

EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIDIARREICA DEL GUAYTEVET EN MODELO DE DIARREA INDUCIDA CON ACEITE RICINO EN RATONES

EVALUATION OF THE ANTIDIARRHEAL ACTIVITY OF GUAYTEVET IN A CASTOR OIL-INDUCED DIARRHEA MODEL IN MICE

Alejandro Rodríguez Suárez¹

E-mail: alejandro.rodriguez@cfg.labiofam.cu

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7402-3470>

Dayamí León Naves¹

E-mail: dayami.leon@cfg.labiofam.cu

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7124-7807>

Caridad C. Rodríguez Torres²

E-mail: caridadrt@infomed.sld.cu

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1454-5904>

¹Departamento de I+D+i Empresa LABIOFAM Cienfuegos.

²Departamento de Investigaciones Toxicológicas. UEB laboratorio de Control de la calidad. Empresa Productora de Vacunas Virales y Bacterianas (EPVVB). Grupo Empresarial LABIOFAM. La Habana.

Cita sugerida (APA, séptima edición)

Rodríguez Suárez, A., León Naves, D., Rodríguez Torres, Caridad C. (2022). Evaluación de actividad antidiarreica del GuayteVet en modelo de diarrea inducida con aceite ricino en ratones. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(3), 175-181. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>

RESUMEN

Las plantas medicinales constituyen una valiosa alternativa terapéutica y su validación científica es una necesidad. Para el ensayo se emplearon ratones hembras de 6-7 semanas, pertenecientes a la línea OF1, un peso entre 25-30 g. Formaron tres grupos experimentales de cinco animales cada uno. Las sustancias suministradas por vía oral mediante canulación intragástrica y 30 min después se administró 0,5 mL de aceite de ricino a los grupos Control negativo y GuayteVet. En el fondo de cada caja se colocó papel para facilitar la observación y conteo de heces (sólidas, semisólidas y diarrea) durante tres horas. Concluido el estudio los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. El GuayteVet mostró disminución y retardo en la aparición de deposiciones sólidas y semisólidas respecto al control negativo y control blanco, tras la primera hora de administrado el aceite de ricino. Durante la segunda hora, el número de deposiciones diarreicas fue similar al control negativo y se apreció un incremento respecto a la primera hora post tratamiento. Durante la tercera hora, las diarreas en el grupo GuayteVet fueron 1,77 veces inferiores a las del control negativo, representa una inhibición de las diarreas en un 43,75 % respecto al control negativo. El efecto antidiarreico del GuayteVet a las tres horas fue 2,72 veces superior al comportamiento observado a las dos horas post tratamiento.

Palabras clave:

Plantas medicinales, diarrea, aceite de ricino.

ABSTRACT

Medicinal plants constitute a valuable therapeutic alternative and their scientific validation is a necessity. For the test, 6–7-week-old female mice, belonging to the OF1 line, weighing between 25–30 g, were used. They formed three experimental groups of five animals each. The substances were administered orally by intragastric cannulation and 30 min later 0.5 mL of castor oil was administered to the Negative Control and GuayteVet groups. Paper was placed at the bottom of each box to facilitate observation and counting of feces (solid, semisolid, and diarrhea) for three hours. At the end of the study, the animals were sacrificed by cervical dislocation. GuayteVet showed a decrease and delay in the appearance of solid and semi-solid stools compared to the negative control and white control, after the first hour of castor oil administration. During the second hour, the number of diarrheal stools was similar to the negative control and an increase was observed with respect to the first hour after treatment. During the third hour, diarrhea in the GuayteVet group was 1.77 times lower than that of the negative control, representing a 43.75% inhibition of diarrhea compared to the negative control. The antidiarrheal effect of GuayteVet at three hours was 2.72 times higher than the behavior observed two hours after treatment.

Keywords:

Medicinal plants, diarrhea, castor oil.

INTRODUCCIÓN

Según Pérez, et al., (2008) Las plantas medicinales constituyen una valiosa alternativa terapéutica y su validación científica es una necesidad. La seguridad de uso y eficacia de una planta no se puede limitar al conocimiento popular, porque cada parte tiene múltiples principios activos con actividad biológica, significativamente capaces de producir efectos tóxicos. Es por ello que para su correcto uso en el tratamiento de diferentes afecciones debe ser exclusivamente con un conocimiento científico acerca de su posible toxicidad y su actividad farmacológica.

También Midence y Mendoza, (2015), aseguran que los productores ganaderos han utilizado los fitofármacos durante decenios, como una alternativa para mejorar la salud de los animales, y de esta forma incrementar las producciones. La Fitoterapia consiste en el empleo de extractos vegetales en el tratamiento de diversas enfermedades tanto en humanos como en animales. Además, el uso de los medicamentos fitoterápicos está direccionado a cubrir la demanda del mercado, donde se está haciendo cada vez más frecuente el uso de productos inocuos, con cero residualidad en carnes y otros derivados de la producción ganadera. Además, resulta evidente las ventajas que ofrece la utilización de estos productos al no presentar riesgo ambiental y evitar la farmacoresistencia desarrollada por agentes microbianos ante el uso indiscriminado de productos alopatícos.

Algunos autores como Hernández, et al., (2018), afirman que los principios activos que se encuentran presentes en la mayoría de las plantas son los responsables de la actividad sanadora de las mismas, permitiendo la recuperación clínica de animal enfermo.

Los fitofármacos han ido ganando relevancia en los últimos años, reconociéndose como una alternativa eficiente y eficaz, sin embargo, su aplicación no se encuentra ampliamente extendida. El rango de acción de estos productos en la medicina veterinaria es muy amplio. Existen investigaciones que evidencian la efectividad de diferentes plantas en el tratamiento de trastornos gastrointestinales, de piel, nerviosos, con efecto antibiótico, antiinflamatorio, antiparasitario interno y externo, entre otros (Bezerra, 2010).

La guayaba (*Psidium guajava* L.), es una planta de porte arbustivo que crece silvestre en toda Cuba y es originaria del trópico y subtropico americano. Esta se puede encontrar en bosques húmedos o secos, pastos y bosquesillos puros del árbol. Así como en plantaciones comerciales en zonas cálidas de África y Asia hasta 1 800 msnm. También es frecuente en la región de Florida, México, América Central, Costa Rica y Panamá, naturalizado en los trópicos del Viejo Mundo. (Cáceres, 1996).

Según Jimena (2018) la guayaba pertenece a:

Reino: Vegetal

División: *Spermatophyta*

Subdivisión: *Angiospermas*

Clase: *Dicotyledonea*

Orden: *Mirtales*

Suborden: *Myrtaneae*

Familia: *Myrtaceae*

Género: *Psidium*

Especie: *guajava* L

Nombre científico: *Psidium guajava* L.

Plantea Alonso (2004), que dentro los principales componentes de las hojas del guayabo se encuentran taninos (9-10 %), grasa (6 %), β -sitosterol, ácido maslínico y elágico, aceite esencial (0,1-0,3 %), triterpenoides (β -cariofileno, β -bisaboleno, aromandreno, cineol, eugenol) ácidos orgánicos (oleanólico, ursólico, cratególico y guayavólico), flavonoides derivados de quercetina como guayaverina (3-alfa arabopiranosido) y avicularina (3-arabinósido).

La conocida acción antidiarreica de *P. guajava* ha sido confirmada por numerosos estudios (Echemendía y Morón, 2004; Silva, et al., 2020). La actividad de esta planta contra el síndrome diarreico, según Cáceres (1996), se atribuye a las quercetinas presentes en las hojas y corteza, que tienen una acción antsecretora en la liberación de acetil colina e inhibidora del peristaltismo intestinal, que no es reversible por naloxona. Afirman Alonso (2004); Bermúdez, et al., (2019), que la alta presencia de taninos es la responsable de conferirle propiedades antidiarreicas a la planta, además tiene actividad farmacológica demostrada como antibacteriano, anti VIH, antioxidante, antiespasmódica, antiinflamatorio, antianémica, hemostática y sedante.

El Llantén mayor (*Plantago major* L.) es una hierba perenne y de fácil localización que presenta una altura de 15-30 cm. Su ciclo de vida oscila entre 6 – 7 meses. El tallo es un rizoma de color amarillo que mide aproximadamente 15 cm de longitud, las raíces son de tamaño uniforme de color blancas. Las hojas son de color verde, glabras con una longitud de 50 cm y 20 cm de ancho, ovaladas, las cuales se insertan al tallo por el peciolo. Nacen del suelo de forma vertical y en roseta, con margen liso, los peciolos miden 15 cm y son lisos. (Palacios y Proaño, 2018)

El llantén mayor se encuentra distribuido en casi toda Europa, África del norte, Asia occidental y América del Norte; en América Latina, desde México hasta Colombia, incluyendo Costa Rica. *Plantago major* L. es una planta muy común y fácil de hallar en zonas de pastos, laderas, cerca de cultivos y en los bordes de caminos (Torres, 1997).

Según Marroquín, (2014), el Llantén mayor se encuentra ubicado taxonómicamente en:

Reino: *Plantae*

Subreino: *Tracheobionta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Plantaginaceae*

Género: *Plantago*

Especie: *major*

Nombre científico: *Plantago major* L.

Las investigaciones realizadas sobre *P. major* han indicado la presencia de mucílago, taninos, flavonoides, (apigenina, baicaleína, luteolina, escutelarina, hispidulina), rutina, cumarinas, un glucósido cromogénico iridoide denominado aucubósido (aucubina) y otro glucósido llamado catapol, ácidos orgánicos (benzoico, cinámico, fumárico, clorogénico, gentísico, salicílico) y alcaloides (indicaína, plantagonina, noscapida). Además de otros componentes como esencias, resinas, esteroides, bases aminadas y compuestos azufrados. (Jiménez y Garro, 2017; Castillo y Martínez, 2016).

La aucubigemina es el principio activo de mayor relevancia; proviene de sustancias inactivas como polímeros de este compuesto y de la aucubina. En el proceso de catabolismo de esta sustancia, por hidrólisis, se forma un dialdehído que actúa como bactericida, ya que desnaturaliza las proteínas de ciertos microorganismos. (Ecoaldea, 2004). Durante la infusión o decocción esta enzima se destruye por efecto de la temperatura, impidiéndose la hidrólisis de la aucubina y la liberación del principio activo. (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Varias acciones de esta planta son importantes en este contexto, entre ellas, la acción astringente, la antimicrobiana, la antiinflamatoria y la cicatrizante. La actividad antiinflamatoria se ha relacionado con los iridoide heterosídicos (aucubósido) y los derivados del ácido caféico, como el plantamajósido y el actiósido. La aucubigemina es el principio responsable de la actividad antibacteriana, esta sustancia es liberada por una α -glucosidasa, que actúa sobre las proteínas de los microorganismos por lo que posee propiedades antibacterianas (Castillo y Martínez, 2016). La actividad antidiarreica se encuentra representada por la presencia de taninos, pues estos tienen la posibilidad de unirse y precipitar proteínas presentes en las secreciones intestinales. (Lasa, et al., 2010). La actividad sanadora de *P. major* no se amerita a un solo compuesto, sino a la interacción de varios; los efectos son producto de la acción en conjunto de distintas sustancias y de su regulación mutua (Berit, 2000).

Plantea Dos Santos, (2000), que la diarrea se puede definir como la presencia de heces líquidas y abundantes que reflejan una pérdida absoluta de agua y solutos en el material fecal y que puede conducir a la deshidratación, desbalance ácido-básico y pérdida notable de electrolitos. Esta patología puede estar originada por múltiples causas, como lo son infecciosas, tóxicas, alimentarias o por factores de manejo o medioambientales, pero su ocurrencia siempre debe considerarse una interacción multifactorial entre las posibles etiologías.

La ocurrencia de enfermedades gastroentéricas, afirma Rodríguez (2015), se revierte en considerables pérdidas económicas por incremento en la tasa de mortalidad, retardo en el crecimiento, pobre conversión alimenticia y por los costos en medicación. Son múltiples los tipos de agentes que pueden producir diarrea, entre ellos se encuentran virales, parasitarios y bacterianos, de allí que se trazan estrategias para su prevención partiendo de un diagnóstico eficaz. Una de las medidas más importantes para prevenir las diarreas es mantener la limpieza adecuada en los espacios que albergan los animales. (Pérez, 2019).

El Grupo Empresarial LABIOFAM tiene dentro de su misión el desarrollo y registro sanitario de medicamentos de uso veterinario para mejorar el estado de salud de los animales. Para dar cumplimiento al desarrollo y producción de productos naturales para el tratamiento de diversas afecciones en diferentes especies, la empresa LABIOFAM Cienfuegos ha desarrollado el producto natural GuayteVet, para contrarrestar afecciones del tracto digestivo; las diarreas de modo particular.

El GuayteVet es un antidiarreico oral de uso veterinario, obtenido a partir de extractos fluidos de *P. major* y *P. guajava*, empleados por sus efectos antidiarreico, hemostático, astringente y antimicrobiano con fines terapéuticos para procesos gastroentéricos y diarreas con sangre. Este bioproducto se presenta como una solución de color ámbar oscuro, olor característico y de un sabor amargo al paladar.

Objetivo: Determinar el efecto antidiarreico del GuayteVet en el modelo de diarreas inducidas por aceite de ricino en ratones.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio del Centro de estudio para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas (CEIEB) perteneciente al Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) en el período comprendido entre los meses de diciembre del 2020 y enero del 2021.

Datos sobre la instalación donde se realizó el estudio

El ensayo se realizó en el cubículo de experimentación animal del área Biológica del centro. Dicho cubículo presenta cobertura lavable (pintura epóxica) en las paredes, con rodapiés sanitarios, condiciones climatizadas por aire acondicionado centralizado con filtro HEPA, controles de humedad y controles para los ciclos luz-oscuridad. También se empleó el local de bioquímica.

Animales

El ensayo se realizó en una especie roedora (ratón), empleando animales de 6-7 semanas de edad, con un peso entre 25-30 g, pertenecientes a la línea OF1, hembras, procedentes del Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) y con certificado de salud.

Los animales se mantuvieron en condiciones de cuarentena y aclimatación a una temperatura de 20 ± 4 °C, un fotoperiodo de 12 horas, y una humedad relativa de 70 ± 5 %, según lo establecido. El acceso al agua y la comida (dieta convencional de laboratorio para la especie) fue ad libitum.

Método

Se desarrolló la metodología descrita por Awouters, et al., (1978), el cual emplea al aceite de ricino como inductor de diarrea.

Los animales se mantuvieron en ayunas 18 h antes del experimento y se les suministró agua según sus necesidades.

Los ratones fueron separados en tres grupos experimentales de cinco animales cada uno ($n=5$). Todas las sustancias fueron suministradas por vía oral mediante canulación intragástrica y 30min después se administró 0.5mL de aceite de ricino a los grupos Control negativo y GuayteVet, como se muestra en la tabla 1.

En el piso o fondo de cada caja se colocó papel para facilitar la observación y conteo de las heces (heces sólidas,

heces semisólidas y diarreas) por un período de 3 horas. El papel fue cambiado cada hora.

Concluido el estudio los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, según lo referido para la especie. (European Commission Guidance Document, 2010).

Procesamiento estadístico de los datos

Para el procesamiento de los datos se estimaron parámetros descriptivos como media y desviación estándar y la diferencia estadística entre los grupos evaluados se realizaron mediante la prueba t Student previo a una homogeneidad de varianza según Prueba F.

El nivel de significación establecido fue de $\alpha=0,05$.

Descripción de la dosis, vía de administración y duración del ensayo

Se formaron tres grupos experimentales de 5 animales cada uno: control blanco (agua destilada), control negativo (agua destilada y aceite de ricino) y GuayteVet con aceite de ricino, como se puede apreciar en la Tabla 1. Los animales fueron pesados antes de la aplicación del producto. La administración por vía oral se realizó mediante canulación intragástrica.

Tabla 1. Descripción de dosis y grupos de tratamiento

Grupo	Tratamiento	Volumen administrado/30g de peso (mL)	Aceite de ricino (mL)
Control blanco	Agua destilada	0,5	-
Control negativo	Agua destilada	0,5	0,5
GuayteVet	GuayteVet	0,5	0,5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El modelo empleado, bajo las condiciones experimentales en que se trabajó, resultó efectivo teniendo en cuenta que hubo modificación en la cantidad y características físicas de las heces en los grupos que recibieron aceite de ricino como inductor de diarrea, no siendo así en el grupo

control blanco; donde como era de esperarse se observó un 100% de heces duras. Las características físicas de las heces, así como la cantidad de las mismas fueron variando en el transcurso del tiempo. Estos resultados se pueden apreciar en la Tabla 2 y en la Figura 1.

Tabla 2. Efecto antidiarreico del GuayteVet sobre la diarrea inducida por aceite de ricino en ratón

Grupo de tratamiento	Tipo de Deposiciones y cantidad de las mismas								
	1 hora			2 horas			3 horas		
	HS	HSS	D	HS	HSS	D	HS	HSS	D
Control Blanco	5,2 ± 0,83	0,0 ± 0,0 ***	0,0 ± 0,0 ***	4,8 ± 1,30 **	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0 ***	3,2 ± 0,84 **	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0 ***
Control Negativo	4,4 ± 0,89	5,2 ± 0,83	3,0 ± 0,70	0,0 ± 0,0	1,0 ± 1,41	8,0 ± 1,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,4 ± 1,14
GuayteVet	1,6 ± 1,14 **	0,6 ± 0,55 ***	0 ± 0,00 ***	1,6 ± 1,14 ***	4,0 ± 0,71 *	9,8 ± 1,92	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,6 ± 1,34 *

Leyenda: HS, heces sólidas; HSS, heces semisólidas, D, diarreas

Valores expresados como Media ± DE; *($p < 0,05$); **($p < 0,01$); ***($p < 0,001$); $n=5$

El GuayteVet mostró una disminución significativa ($p < 0,05$) y retardo en la aparición de las deposiciones sólidas y semisólidas respecto al grupo control negativo y control blanco (Tabla 2) tras la primera hora de haberse administrado el aceite de ricino. Durante la segunda hora el número de deposiciones diarreas fue similar al grupo control negativo y se apreció un incremento respecto a la primera hora post tratamiento. Durante la tercera hora, las diarreas en el grupo GuayteVet fueron 1,77 veces inferiores a las del grupo control negativo, lo que representa una inhibición de las diarreas en un 43,75 % respecto al control negativo. El efecto antidiarreico del GuayteVet a las tres horas fue 2,72 veces superior al comportamiento observado a las dos horas post tratamiento.

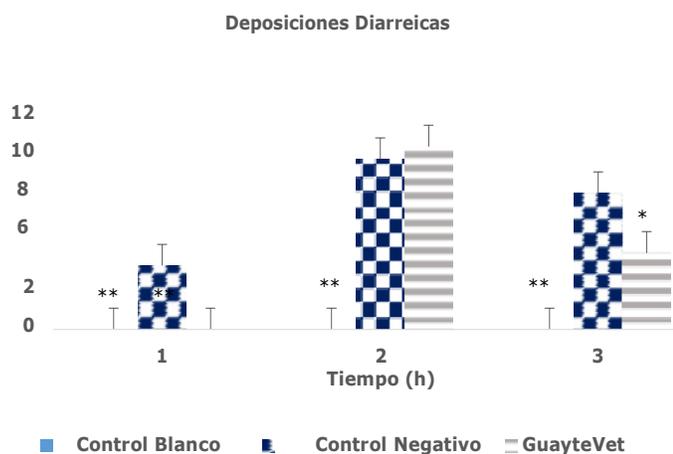


Figura 1. Efecto antidiarreico del GuayteVet en el modelo de diarrea inducida con aceite de ricino. Los resultados representan la media \pm DE; * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ comparado con el grupo control negativo. $n = 5$

El aceite de ricino induce diarreas mediante diferentes mecanismos como lo son, la alteración de la permeabilidad de la mucosa, por inhibición de la actividad de la ATPasa $Na+K+$ intestinal, por la estimulación de la producción de óxido nítrico y la secreción de adenil atociclase de las células epiteliales, así como la formación de prostaglandina. (Bhandare, et al., 2010; Hossain, et al., 2009).

El aceite de ricino entre sus componentes tiene el ácido ricinoleico, su componente más activo, el cual produce irritación e inflamación de la mucosa intestinal a través de la liberación de prostaglandinas, la reducción de la absorción de los fluidos y una consecuente inducción de diarreas. (Mein, et al., 2005).

Con la administración del GuayteVet se alcanzaron resultados positivos, los cuales evidencian que este producto es capaz de actuar sobre el tracto digestivo disminuyendo las defecaciones diarreas. Se considera que estos efectos del GuayteVet están dados por la acción de la mezcla de los extractos naturales que lo componen (*Plantago major* L. y *Psidium guajava* L.), los cuales contienen metabolitos secundarios con actividad biológica sobre el tracto gastrointestinal.

La presencia de taninos en *Psidium guajava* L. pudiera ser beneficiosa, según los reportes antidiarreicos y promotores del crecimiento en animales de granja. Este

metabolito polifenólico posee propiedades antiinflamatorias y astringentes en la mucosa del tracto gastrointestinal, lo que resulta efectivo en casos de diarreas o cólicos, además posee efecto vasoconstrictor, antioxidante y antibacteriano contra cepas de enterobacterias. (Pérez, Mitchell y Vargas, 2008). Tanto la quercetina como la quercetina-3arabinósido, serían responsables de la actividad antidiarreica atribuida a esta especie, la cual se ha comparado a la ejercida por difenoxilato. Las quercetinas presentes principalmente en hojas y corteza, ha demostrado una definida acción antisecretora de la producción de acetil colina la cual se llevaría a cabo a través del bloqueo de los canales de calcio o por inhibición del sistema enzimático que relaciona la síntesis de prostaglandinas con la liberación de acetilcolina (estimulante de la musculatura lisa del intestino y de otros músculos lisos de contracción involuntaria). (Alonso, 2004).

Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con los obtenidos por Cáceres (1996), cuando comparó la actividad antidiarreica de una preparación oral de hojas de guayaba con suspensión de Caolín y pectina en un grupo de pacientes menores de 5 años y entre 20-40 años con diagnóstico de diarrea aguda. Los pacientes presentaron resultados positivos, pues se apreció que el número de casos mejorados o curados fue siempre mayor al 70% independientemente de la terapia empleada, lo que sugiere que el efecto es en el mejor de los casos semejante.

Igualmente, Echemendía y Morón, (2004), realizaron un ensayo clínico (EC) fase II, con tintura de hojas de *Psidium guajava* L. en pacientes con diarrea aguda simple. La dosis seleccionada para administrar en este ensayo clínico fue equivalente a 6 g/día de hojas secas (85 mg/kg considerando un peso promedio por paciente de 70 kg). Los pacientes fueron asignados al grupo tratado (tintura de *P. guajava* al 20 %) o al grupo control (tintura al 1%). Participaron pacientes de 15 a 60 años de ambos sexos cuyo motivo de consulta fue presentar diarrea, con un tiempo de evolución no mayor de 48 h previas a la consulta, con el diagnóstico médico de diarrea aguda simple.

Los resultados obtenidos en este ensayo clínico demuestran que a las 24, 48 y 72 h de comenzado el tratamiento se produjo un mayor número de pacientes curados en el grupo que recibió tintura de hoja de *P. guajava* al 20 % que en los tratados con la tintura de hoja de *P. guajava* al 1 % que a los efectos de esta investigación fue considerado el grupo placebo. Fueron registrados como curados, a las 16, 24 h, 7 pacientes con la tintura al 20 % para el 14 % y mejorados 43 casos para el 86 %, sin embargo, con tintura al 1% no se informaron altas a las 24 h de iniciado el tratamiento.

Las investigaciones realizadas sobre *Plantago major* han revelado la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, entre otros que le confieren actividad antidiarreica. (Mostacero, et al., 2011).

Estos resultados constituyen una evidencia de que el GuayteVet es una formulación a partir de fuentes naturales, para uso veterinario que puede contribuir a mejorar

las afecciones del tracto digestivo de las especies de destino.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las condiciones experimentales en que se realizó el ensayo se pudo concluir que el producto natural de uso veterinario GuayteVet posee actividad antidiarreica en el modelo de diarreas inducidas con aceite ricino en ratones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, J. (2004). Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. Argentina. Editorial CORPUS. 570-575.
- Awouters, F., Niemegeers, C.J., Lenaerts, F.M., y Janssen, P.A. (1978). Delay of ricino oil diarrhea in rats: A new way to evaluate inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *J Pharm Pharmacol.* (30), 41–45.
- Berit A. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. *J Ethnopharmacol.* 71 (12) ,1-21.
- Bermúdez, V. MJ., Granados, Ch. F., Molina, A. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Psidium guajava* and *Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana.* 30(1), 147-163. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v30i1.33758>
- Bezerra, P. (2010). Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de ANGICO *Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan. Var. cebil (Gris) Altus e Pereiro *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Tesis de maestría). Universidade Federal de Campina Grande.
- Bhandare, A.M., Kshirsagar, A.D., Vyawahare, N.S., Hadambar, A.A., Thorve, V.S., (2010). Potential analgesic, anti-inflammatory and antioxidant activities of hydroalcoholic extract of *Arecacatechu* L. nut. *Food-Chem Toxicol.* (48), 3412-3417.
- Cáceres, A. (1996). Plantas de uso Medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Castillo, E. y Martínez, I. (2016). Manual de Fitoterapia (2a ed.). Barcelona. ELSEVIER.
- Dos Santos, J.L. (2000). Diarreas en suinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, (29) ,2043-2051.
- Echemendía, C. y Morón, F. (2004). Tintura de hojas de *Psidium guajava* L. en pacientes con diarrea aguda simple. *Rev Cubana Plan tMed*,9(3), 112-124.
- Ecoaldea. (2004). Llantén o Plantago. <http://www.ecoaldea.com/plmd/llanten.htm>
- European Commission Guidance Document. (2010). National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. A working document on the development of a common education and training framework to fulfil the requirements under the Directive. Brussels.
- Fonnegra, R. y Jiménez, S. (2007). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Editorial Universidad de Antioquia.
- Hernández, J., Zaragoza, A., López, G., Peláez, A., Olmedo, A. y Rivero, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario*, 8(1), 14-27.
- Hossain, M.M, Biva, I.J., Jahangir, R., Vuiyan, M.I. (2009). Central nervous system depressant and analgesic activity of *Aphanamixis polystachya* (Wall.) parker leaf extract in mice. *Afr J Pharmacol.* (3), 282-286.
- Jimena, C.C. (2018). Caracterización morfológica de árboles nativos de guayaba (*Psidium guajava* L.) en el municipio de pitalito, huila Colombia. (Proyecto de investigación). Colombia
- Jiménez, Q.K., Garro, M.G. (2017). Establecimiento de callogénesis somática en *Plantago major* e identificación de compuestos con actividad biológica. *Tecnología en Marcha*, 30 (1), 38-48.
- Lasa, J., Mantecón, C. y Gómez, M. (2010). Utilización de taninos en la dieta de rumiantes. Sitio argentino de producción animal. http://www.produccion-animal.com.ar/tablas_composicion_alimentos/33-taninos
- Marroquín, N. (2014). Muplam. <http://www.muplam.org/wp-content/uploads/2014/11/Plantago-majorLlant%C3%A9n.pdf>
- Mein, E.A., Richards, D.G., McMillin, D.L., Nelson, C. D. (2005). Transdermal absorption of castor oil. *Evid. Based Integr. Med*, 2, 239-244.
- Midence, M. A. y Mendoza, M. A. (2015). Presencia de *Coccidiosis* en terneros de seis a un mes de edad en fincas piloto de la comunidad Valle La Primavera, Trapichito, municipio de León, departamento de León, en el período comprendido de agosto a septiembre del 2015. [Tesis de grado]. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Nicaragua.
- Mostacero, J., Castillo, F., Mejía, F., Gamarra, O., Charcape, J., Ramírez, R. (2011). Plantas Medicinales del Perú: Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. Editorial Asamblea Nacional de Rectores.

- Palacios, K.P y Proaño, L.D. (2018). Comparación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de escancel (*Aerva sanguinolenta* L) y llantén (*Plantago major* L.) en animales de experimentación. (Tesis de Grado). Universidad de Guayaquil.
- Pérez, C. MA. y Villagómez, C. JA. (2019). Manual de procedimientos para el área de maternidad de la granja porcina “La Esperanza”, ubicada en San Sebastián Zinacatepec, Puebla, 37-38.
- Pérez, M. M., Jiménez, E.E., Boffill, C.M., González, D.M., Méndez, T.R. y Verdecía, M. B. (2008). Toxicidad aguda de un extracto acuoso de *Boldoa purpurascens* Cav. en el modelo de sube y baja en ratas. *Rev Cubana Plant Med*,13(2).
- Pérez, R.M., Mitchell, S. y Vargas, R. (2008). *Psidium guajava*: A review of it straditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 117(1), 1-27.
- Rodríguez, P. (2015). Eficacia de tres antihelmínticos frente a *Macracanthorhynchus hirudinaceus* en cerdos de crianza privada. VI Seminario Internacional de Porcicultura Tropical.
- Silva, V.M., Bañuelos, V.R., Delgadillo, R.L., Gallegos, F.P., Meza, L.C., Valladares, C. B., y Echavarría, Ch. F. (2020). Caracterización química de extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) y su efecto como inhibidor de movilidad para *Escherichia coli* O157:H7. *Abanico Veterinario*, 10, 1-13. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.26>
- Torres, J. M. (1997). Plantaginaceae: *Plantago major* L. p.18-19