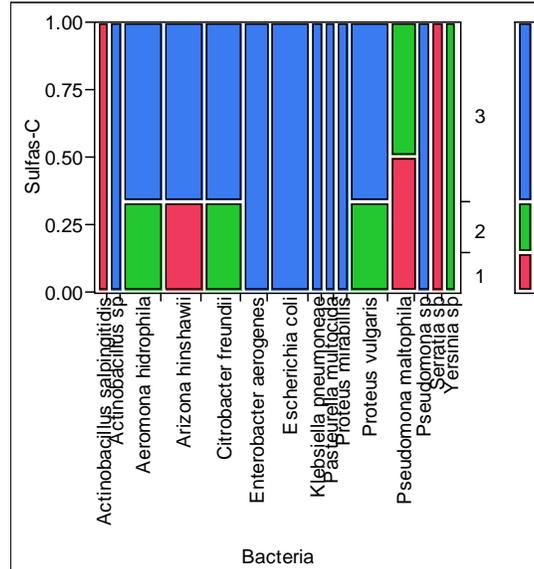
Gráfica 5.- En 27 casos, 48% fue inactiva.

Contingency Analysis of Enrofloxacin By Bacteria Mosaic Plot



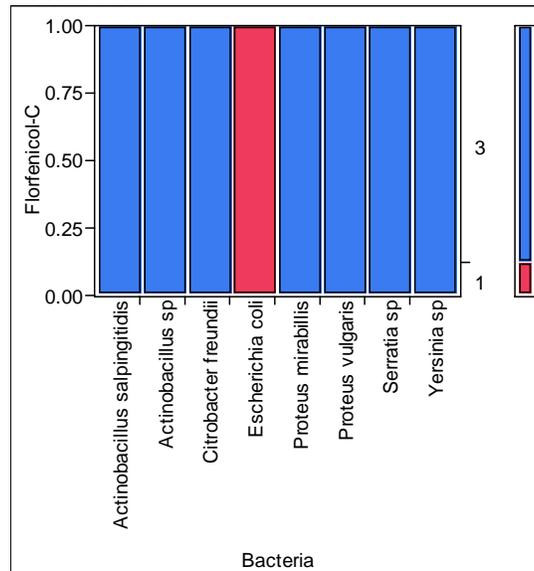
Gráfica 6.- De 19 casos, tuvo una alta susceptibilidad de 63.15%.

**Contingency Analysis of Sulfas By Bacteria
Mosaic Plot**



Gráfica 7.- De 27 casos, tuvo una alta susceptibilidad de 66%.

**Contingency Analysis of Florfenicol By Bacteria
Mosaic Plot**



Gráfica 8.- De 8 casos, tuvo una alta susceptibilidad en el 87.5%

CUADROS

Nombre científico: <i>Thymus vulgaris</i> L
Nombre común: Tomillo
Número de colecta: E. Linares 1913
Procedencia: San Esteban Tepetlixpa, Edo. de México, México.
Uso: Condimenticia, infección de la garganta. Se toma en té
Calidad: Caliente

Cuadro 1. - Ficha de colecta del *Thymus vulgaris*.

1) 1-Octen-3-ol
2) Benzeno, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-
3) Eucaliptol
4) Terpeneol, cis-á-
5) 1,6-Octadien-3ol,3,7-dimethyl-
6) Camphor
7) Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol,1,7,7-trimethyl-,(1S-endo)
8) Benzeno, 1-methoxy-4-methyl-2(1-methylethyl)-
9) Thymol
10) Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-
11) Caryophyllene
12) Naphthalene,1,2,3,4,4 ^a ,5,6,8 ^a -octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1á,4aa,8aa)-
13) Naphthalene,1,2,3,5,6,8 ^a -hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-,(1S-cis)-
14) Caryophyllene oxide

Cuadro 2. -Espectrometría de masas.

Caso clínico	Agente etiológico.
01	<i>Aeromonas hydrophila</i>
02	<i>Aeromonas hydrophila</i>
	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Pseudomonas maltophilia</i>
02a	<i>Salmonella arizonae</i>
	<i>Salmonella arizonae</i>
	<i>Escherichia coli.</i>
	<i>Pasteurella multocida</i>
03	<i>Proteus vulgaris</i>
04	<i>Citrobacter freundii</i>
05	<i>Enterobacter aerogenes</i>
06	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Escherichia coli.</i>
07	<i>Pseudomonas spp.</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>
08	<i>Salmonella arizonae</i>
	<i>Pseudomonas maltophilia</i>
09	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Proteus vulgaris</i>
09a	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Proteus vulgaris</i>
	<i>Serratia spp</i>
10	<i>Actinobacillus spp</i>
	<i>Actinobacillus salpingitidis</i>
	<i>Yersinia spp</i>

Cuadro 3.- Casos clínicos y su relación con los agentes bacterianos.

Caso	Organismo	Lesión	Agente	Fitofármaco	Forma de aplicación	Días de aplicación	¿Sanó?	Observaciones
1	<i>Trachemys scripta</i>	Otitis media	<i>Aeromonas hydrophila</i>	A.E. 9.3mg en 1ml AA	Oral	3	Si	Mejoría
				A.E. 0.92mg en 1 ml AA	Oral	3	No	Regresó exudado
				A.E. 4.65mg en 1 ml AA	Oral	3	Si	Sanó
2	<i>Crisemys scripta</i>	Herida en nuca	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Pseudomonas maltophilia</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	A.E. en glicerina al 1%	Tópica	3	Si	Desinfectó
						4	No	Necrosó-reinfectó.
2	<i>Crisemys scripta</i>	Reinfección en nuca	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella arizonae</i> <i>Salmonella arizonae</i> <i>Pasteurella multocida</i>	A.E. 0.2mg en 1 ml A.A.	tópica	3	Si	
3	<i>Boa constrictor</i>	Infección ápice maxilar der.	<i>Proteus vulgaris</i>	A.E. en glicerina al 1% A.E. 0.2mg en 1 ml de AA	tópica	1		
				A.E. en glicerina al 1%	tópica	3	Si	
4	<i>Trachemys scripta</i>	Otitis media	<i>Citrobacter freundii</i>	A.E. 0.1mg en 1 ml A.A.	tópica	1		
					tópica	3	Si	
5	<i>Tamnophis spp</i>	Infección opérculo derecho	<i>Enterobacter aerogenes</i>	A.E. 0.1mg en 1 ml A.A.	tópica	5	Si	
6	<i>Iguana iguana</i>	Prolapso cloacal	<i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	A.E. 0.1mg en 1 ml AA	pañal tópico	2	Si	
7	<i>Chelydra serpentina</i>	Herida en mano derecha	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Pseudomonas spp</i>	A.E. en glicerina al 1% A.E. 0.2mg en 1 ml A.A.	tópica guante tópico	3		
				A.E. en glicerina al 1%	tópica	3	si	
8	<i>Tamnophis spp</i>	Estomatitis	<i>Pseudomonas maltophilia</i> <i>Salmonella arizonae</i>	A.E. 0.2mg en 1 ml A.A.	tópica	1		
				A.E. 0.2mg en 1 ml A.A.	tópica	7	si	
9	<i>Boa constrictor</i>	Bronco neumonía	<i>Proteus vulgaris</i>	A.E. 94 mg en 5 ml AA	oral	1		La <i>Klebsiella</i> desapareció, el paciente murió por los daños bacterianos secundarios
			<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Actinobacillus spp</i>	A.E. 47mg en 5ml AA	oral	3	no	
10	<i>Trachemys scripta</i>	Neumonía	<i>Actinobacillus salpingitidis</i> <i>Yersinia spp</i>	No se dio tratamiento				

Cuadro 4.- Aplicaciones terapéuticas.

A.A.= Aceite de Aguacate A.E.= Aceite esencial

Duración de aplicaciones tópicas con resultado terapéutico positivo.- x de días de aplicación con

Glicerina al 1% = 1.5 días. x de días de aplicación en A.A.= 3.7días

Antibacteriano	# de desafíos	nula	intermedia	alta
	totales	Desafíos/porcentaje		
Ampicilina	19	16—84.2%	2—10.3%	1--- 5.2%
Carbencilina	27	17—62.96%	2----7.4%	8---- 29%
Cefazolín	8	7—87.5%	0---0.0%	1----12.5%
Enrofloxacina	19	5—26.3%	2----10.5%	12---- 63.15%
Florfenicol	8	1—12.5%	0---0%	7---- 87.5%
Sulfas	27	4—14.8%	5----18.5%	18---- 66%
Tetraciclinas	27	13—48.14%	4----14.8%	10--- 37%
Tomillo	27	0---0.0%	10 ----37.03%	17--- 62.96%

Cuadro 5.- Porcentaje de susceptibilidad de los antibacterianos.

Hoja clínica Fecha Hora Registro Procedencia
 Especie Sexo Edad Peso Talla
 Historia
 Clínica. _____

O _____

Temp. ambiente

Examen físico TLIC R C mucosas C _____

Temp. corporal

Observaciones _____

Tegumento	Digestivo	Respiratorio	Urogenital	Locomotor	Nervioso	Cardiovascular.

Diagnósticos diferenciales

Pruebas diagnósticas

Diagnóstico _____

Tratamiento _____

Microbiología	Hematología	Parasitología	Laboratorio clínico	Imagenología	otras

Observaciones _____

Resolución del tratamiento _____

Anexo 1: Hoja clínica.

