

# EFECTO DEL EXTRACTO DE HOJA DE NEEM (*Azadirachta indica*) PARA CONTROL DE ECTOPARÁSITOS EN PERROS

## Effect of Leaf Extract Neem (*Azadirachta indica*) for Controlling Ectoparasites in Dogs

Yessenia García-Montes<sup>1</sup>, Marlon Castro-García<sup>1</sup>, Mario López-Mantuano<sup>1</sup>, Exequiel Cardenas-Reyes<sup>1</sup> y Ramón Molina-Basurto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Docente Titular Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. (ULEAM) Manta, Ecuador,

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación de Ciencias de Alimentos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM) <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, (ULEAM) Avenida circunvalación, Vía San Mateo S/N, Manta-Ecuador., P.O. Box 13-05-2732. Manta, Ecuador; rmolinabasurto@gmail.com

### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto del extracto de hoja de neem en el control de garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) y pulgas (*Ctenocephalides canis*) en perros. Los tratamientos con concentraciones de extracto de hoja de neem de 0; 50; 100 y 150 gramos fueron evaluados en perros con abundante pelaje y poco pelaje. Los animales fueron bañados con las distintas concentraciones y en los días 7; 14 y 21 se evaluó el efecto residual del baño. Se utilizó un diseño completamente aleatorio al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Las diferencias de medias se agruparon mediante el test de Tukey al 5% de probabilidad. Los resultados indican que el extracto de hoja neem influyó estadísticamente, en control de garrapatas y pulgas en los perros. En el tratamiento A4B2 (150 gr de extracto de hoja de neem + perros con poco pelo) se observó una disminución del 4% de garrapatas vivas en relación al inicio del ensayo (57 garrapatas por perro). De igual manera se comprobó una disminución del 12 % de pulgas vivas en relación al promedio encontradas al inicio del experimento (149 pulgas por perro). Se puede concluir que el extracto de hoja de neem tuvo respuesta favorable en el control de ectoparásitos en perros.

**Palabras clave:** Garrapatas; pulgas; caninos; extracto

### ABSTRACT

The objective of this research was to determine the effect of neem leaf extract in controlling ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) and fleas (*Ctenocephalides canis*) in dogs. Treatments concentrations neem leaf extract of 0, 50, 100 and 150 grams were evaluated in dogs with abundant hair and fur little. Animals were coated with different concentrations and on days 7, 14 and 21 the residual effect of the bath was evaluated. A completely random design was used with four replicates per treatment. The mean differences were pooled using Tukey's test at 5% probability. The results indicate that neem leaf extract, statistically influenced, in control of ticks and fleas on dogs. In the A4B2 (150 gr of neem leaf extract + dogs with short hair) treatment a decrease of 4% of live ticks relative to baseline (57 ticks per dog) was observed. Similarly a decrease of 12% of live fleas in relation to the average found at the beginning of the experiment (149 fleas per dog) was found. It can be conclude that neem leaf extract had a favorable response in the control of ectoparasites in dogs.

**Key words:** Ticks; fleas; canines; extract

## INTRODUCCIÓN

La presencia de garrapatas y pulgas en perros (*Canis lupus familiaris*) ocasiona baja de peso por toxinas e irritación, anemias producidas por pérdida de sangre y transmisión de hemoparásitos, perforaciones de la piel que permite el acceso de bacterias, micosis dermales, origen a enfermedades como *Babesia*, ehrlichiosis que ocasionan caída del tren posterior del perro.

Debido a los innumerables problemas que las garrapatas y pulgas ocasionan en la salud del animal y en forma indirecta en la salud humana, estos artrópodos constituyen un permanente estudio en el ámbito de la investigación.

Las garrapatas son importantes transmisores de diferentes patógenos de importancia en medicina veterinaria y en salud pública en muchos países del mundo [1, 14, 20]. Enfermedades caninas emergentes transmitidas por garrapatas como babesiosis, hepatozoonosis, ehrlichiosis, rickettsiosis y borreliosis han desviado la atención pública y científica hacia estos artrópodos [14].

De las garrapatas que afectan a los perros, *Rhipicephalus sanguineus* es la más común y la de mayor distribución mundial; se le encuentra entre los 50° N y 35° S, y en América desde Canadá hasta Argentina [1, 18]. Su hospedador natural es el perro, por lo que es raro encontrar esta especie lejos de las construcciones humanas; de hecho, se considera una especie intradomiciliaria que frecuentemente infesta al hombre [4, 18, 21, 29, 30]. Es conocida como la garrapata marrón del perro ya que es el más común ectoparásito de los caninos domésticos, ocasionalmente parasita otros huéspedes, incluidos los humanos [8]; a cuyo entorno urbano está bien adaptada [31], es vector de agentes patógenos, como *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii* [8]; *Babesia vogeli*, *Hepatozoon canis* y *Rickettsia rickettsii*, a través de los cuales pueden causar enfermedades con manifestaciones clínicas, desde anemia, abscesos de piel [16].

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados de los animales salvajes, domésticos y de los seres humanos, se clasifican en la subclase Acari, orden Parasitiformes, suborden Ixodida y están distribuidos desde el Ártico a las regiones tropicales del mundo [12]; siendo más prevalente en las regiones tropicales y subtropicales [16], se estima que existen alrededor de 900 especies, encontradas prácticamente en todos los ecosistemas existentes [35]; como parásitos, las garrapatas poseen potencial para provocar toxicosis, parálisis, irritación y alergia a sus hospedadores [10] son importantes, tanto en salud animal como humana, debido a que pueden actuar en el mantenimiento y transmisión de muchos microorganismos patógenos como bacterias, helmintos, protozoos, y virus que afectan a los animales domésticos y al humano [9].

Diferentes criterios se han originado con las técnicas científicas realizadas en cuanto a investigaciones de antiparasitarios de origen químico, donde se cita como una desventaja la posibilidad de que los parásitos creen resistencia a estos productos al ser

utilizados. Por lo antes expuesto se hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas que sean económicamente accesibles y de origen natural, que demuestren eficacia en la práctica y capacidad para biodegradarse evitando la acumulación de residuos tóxicos en los animales, seres humanos y medio ambiente. Una de estas alternativas la representa el uso de las hojas del árbol de neem (*Azadirachta indica*).

El árbol de neem, es una especie de gran importancia y potencialidad, que ha despertado la atención del mundo científico por sus múltiples propiedades y usos de sus componentes: semillas, cascara de la semilla, hojas, corteza y madera [3]. Desde hace varios siglos, las diversas partes del neem o sus aceites han sido utilizados en medicina para tratar diversos males, desde malestares estomacales y fiebre, hasta enfermedades tales como viruela y malaria; también se le ha empleado como material para construcción, combustible, lubricantes y como repelente de insectos [3]. La azaridactina (del grupo de los tetraidroterpenoides conocidos como limonoides), es uno de los dos principios biocidas más estudiados y de mayor concentración en el árbol de neem [19]. La semilla contiene las concentraciones más altas de azaridactina. A partir de los 3-4 años de edad un árbol produce alrededor de 50 kg al año, lo que da una idea de su potencial como fuente de sustancias biocidas [19]. La azaridactina se considera un fitotóxico de amplio espectro, de bajo efecto residual, sin toxicidad para los seres humanos y el medio ambiente [15, 17].

Se han aislado aproximadamente otros 24 principios activos con actividad biológica sobre artrópodos [19]. En las semillas se han identificado además salanina, meliantriol, nimbina, nimocinolina e isonimocinolina, con probable actividad antialimentaria, de inhibición del crecimiento y de la oviposición [19]. La diversidad de principios activos reduce la aparición de resistencia, por ello varios investigadores señalan la necesidad de información precisa sobre los principios químicos contenidos en los extractos de neem, su mecanismo de acción y eficacia en el control de garrapatas [17, 36].

En estudios previos [32] se compararon la acción del neem, la ivermectina y la doramectina frente a *Boophilus micropulus*, *B. annulatus* y *Hyalomma aegyptum*. Varios autores [19] manifiestan que la infestación por garrapatas constituye en muchos países un grave problema que limita la producción agropecuaria, altera la salud de animales productores de alimentos, para animales de compañía, y quizá en muchas ocasiones también para el ser humano. El árbol de neem es probablemente la especie botánica más estudiada en la actualidad, por su alta eficiencia como repelente o plaguicida y bajo efecto residual; los principios activos se encuentran en todas sus partes [15, 34].

Por considerarse fuente de acaricidas biodegradables, la actividad garrapaticida de sus extractos, obtenidos, sobre todo de hojas y semillas, ha sido investigada de modo insistente; sin embargo, la información potencialmente útil continúa estando dispersa, variable desde el punto de vista metodológico o de su eficacia, y no pocas veces contradictoria [19].

La obtención de innumerables productos naturales del neem con amplio espectro de acción contra plagas agrícolas y pecuarias, constituye hoy una importante alternativa en el desarrollo de la agricultura sostenible y ecológica. Tal evaluación se fundamenta que los productos elaborados a base de neem que son de fácil degradación no dejan residuos contaminantes en el ecosistema, tienen baja toxicidad en el hombre y animales de sangre caliente, en la actualidad se elaboran y se usan en muchos países productos a partir de tecnologías artesanales e industriales [5, 33].

Investigaciones realizadas en Australia [33] obtuvieron como resultados una buena acción curativa con la aplicación de un formulado de neem sobre ectoparásitos en perros, gatos (*Felis catus*), cabras (*Capra aegagrus hircus*) y ovejas (*Ovis aries*); mientras que en otras evaluaciones [22] se reportan acción antiparasitaria sobre nemátodos gastrointestinales en ovejas y becerros (*Bos taurus*) utilizando extracto de neem.

Entre 1997 y 2008, se realizaron las pruebas de validación de los productos derivados del neem sobre diferentes endo y ectoparásitos causantes de afecciones a animales de cría, tales como la sarna en sus variantes cunicula, porcina (*Sarcoptes scabiei var. suis*) y canina (*Escabiosis canina*); también sobre el ácaro y el piojo que provocan el estrés aviar, los céstodos que infestan el tracto intestinal en las aves, los nemátodos gastrointestinales en ovinos (*Pelibuey*) y, por último, las garrapatas que afectan a los bovinos (*Bos primigenius taurus / Bos taurus*) adultos [11].

El objetivo de esta investigación fue establecer el efecto del extracto de hoja de neem para el control de garrapatas y pulgas en perros.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Manejo de unidades experimentales

El presente trabajo se ha realizado usando perros de pelo largo y perros de pelo corto como unidades experimentales (UP). Se utilizaron 32 perros, de los cuales 24 se sometieron a los tratamientos con el extracto de hoja de neem y se realizaron cuatro réplicas para el estudio; a los 7; 14; 21 y 28 días (d) de aplicado el producto se realizó una observación de las unidades de producción (UP) (perros) para verificar las garrapatas y pulgas muertas y vivas. El grupo control estuvo formado por ocho perros, cuatro con poco pelo y cuatro con abundante pelo, sin aplicación de concentración de neem, sin recibir ningún tipo de baño. La aplicación de los tratamientos se realizó por medio de un baño a cada UP, los perros permanecieron en ambientes controlados que consistían en jaulas individuales, A cada perro se le realizó un conteo de garrapatas y pulgas inicial, y se repitieron cada siete d durante un periodo total de 28 d de estudio. El conteo fue realizado de forma manual.

Para desarrollar este experimento se utilizaron hojas de neem provenientes del bosque de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

### Diseño experimental

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) con arreglo factorial  $4 \times 2 = (8) \times (4)$  repeticiones total 32 tratamientos con una confiabilidad del 5% de la prueba de Tukey.

Los tratamientos fueron ocho productos de la combinación de los factores en estudio TABLA I, se hicieron cuatro réplicas por cada tratamiento dando como resultado 32 repeticiones.

La herramienta estadística permitió establecer la existencia de diferencia significativa o no significativa del efecto residual del extracto de neem, aplicados en perros con abundante y poco pelo para control de garrapatas y pulgas, los que fueron analizados por medio del cálculo estadístico (ANOVA) a un 95% de confianza, en el primer factor de estudio (tratamiento) y un 0,05% del segundo componente el error experimental, con el respectivo valor P de la distribución F, en donde se realizó la comparación de los dos componentes. Los resultados fueron analizados utilizando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics versión 20.

El diseño que se utilizó fue bloques completamente azar con arreglo factorial  $4 \times 2$  para tipo de muestras que reúnen características similares intrínsecamente en la investigación, cuatro tratamientos, extracto de hojas de neem al 0; 50; 100 y 150, y dos características de pelaje de perro con abundante pelaje y poco pelaje, más un testigo aplicando la prueba de Tukey al 95% de comparación múltiple, la que permitió comparar la media de los resultados y la significancia de los mismos.

La variable de medida fue números de garrapatas vivas observadas, y en relación a las pulgas una estimación de pulgas vivas.

**TABLA I**  
**COMBINACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS, DOSIS DE NEEM Y CARACTERÍSTICAS DE LOS PERROS**

Nº	TRATAMIENTOS	CARACTERÍSTICA
1	A1B1	(0 gr neem +abundante pelo)
2	A1B2	(0 gr neem +poco pelo)
3	A2B1	(50 gr neem +abundante pelo)
4	A2B2	(50 gr neem +poco pelo)
5	A3B1	(100 gr neem +abundante pelo)
6	A3B2	(100 gr neem +poco pelo)
7	A4B1	(150 gr neem +abundante pelo)
8	A4B2	(150 gr neem +poco pelo)

### Preparación del extracto de hoja de neem

Las hojas de neem fueron sometidas a un proceso de secado mediante exposición al sol durante tres a cuatro horas (h) por la mañana, por espacio de cinco d y posteriormente se mantuvo a la sombra durante 5 d más, las hojas fueron almacenadas en costales de fibra de yute (*Corchorus capsularis*), expuestos en

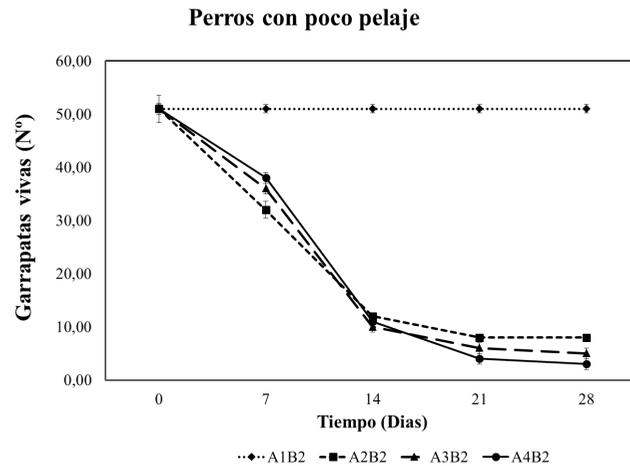
un lugar aireado y a temperatura ambiente. Para la obtención de los biopreparados se molieron las hojas utilizando un molino de carga marca (IKA, modelo M20, Alemania) con la finalidad de lograr pequeñas partículas (1-2 mm), lo que facilitó una mayor extracción de los principios activos del neem. Como disolvente se utilizó agua del grifo.

Cada una de las dosis fue almacenada en paños de lienzo con su respectivo peso, éstos se colocaron en recipientes plásticos de 10 litros con agua y luego se dejaron macerar por 48 h; Se depositó el contenido en un recipiente y luego se procedió a la aplicación.

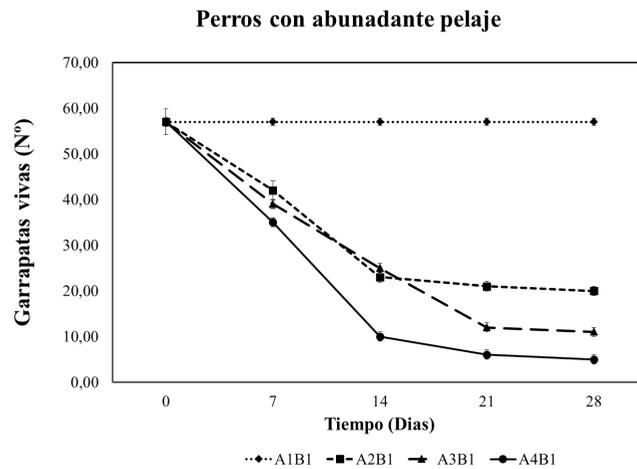
Los perros utilizados para este estudio presentaban diferentes características de pelaje, (poco pelaje y abundante pelaje), previo a la aplicación del producto se realizó una observación de la ubicación de las garrapatas y pulgas en cada una de las UP (perro) que se sometieron al estudio. Inmediatamente se aplicó el producto en las zonas más afectadas.

**RESULTADOS Y DISCUSION**

Según el testigo usado con promedio de 57 garrapatas observadas en el d cero del periodo de estudio, los datos mostrados en las (FIGS. 1 y 2) indican que a los siete días, el mejor tratamiento estuvo representado por 150 gr de extracto de neem en su efecto residual en los perros con abundante pelaje (AP), evidenciando 35 garrapatas aproximadamente, en las medias obtenidas del total de garrapatas vivas observadas. Para el d catorce del estudio, el mejor tratamiento observado fue en perros con poco pelaje (PP) con 100 gr en su efecto residual, donde se observó nueve garrapatas vivas, en los d 21 y 28 del estudio, el mejor tratamiento fue el de 150 gr en su efecto residual en perros con poco pelaje (PP) donde se evidenciaron 4 y 3 garrapatas vivas para cada d de estudio, respectivamente.



**FIGURA 1. EFECTO RESIDUAL DE LOS TRATAMIENTOS EXTRACTOS DE NEEM APLICADOS EN PERROS CON POCO PELO PARA EL CONTROL DE GARRAPATAS DURANTE 28 D. ♦ A1B2, ■ A2B2, ▲ A3B2, ● A4B2.**



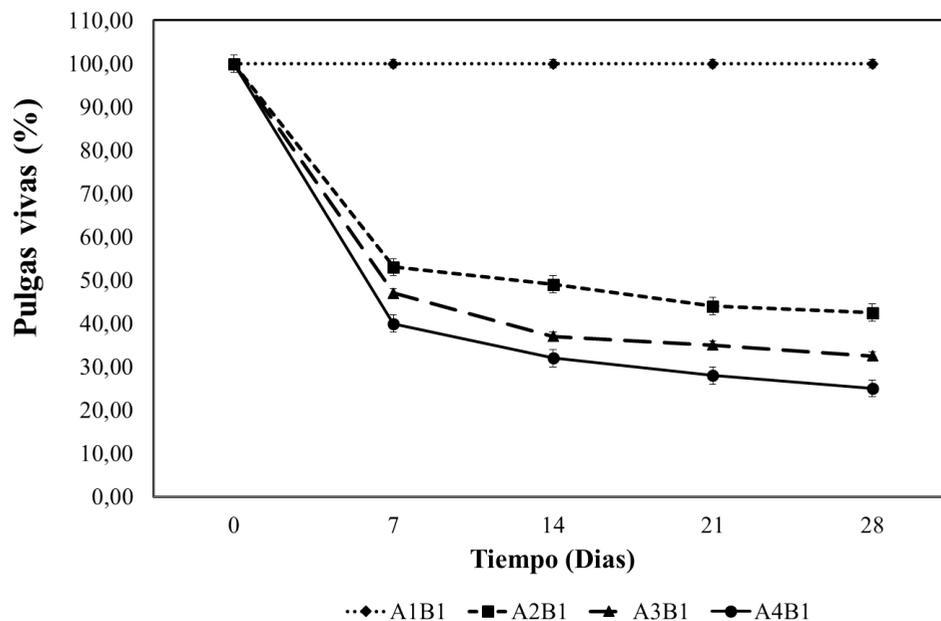
**FIGURA 2. EFECTO RESIDUAL DE LOS TRATAMIENTOS EXTRACTOS DE NEEM APLICADOS EN PERROS CON ABUNDANTE PELO PARA EL CONTROL DE GARRAPATAS DURANTE 28 D. ♦ A1B1, ■ A2B1, ▲ A3B1, ● A4B1.**

**Efecto residual de los tratamientos aplicados en perros con abundante pelaje para el control de pulgas en 28 d de estudio**

Se usó el tratamiento A1B1 (0 gr neem +abundante pelo) como testigo (149 pulgas promedio) que representaron el 100%, se inició con una base de cero pulgas muertas, por el motivo que es difícil contar las pulgas vivas en su hábitat común en los perros con abundante pelo y poco pelo, ya que la misma no fue tratada con baños y se la usó para comparar, a los días siguientes, entre los días siete y 28 se realizó una estimación de los resultados obtenidos (FIG. 3), los promedios de pulgas vivas observadas fueron incididas por el baño de extracto de neem aplicados.

Por lo tanto, con el tratamiento A2B1 (50 gr neem + abundante pelo) se pudo observar que las 12 UP presentaron un total de 34 pulgas vivas encontradas desde el día siete hasta el día 28 correspondiente al 42,5 %; de la misma forma en el tratamiento A3B1 (100 gr neem + abundante pelo) se encontraron 26 pulgas vivas correspondiente al 32,5 %, y finalmente en el tratamiento A4B1 (150 gr neem + abundante pelo), 20 pulgas correspondiente al 25%, todos los datos hacen referencias a las pulgas observadas vivas ya que es imposible contar las pulgas muertas.

**Perros con abundante pelaje**



**FIGURA 3. EFECTO RESIDUAL DE LOS TRATAMIENTOS EXTRACTOS DE NEEM APLICADOS EN PERROS CON ABUNDANTE PELO PARA EL CONTROL DE PULGAS A LOS 28 D. ♦ A1B1, ■ A2B1, ▲ A3B1, ● A4B1.**

El efecto residual del extracto de hoja de neem evidenciado en los datos mostrados en la FIG. 3. en perros con abundante pelaje demuestran que, la concentración de extracto que mostró una alta eficacia fue usando 150 g en perros con poco pelaje, donde se obtuvo una respuesta favorable del 75%, estos resultados indican que el tratamiento utilizado podría ser usado como alternativa medicinal de origen natural para el tratamiento de sarna en varias especies animales, lo cual concuerda con Chousalkar [7], quien en su estudio recopila un amplio espectro de acción de los principios activos del neem sobre organismos que parasitan y enferman diferentes especies de animales, en el cual se demuestra su efecto curativo. De igual manera lo confirma [26], en un estudio realizado en Nicaragua, cuando utilizó con éxito extractos acuosos de hoja y semilla de neem para controlar garrapata (*Damalinea ovis* y *Linognathus pedalis*) y sarna (*Sarcoptes scabiei var. ovis*) en ovinos.

**EFECTO RESIDUAL DE LOS TRATAMIENTOS APLICADOS EN PERROS CON POCO PELAJE PARA EL CONTROL DE PULGAS EN 28 D DE ESTUDIO**

Se usó el tratamiento A1B2 (0 gr neem + poco pelo) como testigo (149 pulgas promedio) que representan el 100%, se inició con una base de cero pulgas muertas, debido a que es difícil contar las pulgas vivas en su hábitat común en los perros con abundante pelo y poco pelo, ya que la misma no fue tratada con baños y se la usó para comparar, a los días siguientes, entre el día 7 y 28 se realizó una estimación de los resultados obtenidos (FIG. 4), los promedios de pulgas vivas observadas fueron incididas por el baño de extracto de neem aplicados.

Por lo tanto, el tratamiento A2B2 (50 gr neem + poco pelo) mostró que las 12 UP. presentaron un total de 26 pulgas vivas, encontradas desde el d siete hasta el d 28 correspondiente al 17,5%, de la misma forma, en el tratamiento A3B2(100 gr neem + poco pelo) se encontraron 22 pulgas vivas correspondiente

al 15 %, y finalmente el tratamiento A4B2 (150 gr neem + poco pelo) 18 pulgas, correspondiente al 12,1%, todos los datos hacen referencias a las pulgas observadas vivas ya que es imposible contar las pulgas muertas.

### Perros con poco pelaje

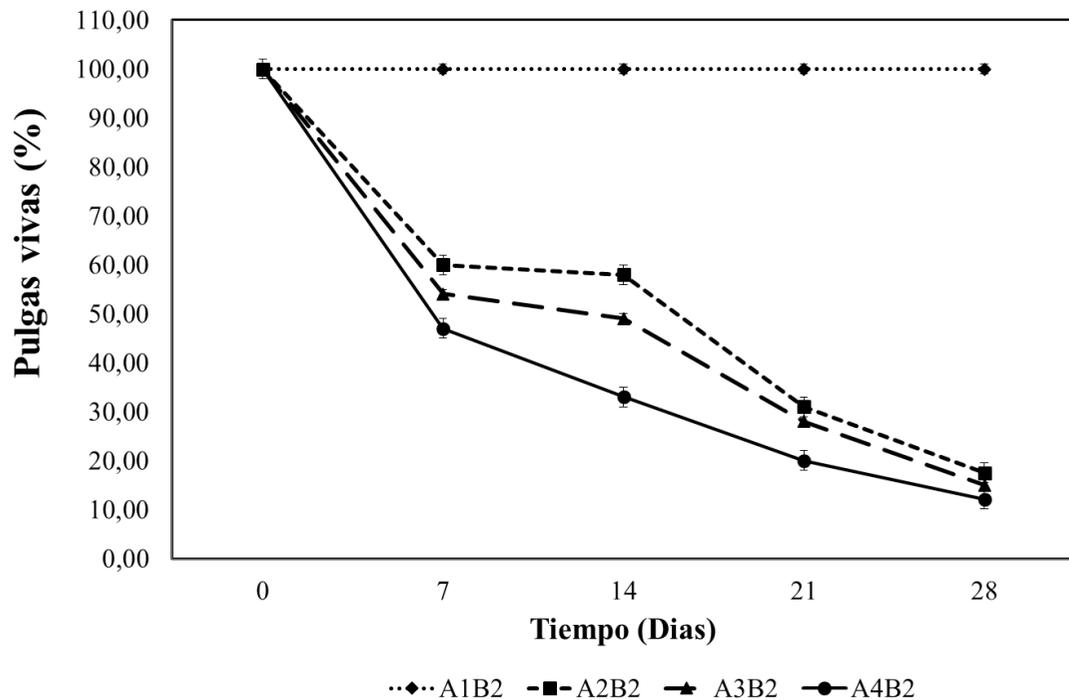


FIGURA 4. EFECTO RESIDUAL DE LOS TRATAMIENTOS EXTRACTOS DE NEEM APLICADOS EN PERROS CON POCO PELO PARA EL CONTROL DE PULGAS A LOS 28 D. ♦ A1B2, ■ A2B2, ▲ A3B2, ● A4B2.

En cuanto al efecto residual del extracto de neem aplicado en perros con poco y abundante pelaje en el control de pulgas se muestra que, el tratamiento con 150 gr del extracto de hoja de neem, en perros con poco pelaje obtuvo mayor eficacia durante el tiempo de ensayo, donde se obtuvo una eficacia del 87,9%, y para el efecto residual en el control de garrapatas también se evidenció mejor resultado con el tratamiento de 150 gr en perros con poco pelaje donde se obtuvo una eficacia de 95%, estos resultados son similares con la investigación realizada en Nicaragua [26], en la cual se utilizó con éxito extractos acuosos de hojas y semillas de esta planta para controlar garrapatas (*Damalinia ovis* y *Linognathus pedalis*) obteniendo un control del 95%. Sin embargo en otro estudio [32] se observaron baja eficiencia del extracto de hoja de ésta, debido al bajo porcentaje utilizado (0,4g/ k pv) y 1,3%, respectivamente, en ensayos ejecutados en el 2008 por otros investigadores, en aplicación única en spray de un preparado acuoso del 15% de hojas, a becerros entre 5 y 6 meses de edad se mostró una eficacia del 68% [11].

Los extractos obtenidos del árbol del neem son una fuente natural contra una gran variedad de microorganismos patógenos [27]. También se conoce que varios extractos crudos de neem tienen actividad insecticida y microbicida, siendo las más importantes la actividad antialimentaria y el bloqueo en el proceso de metamorfosis de larvas [24]. El principal metabolito activo es el nortriterpenoide conocido como azadiractina [23, 28]. Además, las semillas de neem contienen una serie de limonoides estructuralmente relacionados con la azadiractina, lo que podría significar que también sean biológicamente activos para el control de microorganismos [25]. Limonoides, como nimolina, nimbolina y melantriol, han sido aislados, y junto con la azadiractina son considerados compuestos de gran actividad biocida contra insectos y microorganismos [6, 13, 25, 31]. El contenido de los componentes con actividad biocida varían de acuerdo a la variedad genética y al estado de madurez del árbol del neem [2].

## CONCLUSIONES

Al comparar todos los tratamientos utilizados con extracto de hoja de neem en el control de garrapatas y pulgas, se pudo constatar que el tratamiento que posee mayor eficacia fue en el cual se utilizó 150 gr de extracto de las hojas de neem. En cuanto a efectos secundarios, los perros en tratamientos no presentaron ningún efecto adverso durante la aplicación del extracto. En lo que corresponde al efecto residual se determinó que, el tratamiento con mayor eficacia para el control de garrapatas y pulgas, presentó residuos hasta los 28 d.

La utilización de biopreparados a base de neem a 150 gr es recomendable para realizar el control de ectoparásitos en animales por la efectividad presentada, y el bajo costo de producción.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALCAÍNO, H.; GORMAN, T.; JIMÉNEZ, F. Ecología del *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) en la Región Metropolitana de Chile. **Arch. Med. Vet.** 22: 159-168. 1990.
- [2] ANGULO-ESCALANTE, MA.; GARDEA-BEJAR, AA.; VÉLEZ DE LA R, R.; GARCÍA-ESTRADA, R.S.; CARRILLO-FASIO, A.; CHAIDEZ-QUIROZ, C. Contenido de Azadiractina A en semillas de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) colectadas en Sinaloa, Mexico. **Rev. Fitotecn.Mex.** 27(4): 305-311. 2004.
- [3] ARIAS, D.; GRETA-VÁZQUEZ, G.; ACOSTA, W.; MONTAÑEZ, L.; ÁLVAREZ, R.; PÉREZ, V. Determinación del Azadiractina de los aceites esenciales del árbol de Neem (*Azadirachta Indica*). **Rev. Inge. UC.** 16(3): 22–26. 2009.
- [4] BRAZ L, CC.; NOGUEIRA, FI.; FERREIRA DE, OV.; COELHO L, G. F.; BORGES DE M., L. Seasonal dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs from a police unit in Goiania, Goiás, Brazil. **Cien. Rural.** 37(2): 464-469. 2007.
- [5] BIJAK, M; MAYR, W.; RAKOS, M.; HOFER, C.; LANMÜLLER, H.; RAFOLT, D.; RUSSOLD, M. The Vienna functional electrical stimulation system for restoration of walking functions in spastic paraplegia. **Artif. Organs.** 26 (3): 224-227. 2002.
- [6] COVENTRY, E.; ALLAN, E.J. Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: new data on antimicrobial activity. **Phytoparasit.** 29 (5): 441.2001.
- [7] CHOUSALKAR, S. S. Uses in animal Health The Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other Meliaceae plants. **Sources and Unique Natural products for Integrated Pest management, Medicine, Industry and other Purposes.** Neem Foundation, Pp 688-693. 2002.
- [8] DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Vet. Parasitol.** 152(3-4):173-185. 2008.
- [9] DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the Brown dogs tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasit. Vect.** 3(2-10):1186-1756-3305-3-2. 2010.
- [10] DEBÁRBORA, V.N.; OSCHEROV, E.B.; GUGLIELMONE, A.A.; NAVA, S. Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. **InVet.** 13(1): 45-51. 2011.
- [11] ESTRADA, O. J.; LÓPEZ, M. T. El Nim y sus bioinsecticidas una alternativa agroecológica sostenible. Manual Técnico, Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro Humboldt” (INIFAT), Cuba. 24 pp. 1998.
- [12] ESTRADA-PEÑA, A.; AYLLÓN, N.; DE LA FUENTE, J. Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. **Front. Physio.** 3:64. 2012.
- [13] FABRY, W.; OKEMO, OP.; ANSORG, R. Antibacterial activity of east African medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.** 60(1): 79-84. 1998.
- [14] FÖLDVÁRI, G.; FARKAS, R. Ixodid tick species attaching to dogs in Hungary. **Vet. Parasitol.** 129: 125-131. 2005.
- [15] FORTI, S.M.; DA SILVA, N.; NEVES, E.C.; ALVES, L.; PEIXOTO, D.O.; DOS SANTOS, J.M. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) Acari: Ixodidae em laboratório. **Rev. Brasil.Parasitol. Vet.** 19(1):44-8. 2010.
- [16] GRAY, J.; DANTAS-TORRES, F.; ESTADA-PEÑA, A.; LEVINE, M. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Tick and Tick-Borne Dis.** 4(3): 171– 180. 2013.
- [17] GUERRA, JE.; CORRALES, JL.; SOTO, LE.; MORENO, J.; RODRÍGUEZ, J.; GASTELÚM, MA.; ET, AL. Dairy cattle tick (*Boophilus microplus*) control with *Azadirachta indica* A. Juss. **ISHA.** 1:248-51. 2005.
- [18] GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PEÑA, A.; KEIRANS, J. E.; ROBBINS, R. G. Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. **International Consortium on Ticks and Tick-borne diseases (ICTTD-2)**, Atalanta, Houten, 01/12. The Netherlands. 173 pp. 2003.
- [19] IISEA-FERNÁNDEZ, GA.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, IE.; HERNÁNDEZ-PAZ, AJ. Actividad garrapaticida de *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem). **Rev. Cub. Plant. Med.** 18(2):327- 340. 2013.
- [20] INOKUMA, H.; NANE, G.; UECHI, T.; YONAHARA, Y.; BROUQUI, P.; OKUDA, M.; ONISHI, T. Survey of ticks infestation and tick-borne ehrlichial infection of dogs in Ishigaki Island, Japan. **J. Vet. Med. Sci.** 63(11): 1225-1227. 2001.

- [21] INOKUMA, H.; YAMAMOTO, S.; MORITA, C. Survey of tick-borne diseases in dogs infested with *Rhipicephalus sanguineus* at a kennel in Okayawa Prefecture, Japan. **J. Vet. Med. Sci.** 60(6): 761-763. 1998.
- [22] KHALID, S.; AMIN, M.; MOSTOFA, M.; CHOUDHURY, M.; UDDIN, B. Effects of Indigenous Medicinal Plants (Neem and Pineapple) Against Gastro-intestinal Nematodiasis in Sheep. **Intern. J. Pharmacol.** (2): 185-189. 2005.
- [23] KOUL, O.; MURRAY, B.; ISMAN, MB.; KETKAR, CM. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. **Can. J. Bot.** 68(1): 1-11. 1990.
- [24] KUMAR, ARV.; JAYADEVI, HC.; ASHOKA, HJ.; CHANDRASHEKARA, K. Azadirachtin use efficiency in commercial neem formulations. **Curr. Sci.** 84(11): 1459-1464. 2003.
- [25] KUMAR, I.; PARMAR, BS. Physicochemical variation in neem oils and some bioactivity leads against *Spodoptera litura* L. **J. Agric. Food Chem.** 47():1735-1739. 1996.
- [26] LEUPOLZ, W. El uso del insecticida biológico de Nim contra ectoparásitos en ovejas. **Conocimientos básicos del pastor de ovejas**. Ed. EDISA Pp 61. 2003.
- [27] LÓPEZ-PANTOJA, Y.; ANGULO-ESCALANTE, M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, C.; SOTO-BELTRÁN, J.; CHAIDEZ-QUIROZ, C. Efecto antimicrobiano de extractos crudos de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) y venadillo (*Swietenia humilis* Zucc) contra *E. coli*, *S. aureus* y el bacteriófago P22. **Bioquim. Asoc. Mex. Bioquim. Clin. A. C.** 32(4): 117-125. 2007.
- [28] MITCHELL, MJ.; SMITH, SL.; JOHNSON, S.; MORGAN, ED. Effects of the neem three components azadirachtin, salanin, nimbin, and 6- desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. **Arch. Insect Biochem. Physiol.** 35(1-2): 199-209. 1997.
- [29] MOISSANT DE R., E.; VICENTE, M.; GARCÍA, Y.; ARMAS, S. Estudio bioecológico de la garrapata del perro, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari : Ixodidae), en un criadero en El Limón (Estado Aragua), Venezuela. **Rev. Fac. Cs. Vet. UCV.** 40(2): 119-125. 1999.
- [30] MORALES-SOTO, M.; CRUZ-VAZQUEZ, C. Fluctuaciones poblacionales de *Rhipicephalus sanguineus*, garrapata parásita de perros, en el valle de Cuernavaca, Morelos, México. Estudio preliminar. **Vet. Méx.** 29(3): 299-301. 1998.
- [31] PAROLA, P.; RAOULT, D. Tick and Tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. **Clin. Infect. Dis.** 32(6):897-928. 2001.
- [32] RAMZAN, M.; KHAN, M.; AYAIS, M.; KHAN, J.; PERVEZ, K.; SHAHZAD, W. Prevalence of ectoparasites and comparative efficacy of different drugs against tick infestation in cattle. **J. Anim. Plant. Sci.** 18 (1): 17- 9. 2008.
- [33] RICE, RE. Media appropriateness. **Human Communicat. Res.** 19 (4): 451-484. 1993.
- [34] SCHWALBACH, LMJ.; GREYLING, JPC.; DAVID, M. The efficacy of a 10 % aqueous Neem (*Azadirachta indica*) seed extract for tick control in Small East African and Toggenburg female goat kids in Tanzania. **South Afric. J. Anim.Sci.** 33(2):83-8. 2003.
- [35] SOCOLOVSCHI, C.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and Ixodid ticks. **Vet. Res.** 40(2): 1-20. 2009.
- [36] VALENTE, M.; BARRANCO, A.; SELLAIVE-VILLARROEL, AB. Eficacia do extrato aquoso de *Azadirachta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. **Arquiv. Brasil. Med. Vet. Zoot.** 59(5):1341-1343. 2007.