

Artículo original

Evaluación del efecto garrapaticida de las hojas de *Azadirachta indica* contra *Rhipicephalus microplus*

Evaluation of the tick effect on the leaves of *Azadirachta indica* vs *Rhipicephalus microplus*.

Villasmil-Zerpa Thayded^{1*}, Daza-Caballero Javier², Cecilio-Escorcía David², Pérez-Colmenares Alida³, Obregón-Díaz Ysbelia³, Aparicio-Zambrano Rosa³.

¹Catedra de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Farmacia Galénica. Escuela de Farmacia. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101, Venezuela.

²Escuela de Farmacia. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101, Venezuela.

³Grupo de Productos Naturales y Química Medicinal. Instituto de Investigaciones "Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101, Venezuela.

Recibido: 10 de marzo de 2025 –Aceptado: 10 de junio de 2025

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el efecto garrapaticida de los extractos y lociones elaboradas a base de las hojas de *Azadirachta indica* contra *Rhipicephalus microplus*. Los extractos fueron preparados por maceración usando como solventes agua y una mezcla de agua:etanol (7:3). La composición química preliminar se estableció cualitativamente mediante la realización de pruebas químicas de coloración y/o precipitación. Se formularon dos lociones en base a los extractos obtenidos previamente. La actividad garrapaticida se determinó mediante la técnica de inmersión de garrapatas adultas. Los resultados del análisis fitoquímico evidenciaron en el extracto acuoso la presencia de alcaloides y en el extracto hidroalcohólico alcaloides, flavonoides y triterpenos. El mayor efecto garrapaticida fue obtenido en las lociones formuladas, presentando 76,0 % de mortalidad la loción elaborada a base del extracto hidroalcohólico mientras que la loción elaborada con el extracto acuoso presentó un 68 % de mortalidad, valores muy cercanos al control positivo Amitraz que reportó un 80 %. Este es el primer reporte sobre actividad garrapaticida de lociones elaboradas con extractos de hojas de *Azadirachta indica* contra *Rhipicephalus microplus* lo cual constituye un aporte como alternativa natural y biodegradable para el control de ectoparásitos.

PALABRAS CLAVE

Azadirachta indica, Neem, *Rhipicephalus microplus*, actividad garrapaticida, actividad ixodíctica.

ABSTRACT

In the present research it was evaluated the tickicide effect of the extracts and lotions made from the *Azadirachta indica* leaves vs. *Rhipicephalus microplus*. The extracts were prepared by maceration using water and a water:ethanol (7:3) mixture. The preliminary chemical composition was established qualitatively through the conduct of chemical tests of coloration and/or precipitation. Two lotions were made from the extracts previously obtained. The tickicide activity was determined through the dipping technique of adult ticks. The results of the phytochemical analysis showed the presence of alkaloids in the aqueous extract and alkaloids, flavonoids and triterpenes in the hydroalcoholic extract. The biggest tickicide effect was obtained in the formulated lotions, presenting 76.0% of mortality in the lotion made from the hydroalcoholic extract, meanwhile the lotion made with the aqueous extract presented 68% of mortality, very close values to the positive control Amitraz, which reported 80%. This is the first report of tickicide activity of lotions made from extracts of *Azadirachta indica* leaves vs. *Rhipicephalus microplus*, which constitutes a contribution as a natural and biodegradable alternative for the ectoparasites control.

KEY WORDS

Azadirachta indica, Neem, *Rhipicephalus microplus*, tickicide activity, ixodicidal activity.

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas son consideradas como ectoparásitos obligados, ya que se alimentan exclusivamente de sangre (hematófagos), ocasionando en los animales afectados daños directos (acción traumática tóxica e infecciosa en los animales) e indirectos (afecciones que ocasionan en la piel) [1]. *Rhipicephalus microplus* es la especie de garrapata con mayor relevancia mundial para la producción pecuaria, es un ácaro ixódido, ectoparásito hematófago que causa daños directos en bovinos a través de laceraciones en la piel, reducción en los niveles de producción, alteraciones reproductivas e indirectos mediante la transmisión de agentes patógenos (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, y *Anaplasma marginale*), todo esto conlleva a la disminución en la producción de carne, producción de leche y atraso en el crecimiento de los bovinos [2,3].

La estrategia empleada para el control de *Rhipicephalus microplus* se basa en la aplicación de ixodicidas químicos, sin embargo, el uso indebido e indiscriminado, la rigurosidad en el mecanismo de aplicación de los productos, la frecuencia de aplicación, la selección y rotación de moléculas acaricidas y la falta de una base epidemiológica para el control de los ectoparásitos, ha propiciado la generación de resistencia a los medicamentos en todas las especies de garrapatas, dificultando su control, debido a que la disponibilidad de nuevos antiparasitarios es cada vez más escasa [4-8].

En las últimas décadas, se han desarrollado diversos estudios con la finalidad de encontrar alternativas para controlar las infestaciones de garrapatas, a raíz de esto, se ha presentado un gran interés de investigar las propiedades acaricidas de un gran número de especies de plantas, con el fin de obtener nuevas moléculas o mezclas de sustancias que retrasen el desarrollo de resistencia o reduzcan el problema de los residuos tóxicos por su característica biodegradable [9,10]. La herbolaria tradicional ofrece información valiosa al describir los usos terapéuticos atribuidos empíricamente a las plantas. No obstante, es crucial complementar esta investigación con aspectos fundamentales como la identificación precisa de las plantas, así como el estudio de su farmacología, toxicología y caracterización fitoquímica [11].

En tal sentido, sobre *Azadirachta indica* (Neem) existen diversos reportes científicos que señalan que contiene compuestos con propiedades insecticidas, antisépticas, antivirales, antipiréticas, antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas y anticancerígenas en la corteza, hojas y semillas [12]. Investigaciones previas, mencionan el efecto bioinsecticida de los extractos acuosos y etanólicos de las

hojas de Neem sobre larvas de garrapatas *Rhipicephalus microplus*. Estos extractos también fueron probados en la fisiología reproductiva de hembras ingurgitadas, presentando resultados similares [13]. De igual modo, se ha evidenciado la reducción de la carga parasitaria con el uso de hojas secas deshidratadas de Neem incluidas en bloques nutricionales para bovinos [14].

En relación a lo mencionado anteriormente, es necesario encontrar alternativas o potencializadores naturales a los productos químicos convencionales garrapaticidas, por lo cual en esta investigación se evaluó el efecto garrapaticida del extracto acuoso e hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Azadirachta indica*, así como de las formulaciones elaboradas en base a dichos extractos sobre *Rhipicephalus microplus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las hojas de *Azadirachta indica* fueron recolectadas en el sector El Rincón, Municipio Libertador, del Estado Mérida. Una muestra testigo fue depositada e identificada como *Azadirachta indica* por el Dr. Pablo Meléndez en el Herbario MERF “Dr. Luis Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (Voucher TV01).

Preparación de los extractos

Las hojas del Neem (*Azadirachta indica*), se sometieron a un proceso de secado en una estufa a 40 °C y posteriormente se molieron. Luego se pesaron dos porciones de 150 g cada una, la primera se colocó con 1,5 L de agua destilada y la segunda con 1,5 L de una mezcla de agua destilada: etanol 96 % en una proporción 7:3, ambas soluciones se dejaron en maceración por 72 horas y se filtraron para obtener el extracto acuoso al 10 % peso/volumen (p/v) (G1) e hidroalcohólico al 10 % p/v (G2), respectivamente. Luego cada extracto fue diluido con agua destilada a una concentración del 5 %, obteniendo el extracto acuoso al 5 % (G3) y el extracto hidroalcohólico al 5 % (G4).

Análisis fitoquímico preliminar

Los extractos obtenidos fueron analizados mediante pruebas químicas de coloración y/o precipitación para la determinación de los metabolitos secundarios presentes en los mismos, siguiendo la metodología descrita por Marcano y Hasegawa (2002) [15].

Formulación de las lociones

Para la elección de la forma farmacéutica tópica y excipientes se tomó en cuenta algunos criterios, tales como factibilidad de fabricación, compatibilidad con el extracto, aspecto, costo, estabilidad y seguridad. Se eligió la forma

farmacéutica de loción para el desarrollo de las formulaciones.

Se realizó la preparación de dos lociones usando el extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de

Azadirachta indica, éstas fueron obtenidas mediante la mezcla y agitación de cada uno de sus componentes a temperatura ambiente, hasta lograr una mezcla homogénea (Tabla 1).

TABLA 1
Composición cuali-cuantitativa de las lociones elaboradas a partir de los extractos obtenidos de las hojas de *A. indica*

Producto	Composición	%
Loción G5	Extracto acuoso al 10 % de las hojas de <i>A. indica</i>	63,3
	Glicerina	10
	Paragón	0,2
	Etanol 96 % c.s.p	100
Loción G6	Extracto hidroalcohólico al 10 % de las hojas de <i>A. indica</i>	63,3
	Glicerina	10
	Paragón	0,2
	Etanol 96 % c.s.p	100

Recolección y mantenimiento de los especímenes de *R. microplus*

Las garrapatas adultas de *R. microplus*, se colectaron de los animales parasitados naturalmente en una finca “La Esperanza”, ubicada en el sector Santa Rosa, Parroquia Antonio Spinetti Dini, Municipio Libertador del estado Mérida. Se escogió ganado bovino adulto de ambos sexos (hembras y machos), tomando en cuenta la cabeza, cuello, tórax, ingle, etc., como principales zonas de influencia. El proceso para la colecta de garrapatas se realizó en el lado derecho, área expuesta a la manga, el cual consistió en tomar manualmente cada garrapata, sustrayéndola suavemente al girarla y tirarla en dirección opuesta (contrapelo) hasta desprenderla por completo evitando no dañar el hipostoma. Se colectaron ectoparásitos adultos, no repletos, sin considerar el sexo. La homogeneización del material biológico constó en seleccionar las garrapatas de entre 0,5–1,0 cm de tamaño, evitando individuos malformados, que tuvieran alguna alteración de consistencia o color. Posteriormente se colocaron en envases de vidrios para ser transportados al Laboratorio “A” de Productos Naturales, adscrito al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. La identificación se llevó a cabo utilizando las claves taxonómicas descritas por Nava y Simonato (2019) [16].

Evaluación del efecto garrapaticida

Para evaluar la actividad garrapaticida, se eliminaron las garrapatas que presentaron alteraciones físicas y solo se dejaron aquellas que presentaron vitalidad y movimiento al momento de iniciar el tratamiento. Las garrapatas previamente seleccionadas se dividieron al azar teniendo en cuenta el tamaño entre 0,5 a 1,0 cm, para conformar grupos de 8 y el ensayo se realizó por triplicado. La exposición de los ectoparásitos, se realizó mediante la técnica de inmersión de garrapatas adultas descrita por Drummond [17]. Las garrapatas se colocaron en cápsulas de Petri (n = 8) con la ayuda de una aguja punta roma, evitando el daño en la cutícula, posteriormente se adicionó 3 mL de cada extracto (G1, G2, G3, G4) y 3 mL de cada loción (G5, G6) y se dejaron sumergidas durante 15 minutos. Al terminar este periodo de tiempo, se retiraron los extractos y lociones en su totalidad, dejando así, las garrapatas en un medio seco. Las cápsulas fueron tapadas con un lienzo, rotuladas exteriorizando el nombre del extracto y/o loción y hora de exposición. Se contó con cinco controles negativos, un grupo no expuesto a sustancias (G7), otro empleando agua (G8), uno con etanol al 96 % (G9) y con etanol diluido al 50 % (G10) y finalmente un grupo con la base de la loción (G11). El control positivo fue el Amitraz® al 20,8 % (1 mL/L) (G12); para la evaluación de estos grupos controles se siguió el mismo procedimiento descrito para las muestras.

La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 horas post aplicación de las muestras, en donde se consideró como garrapatas muertas, aquellas que mostraron ausencia de movimiento en sus patas. Se tomó como valor mínimo de eficacia, una mortalidad del 60 %, valores por debajo de este rango fueron catalogados como ineficaces. El porcentaje de mortalidad aceptado fue no mayor al 10 % en los controles negativos [18].

Se realizaron observaciones diarias y se llevó un seguimiento de los datos; hasta lograr calcular la eficacia de los extractos y de las formulaciones en la supervivencia de las garrapatas, tanto de los grupos control como de los grupos experimentales, de la siguiente manera:

$$\text{Mortalidad} = \frac{\text{Garrapatas muertas}}{\text{Total de garrapatas}} \times 100$$

Análisis estadístico

La media y la desviación estándar de los extractos ensayados se calcularon por triplicado utilizando Microsoft Excel Profesional Plus 2016. Para evaluar su importancia, todos los resultados se sometieron a una prueba de Tukey ($p < 0,05$) para análisis unidireccional (ANOVA) [19].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fitoquímico preliminar

El análisis químico cualitativo de los extractos de las hojas de *Azadirachta indica* (Tabla 2) se realizó mediante pruebas químicas específicas, los extractos obtenidos se colocaron en contacto con diversos reactivos y se observaron las reacciones de coloración o precipitación que determinaron la presencia de ciertos metabolitos secundarios. En el extracto acuoso se determinó la presencia de alcaloides, mientras que el extracto hidroalcohólico presentó alcaloides, flavonoides y triterpenos. Estos resultados se correlacionan con lo reportado previamente para el extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Azadirachta indica*, donde se señala que posee alcaloides, esteroides, terpenoides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, sin embargo, se observó que solo hay diferencia por la ausencia de compuestos fenólicos y taninos en los extractos evaluados en el presente estudio [20,21]. La discrepancia determinada por la ausencia o presencia de metabolitos secundarios puede atribuirse a las polaridades de los solventes y los métodos de extracción usados. Además, debido a factores geográficos y ambientales a los que está expuesta la planta puede variar la composición química [22].

TABLA 2
Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Azadirachta indica*

Pruebas	Metabolitos	Resultados	
		Extracto acuoso (G1)	Extracto hidroalcohólico (G2)
Mayer Dragendorff Wagner	Alcaloides	+	+
Liebermann-Burchard	Esteroides (verde) Triterpenos (rojo)	-	++ (rojo)
Espuma	Saponinas	-	-
FeCl ₃ 1 %	Compuestos fenólicos	-	-
Gelatina 1 %	Taninos	-	-
Shinoda	Flavonoides	-	-
NaOH al 10 %	Flavonoides	-	+
NH ₄ OH conc. H ₂ SO ₄ conc.	Quinonas y/o Antraquinonas	-	-
NH ₄ OH conc.	Cumarinas	-	-
NaOH al 10 %	Lactonas	-	-

Leyenda: (-): ausente; (+): presente; (++) : abundante

Evaluación del efecto garrapaticida

Las muestras fueron evaluadas a las 24, 48 y 72 horas, los resultados obtenidos evidencian que a las 72 horas (Tabla 3), se obtuvo el mayor efecto garrapaticida sobre *R. microplus*, siendo las lociones (G5, G6) las que presentaron mejor porcentaje de mortalidad con 68 % y 76 %, se presume que este efecto se relaciona con las formulaciones elaboradas, ya que las mismas se adhieren de manera eficiente a la superficie de la piel o a la cutícula de los parásitos sin eliminarse fácilmente, permitiendo la penetración y absorción del producto, llegando al sistema nervioso del parásito interrumpiendo el ciclo biológico al inhibir la producción de la hormona que promueve la ecdisis [23,24].

Asimismo, se observó que las concentraciones de los extractos influyeron en la eficacia de los mismos, ya que G1 y G2 (extractos al 10 %) produjeron una mortalidad de 20 % y 40 %, mientras que con G3 y G4 (extractos al 5 %) fue de 8 % y 12 %, respectivamente. Para el caso del Amitraz® (control positivo) se visualizó una mortalidad del 80 % y para los grupos de control negativo, se estableció una mortalidad no mayor al 10 %, esto indica que no intervinieron factores ambientales en la mortalidad de las garrapatas de los grupos tratados.

TABLA 3

Porcentaje de mortalidad de las garrapatas *Rhipicephalus microplus* tratadas con los extractos y lociones elaboradas a base de los extractos de las hojas de *A. indica*

Muestras	Promedio en porcentaje (%) de mortalidad post aplicación (t: 72 h)
G1	20
G2	40
G3	8
G4	12
G5	68
G6	76
G7	10
G8	8
G9	8
G10	4
G11	4
G12	80

Leyenda: G1: extracto acuoso. G2: extracto hidroalcohólico. G3: extracto acuoso al 50 %. G4: extracto hidroalcohólico al 50 %. G5: loción formulada a base de G1 al 10 %. G6: loción formulada a base de G2 al 10 %. G7: grupo no expuesto a sustancias. G8: agua. G9: etanol al 96 %. G10: etanol diluido al 50 %. G11: Base loción. G12: Amitraz 20,8% (1 ml/L). t: 72 h: tiempo de post aplicación a las 72 horas. Las determinaciones se realizaron por triplicado (n=3).

El árbol de *Azadirachta indica* (Neem), contiene componentes biológicamente activos como los triterpenoides, conocidos como limonoides, entre los que destacan la azadiractina, salanina, meliantról, nimbina y nimbidina, los cuales ejercen efectos insecticidas mediante diversos mecanismos como la interrupción del crecimiento de huevos, larvas y pupas; impiden que las larvas se muden a ninfas; repelen a las larvas y adultos, repelen a las hembras para ovipositar, esterilizan a los adultos, envenenan a las larvas y adultos, impide que los insectos se alimenten, confunde a los insectos para realizar la metamorfosis e impide la formación de quitina [25].

En general, las actividades insecticidas de *A. indica* están asociadas con la azadiractina A, que es el compuesto más conocido de esta planta y su función no es provocar la muerte de organismos dañinos ya sean estos insectos, ácaros, hongos y ectoparásitos si no detener el desarrollo fenológico de los mismos [26]. El contenido de azadiractina varía a través de las distintas etapas de desarrollo del árbol durante el año. Al respecto, el mayor contenido de este principio activo se encuentra durante el periodo vegetativo o de producción de hoja (2,7 µg de AZA/g), disminuyendo durante la floración (2,1µg de AZA/g) y casi desaparece durante la formación y madurez del fruto (0,5µg de AZA/g), el nivel alcanzado en esta última etapa varía de 4,7 a 9,0 µg de AZA/g de semilla o sea 2 a 4 veces más que la contenida en las hojas [27, 28].

En tal sentido, se presume que los bajos porcentajes de mortalidad de las garrapatas expuestas a los extractos obtenidos de las hojas de *A. indica* se debe a una disminución en la concentración de azadiractina influenciada probablemente por la época de recolección de la planta. De igual modo, la formulación de las lociones debido a los excipientes que poseen, favorece la fijación de los extractos sobre las garrapatas aumentando la actividad garrapaticida consecuencia de un posible efecto residual de los metabolitos activos sobre los especímenes en estudio.

CONCLUSIONES

La evaluación de la actividad garrapaticida de los extractos y lociones obtenidas de las hojas de *Azadirachta indica* frente a *Rhipicephalus microplus* evidenció que las hojas poseen metabolitos secundarios de origen terpenico como la azadiractina, que actúa contra ectoparásitos regulando las funciones reproductivas de los mismos. Las lociones formuladas a base del extracto acuoso al 10 % (G5) y a base del extracto hidroalcohólico al 10 % (G6), fueron las más activas con un porcentaje de mortalidad similar al control positivo (Amitraz 20,8 %), lo cual sugiere que la utilización de biopreparados a base de *Azadirachta indica* son efectivos

para el control de garrapatas, constituyendo una alternativa terapéutica de bajo costo de producción y con nula incidencia contaminante al ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal del Laboratorio de Productos Naturales “A” adscritos al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, al Herbario MERF “Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes y a la finca “La Esperanza”, ubicada en el sector Santa Rosa, Parroquia Antonio Spinetti Dini, Municipio Libertador del estado Mérida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Santos D, Perdomo D, García D, Torre A. Programa control integral de garrapatas (pcig) del ganado bovino en el estado Trujillo. Inia divulga. 2010; 33-36.
- [2] Zajac M, Conboy G, Little S, Reichard M. Veterinary Clinical Parasitology. Novena Edición. Wiley-Blackwell. 2021.
- [3] Cabaña N, Segovia L, Gómez V, Rossner M, Nava S. Comportamiento de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* durante la fase no parasitaria sobre pasturas. Cien Basic. 2023; (43): 1-3
- [4] FAO. Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants-Guidelines, Module 1-Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. Food and Agriculture Organization, Animal Production and Health Division, Rome. 2004: 25-77.
- [5] Cuore U, Trelles A, Sanchis J, Gayo V, Solari M. Primer diagnóstico de resistencia al fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*. Bio Vet. 2007; 42(165-166): 35-41.
- [6] Saporiti T, Losiewics S, Trelles A, Miraballes C, Correa F, Cuore U. Análisis del perfil de susceptibilidad de la garrapata *Rhipicephalus microplus* para cinco grupos químicos y factores asociados en poblaciones de campo del norte de Uruguay. Vet Montv. 2021; 57(215): 1-11. doi:10.29155/VET.57.215.5.
- [7] Castro-Saines E, Lagunes-Quintanilla R, Hernández-Ortiz R. Microbial agents for the control of ticks *Rhipicephalus microplus*. Parasitol Res. 2024; 123(7): 275. doi: 10.1007/s00436-024-08291-1.
- [8] Moreno-Linares S, García-Ponce R, Hernández-Escareño J, Rodríguez-Ramírez H, Villarreal-Villarreal J. Resistencia a la ivermectina en *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) en el noreste de México y factores de riesgo asociados. Rev Mex Cienc Pecu. 2024; 15(3): 584-601. doi:10.22319/rmcp.v15i3.6502.
- [9] Ferreira L, Dias L, Da Silva C. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev Bras Parasitol. Vet. 2011; 20(2): 89–96. doi:10.1590/S1984-29612011000200001.
- [10] Aponte J, Rodríguez J, Velásquez A, Jaramillo D. Revisión sistemática de extractos de plantas y sus metabolitos secundarios de interés garrapaticida para *Rhipicephalus microplus* en bovinos. Rev Sist Prod Agroecol. 2024; 15(2): e-1180
- [11] Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas M, Ver-Star M. Investigación en plantas de importancia médica Barcelona, España. OmniaScience. 2016; 1-40. doi:10.3926/oms.315
- [12] Isla J, Acosta E, Buentello Z, Delagado-Gallegos J, Moreno-Treviño M, Escalante B, Moreno-Cuevas J. An overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its potential impact on health. J Funct Foods. 2020; 74: 104171-104184. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104171>.
- [13] Castelblanco L, Sanabria O, Carrillo A, Rodríguez A. Reporte preliminar del efecto ixodicida de extractos de algunas plantas sobre garrapatas *Boophilus microplus*. Tunja. CO. Rev Cubana Plant Med. 2013; 18(1): 118-130.
- [14] Barrabí-Puerta M, Arece-García J. Actividad antihelmíntica in vitro de extracto acuoso de hojas y semillas de Neem (*Azadirachta indica*). I. Inhibición de la eclosión de huevos y del desarrollo larvario. La Habana. CU. Rev Salud Anim. 2013; 35(2): 103-108.
- [15] Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. Consejo Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela: Venezuela. 2002.
- [16] Nava S, Mangold AJ, Simonato GE, Puntin E, Sproat DC. Guía para la identificación de las principales especies de garrapatas que parasitan a los bovinos en la provincia de Entre Ríos, Argentina. Ediciones INTA. 2019. 4-9
- [17] Drummond R, Ernst S, Trevino J, Gladney W, Graham O. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory Test of Insecticides. J Econ Entomol. 1973; 66(1):130-133.
- [18] FAO. Requisitos de efectividad biológica para los ixodicidas de uso en bovinos y método de prueba. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México. 1993.
- [19] Bewick V, Cheek L, Ball J. Statistics review 9: one-way analysis of variance, Critical Care. 2004; 8(2): 130. Doi: <https://doi.org/10.1186/cc2836>
- [20] Saleem S, Muhammad G, Hussain M, Bukhari N. A comprehensive review of phytochemical profile,

bioactives for pharmaceuticals, and pharmacological attributes of *Azadirachta indica*. *Phytother Res.* 2018; 32(7): 1241-1272. doi: 10.1002/ptr.6076

- [21] Hikaambo C, Kaacha L, Mudenda S, Nyambe M, Chabalenge B, Phiri M, Lundua L, Akapelwa T, Mufwambi W, Chulu M, Kampamba T. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Azadirachta indica* leaf extracts against *Escherichia coli*. *Pharmacol Pharm.* 2022 13(1): 1-10. doi: 10.4236/pp.2022.131001
- [22] Figueiredo A, Barroso J, Pedro L, Scheffer J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: Volatile components and essential oils. 2008. *Flavour Fragr J.* 2008; 23(4): 213-26. doi: 10.1002/ffj.1875.
- [23] Rodríguez-Ordaz R. Compendio de Fórmulas Magistrales y sus Técnicas de Manufactura. Compograf, SRL. Venezuela. 1989.
- [24] Paredes V. Farmacología Veterinaria II. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. 2010.
- [25] Irigaray F, Moreno-Grijalba F, Marco V, Pérez-Moreno I. Acute and Reproductive Effects of Align®, an Insecticide Containing Azadirachtin, on the Grape Berry Moth, *Lobesia botrana*. *J Insect Scienc.* 2010; 10(33): 1-11. <https://doi.org/10.1673/031.010.3301>
- [26] Sosa-Rueda J, Villarauz F, Domínguez-Meléndez V, Soto-Rodríguez I, López-Fentanes F, Martínez-Herrera D, Peniche-Cardena A, Cen-Pacheco F. Acción ixodocida de productos naturales de plantas nativas mexicanas. *Rev Mex Cienc Pecu.* 2023; 14(2): 292-308. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i2.6245>
- [27] Cruz, FM. Dinámica de la azadiractina en arboles de nim (*Azadirachta indica* a Juss) de México y su efecto contra dos insectos de almacén. [Tesis Doctoral]. Universidad Autónoma de Nuevo León. D. Retrieved from 1998. <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080110341.PDF>
- [28] Angulo-Escalante M, Gardea-Bejar A, Vélez R, García-Estrada R, Carrillo-Fasio A, Chaidez-Quiroz C, Partida-López J. Contenido de Azadiractina A en semillas de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) colectadas en Sinaloa, México. *Rev Fitotecn Mex.* 2004; 27(4): 305-311.

Villasmil Zerpa Thayded Oleyda. Dra. En Química Aplicada. Farmacéutica. Profesora Asistente adscrita a la Catedra de Tecnología Farmacéutica. Departamento de Farmacia Galénica. Escuela de Farmacia. Correo: thayded@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0009-0006-8563-2067>.

Pérez Colmenares Alida Alejandra: Dra. En Química Aplicada. MSc. En Química de Medicamentos, Farmacéutico. Profesora Asociado adscrita al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”. Correo: alidaperezc@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-8910-4663>.

Daza Caballero Javier Augusto: Estudiante de la Escuela de Farmacia. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. Correo: davidcecilio25@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0009-0000-7967-550X>.

Cecilio Escorcía David Alexander: Estudiante de la Escuela de Farmacia. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. Correo: javierau2014@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0009-0002-5736-151>.

Obregón Díaz Ysbelia Miyeli: Dra. En Química de Medicamentos. Farmacéutico. Profesora Agregado adscrita al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” Correo: ysbeliaobregon@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6152-6696>.