

USO DEL ACEITE DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS) COMO ALTERNATIVA AGROECOLÓGICA EN EL CONTROL DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN BOVINOS EN EL MUNICIPIO ACOSTA, ESTADO FALCÓN

M.V. Irama Graterol Coronado

iegraterol@inia.gob.ve

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola-Falcón
Venezuela

Dra. Ana Leonor Puertas Arias

apuestas@udg.co.cu

Universidad de Granma
Cuba

Licda. Eustacia Martínez Leal. MSc.

corocoramar@yahoo.com

Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda".
Venezuela

Dra. Milangela Morillo Muñoz.

mmorillo@inia.gob.ve

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola-Falcón.
Venezuela

Ing. Nidia Arias Nuviola. MSc.

nariasn@udg.co.cu

Universidad de Granma
Cuba

Dra. Ileana Miranda Cabrera

ileana@censa.edu.cu

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Carr. San José-Tapaste.
Cuba.

Recibido: 20 de marzo del 2017

Aprobado: 01 de mayo del 2017

RESUMEN

La investigación se realizó en la unidad de producción Tacarigua, ubicada en El Mene de San Lorenzo, municipio Acosta, estado Falcón. El diseño experimental empleado fue completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos y cinco réplicas, los tratamientos fueron: Aceite de neem al 5%, Aceite de neem al 10%, Aceite de neem al 15% y como tratamiento control, solución yodada. Para analizar las diferencias en las prevalencias de mastitis subclínicas, se utilizó la prueba de comparación de proporciones empleando el programa SAS (2001). Los resultados indican que no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de neem y el tratamiento tradicional, la solución yodada, lo que demuestra el potencial del aceite de neem para el control de la mastitis subclínica como sustituto de agentes químicos agresivos a la salud del hombre y el ambiente en general, que son tradicionalmente usados como desinfectantes postordeño.

Palabras clave: mastitis subclínica, aceite de neem, control de enfermedad.

USE OF NEEM OIL (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS) AS AGRO-ECOLOGICAL ALTERNATIVE IN THE CONTROL OF SUBCLINICAL MASTITIS IN CATTLE IN THE MUNICIPALITY ACOSTA, ESTADO FALCÓN

ABSTRACT

The research was carried out in the production unit Tacarigua, located in El Mene de San Lorenzo, Acosta municipality, Falcón State. The experimental design was completely randomized, with four treatments and four replications. The treatments were: neem oil 5%, neem oil 10%, neem oil 15% and control, Iodine solution. For analyzing the differences on the prevalence of subclinical mastitis, a proportion comparison test was conducted using the program SAS (2001). There were no significant differences among the neem oil treatments with the control treatment, demonstrating the potentiality of neem oil for the control of subclinical mastitis. as a substitute of chemical agents, aggressive to human health and the environment; which are traditionally used as post milking disinfectants .

Key words: subclinical mastitis, neem oil, disease control

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina está distribuida mundialmente y es catalogada como la más costosa de todas las enfermedades que afectan al ganado lechero, por lo que se ha convertido en un serio problema de la industria láctea en todo el Mundo (Scaramelli y González, 2005a). Esta enfermedad induce a la disminución de la producción de leche entre el 4

al 30%, reduce la calidad de leche, incrementa los costos del cuidado de la salud del hato y ocasiona un desecho prematuro de animales genéticamente mejorados (Bedolla y Ponce de León, 2008).

En Venezuela la prevalencia de mastitis subclínica se ha estimado cercana a un 30,18%, atribuida principalmente a pobres condiciones higiénico-sanitarias, considerándose escaso el efecto del sistema y las características del ordeño. Sin embargo, la ganadería bovina en el país es mestiza con características genéticas y fenotípicas, particulares; definidas fundamentalmente por la anatomía de la ubre y del pezón, así como, el volumen de producción de leche, que podrían hacer de éste un animal susceptible a la invasión de patógenos mastitogénicos, por la aplicación de una técnica inapropiada de ordeño (Scaramelli y González, 2005b).

La mayoría de los agentes químicos empleados para el control de esta, enfermedad, además de afectar el medio ambiente, pueden ser un riesgo para la salud de los consumidores. El tratamiento preventivo tradicional de la mastitis consiste en la aplicación de solución yodada post-ordeño, sin embargo, se debe trabajar en la búsqueda de alternativas agroecológicas, como es el caso del uso del aceite de neem para el sellado de pezones (Manjarrez, 2012).

Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la efectividad del aceite de neem en el control de la mastitis subclínica en bovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la finca perteneciente a la Sra. Beril Gambero, dedicada a la explotación bovina bajo un sistema semi intensivo, la cual se encuentra en el Mene de San Lorenzo, municipio Acosta, estado Falcón, ubicada desde los márgenes del río Tocuyo, hasta su desembocadura al mar, a una altura que oscila desde 5 hasta 20 m.s.n.m .

El área corresponde a un relieve ondulado y quebrado, formando lomas y colinas, a una pendiente que oscila entre 3-8%. En cuanto, a las condiciones climáticas, la zona donde se encuentra esta unidad se caracteriza por tener temperaturas que oscilan entre 26 y 28 ° C, y por un periodo húmedo, debido a, un aumento de las precipitaciones en los meses de mayo a noviembre, con un promedio entre 1100 y 1300 mm, condiciones propicias para el aumento de la mastitis subclínica, debido a que, las estaciones lluviosas constituyen un factor predisponente para la proliferación y transmisión de patógenos, preferentemente ambientales, y por tanto, se corre el riesgo de que se eleve la prevalencia de mastitis (Novoa, 2003; Novoa *et al.*, 2005).

Previo al establecimiento del experimento, se realizaron las pruebas diagnósticas de campo (Bedolla *et al.*, 2007): Prueba de California para Mastitis (CMT, por sus siglas en inglés), Prueba de la Conductividad Eléctrica (PCE) y la Prueba de Ph, en la población bovina seleccionada, la que se diagnosticó positiva a la mastitis subclínica, similar a lo obtenido por Manjarrez *et al.* (2012), quienes encontraron una frecuencia de mastitis subclínica elevada en vacas lecheras de producción familiar.

A partir de aquí se tuvo en cuenta una estrategia general para la prevención de la mastitis subclínica de acuerdo a lo recomendado por Florio-Luis *et al.* (2015) que incluye entre otras medidas, limpieza e higiene del ordeño de forma diaria; vigilar el sistema de apoyo de las vacas (natural con becerro o artificial a través de alimento); colocar en el ordeño de últimas las vacas que presentan mastitis subclínica; ordeñar a mano las vacas con mastitis subclínica y ordeñadores capacitados en relación a higiene del ordeño y pruebas de CMT.

El experimento se desarrolló bajo un sistema de producción semi intensivo. Se tomaron 20 bovinos hembras de las razas Criollo Limonero y Holstein, entre 4 y 5 años de edad. El diseño experimental empleado fue completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos y cinco réplicas (animales), los tratamientos fueron: Aceite de neem al 5%, Aceite de neem al 10%, Aceite de neem al 15% y como tratamiento control, solución yodada.

El aceite de neem utilizado se obtuvo en el laboratorio de Sanidad Animal, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Falcón, Venezuela. Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron postordeño como selladores de pezones, durante 21 días.



Figura 1. Aplicación de diferentes concentraciones de aceite de neem como desinfectante postordeño

Transcurrido este período de tratamiento, se realizó la prueba de diagnóstico de mastitis subclínica CMT, las muestras de leche se tomaron directamente de la ubre, de forma aséptica en la sala de ordeño.

Para la prueba de CMT se utilizó una paleta de CMT y 2 mL, del reactivo DETEK por compartimiento de la paleta, es decir 8 mL por animal (Figura 2).



Figura 2. Paleta de CMT

El procedimiento de diagnóstico, interpretación y registro de los resultados de la Prueba CMT se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Fernández *et al.* (2012), bajo el siguiente criterio:

Grado 0 - Negativo (-): El estado de la solución permanece inalterado. La mezcla sigue en estado líquido.

Grado 1 - Ligeramente positivo (+): Se forma un precipitado en el piso de la paleta que desaparece pronto.

Grado 2 - Positivo (++) : Hay mayor precipitado pero no se forma gel.

Grado 3 - Muy Positivo (+++): Se forma un gel muy denso que se adhiere a la paleta.

A partir de los datos obtenidos se elaboró una tabla de frecuencia, teniendo en cuenta las diferentes respuestas a la mastitis de los animales objeto de estudio, para determinar el grado o nivel predominante en la población total y en cada uno de los tratamientos.

Además, se determinó la prevalencia de mastitis subclínica (vacas que tengan al menos un cuarto afectado) y para ello, se consideró la siguiente fórmula (Santivañez *et al.*, 2013):

Índice de Prevalencia (IP) = $(\text{N}^\circ \text{ de Vacas con Cuartos afectados} / \text{N}^\circ \text{ Total de Vacas}) \times 100$.

Para la comparación de los tratamientos, en cuanto a la prevalencia a la mastitis subclínica se realizó una prueba de proporciones para $p \leq 0,05$, con el uso del paquete Statistica v.8 (SAS, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar el grado de mastitis subclínica predominante en el rebaño a los 21 días de aplicados los tratamientos, se obtuvo que la mayor parte de los animales objeto de estudio presentaron respuesta negativa (-) a la mastitis subclínica (65%). Dentro de los tratamientos, tuvieron respuesta negativa un 60% de los animales sometidos a la aplicación de neem al 10%, 5% y solución yodada; mientras que, con la aplicación de neem al 15%, un 80% de los animales presentó respuesta negativa. En los niveles de respuesta entre los grados 1 y 2 se encontraron el 25% de los animales y solo un 10% presentó grado 3, lo que indica que casos con niveles altos solo se presentaron en un 35 % (Fig. 1).

Por la importancia que reviste esta enfermedad, el mero hecho de existir un cuarto de la ubre con reacción positiva (+) ya indica prevalencia de la misma, independientemente del grado de respuesta que se tenga, representando un riesgo para la calidad y

producción de leche, así como, constituye un reservorio de infección para el resto del hato (Mayans *et al.*, 2004).

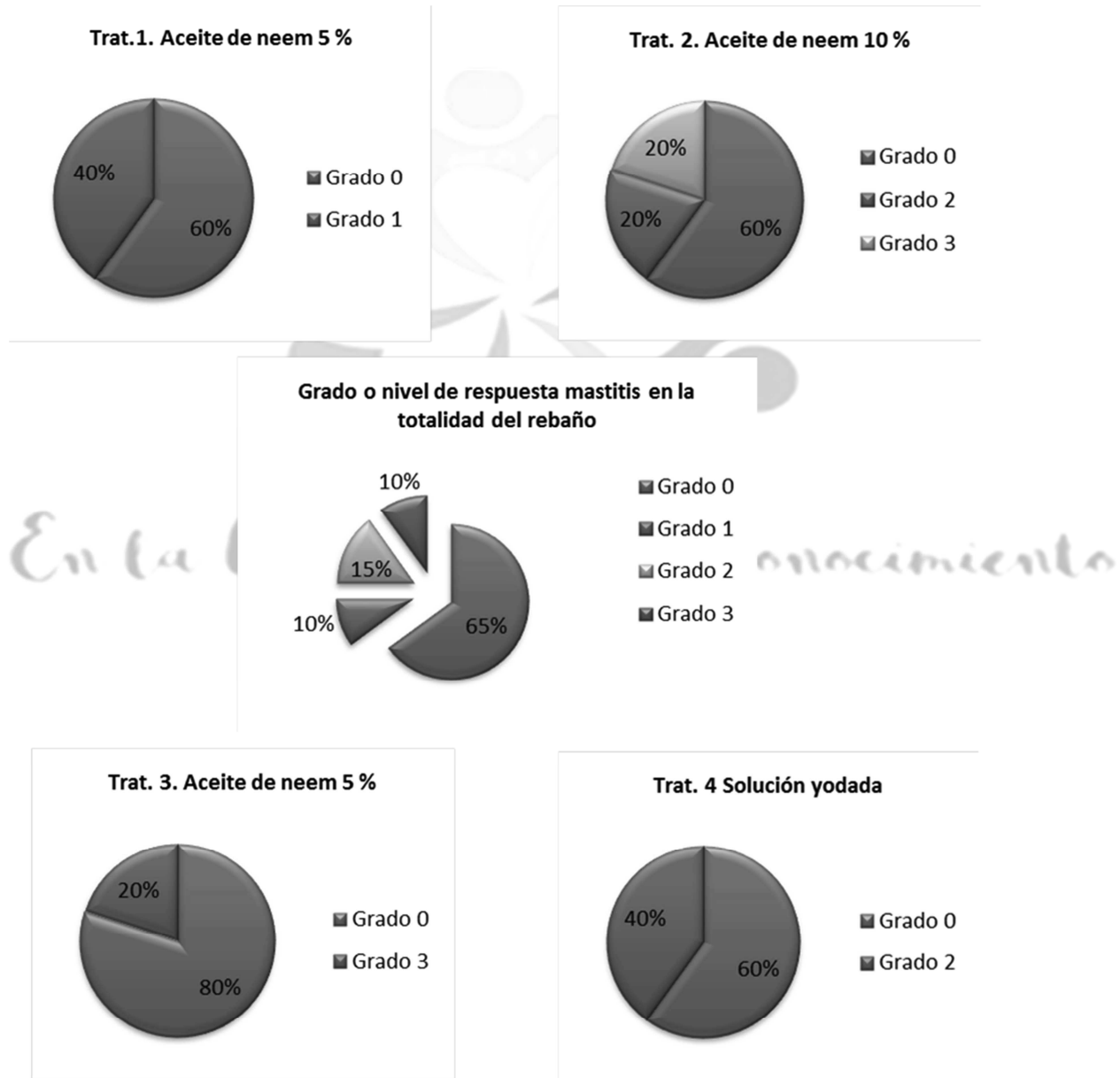


Figura 1. Grado o nivel de respuesta a mastitis subclínica con la aplicación post ordeño de Aceite de neem (5%, 10 , 15%) y solución yodada como selladores de pezón.

Por las razones antes expuestas, es importante tener en cuenta el índice de prevalencia de mastitis subclínica, a partir del monitoreo sistemático con las pruebas diagnósticas recomendadas. Al comparar los resultados del índice de prevalencia de mastitis subclínica en los tratamientos con aceite de neem al 5 %, 10 %, 15 % y la solución yodada se aprecia, que el menor porcentaje de vacas afectadas (20.0 %) corresponde a la aplicación del aceite de neem al 15 %, aunque no presentó diferencias significativas con las restantes concentraciones de neem y la solución yodada.

Tabla 1. Índice de prevalencia de mastitis subclínica en vacas sometidas a tratamiento con aceite de Neem (5 %, 10 % y 15 %) y solución yodada.

Tratamientos	Proporción	Varianza	I. Prevalencia (%)
Aceite de neem 5 %	0,4	0,24	40,0 a
Aceite de neem 10 %	0,4	0,24	40,0 a
Aceite de neem 15 %	0,2	0,16	20,0 a
Solución yodada	0,4	0,24	40,0 a

Medias con letras iguales en las columnas no presentan diferencias para $p \leq 0,05$

La desinfección es una de las prácticas más ampliamente adoptadas en la industria lechera y es la defensa higiénica final contra la infección después de completado el ordeño. Es de vital importancia el antiséptico que ayuda a proteger el conducto del pezón evitando la entrada de microorganismos productores de mastitis (Castillo, 2014). Osteras (2006), indica que el grado de nuevas infecciones se puede reducir en más del

50% cuando un desinfectante adecuado se utiliza para sumergir o rociar los pezones completamente.

Además, Castillo (2014) considera que un desinfectante efectivo, usado correctamente reduce la incidencia de nuevas infecciones intramamarias de un 50 hasta 90%. Asimismo, reconoce que el sellado de pezones postordeño es más efectivo contra *Staphilococcus aureus* Rosenbach y *Streptococcus agalactiae* Lehmann & Neumann, las dos bacterias productoras de mastitis más contagiosas.

El índice de prevalencia obtenido con la aplicación de neem (5 %, 10 % y 15 %) similar al tratamiento tradicional con solución de yodo, confirma las propiedades que se le atribuyen a esta planta para inhibir el crecimiento de las bacterias, hongos y virus (Almas, 1999), potenciado por el hecho de que en la experiencia se cumplieron las medidas elementales de limpieza e higiene del ordeño de forma diaria, se supervisó el sistema de apoyo de las vacas; en el ordeño se colocaron al final las vacas que presentan mastitis subclínica, se realizó ordeño manual y los ordeñadores fueron capacitados en relación a higiene del ordeño y pruebas de CMT.

Respecto al efecto antimicrobiano del neem, Williams *et al.* (1998), estudiaron el efecto inhibitorio de azadiractina pura y azadiractina formulada (Neemix), en *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Paenibacillus larvae*, demostrando que el efecto inhibitorio de azadiractina pura en el crecimiento de las tres bacterias fue significativamente más bajo que el encontrado en azadiractina formulada (Neemix). Del mismo modo, Coventry y Allan (2001) determinaron los componentes en extractos de semillas de neem, encontrando que azadiractina, nimbina y salannina, en conjunto, son responsables de la actividad antimicrobiana.

Mientras que, Okemo *et al.* (2001) al determinar la actividad antimicrobiana de extractos metanólicos de neem, encontraron que a concentraciones de 8 y 0,5 mg/mL, se inhibió el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. También, López-Pantoja *et al.* (2007), determinaron que extractos crudos de neem (*A. indica* A. Juss) y venadillo (*Swietenia humilis* Zucc) contra *E. coli*, *S. aureus* y el

bacteriófago P22, lograron una reducción bacteriana y viral constante y lo proponen como una alternativa natural en la reducción de patógenos que son transmisores de la mastitis bovina.

Por su parte, Pérez *et al.* (2007) y Jaramillo *et al.* (2010) evaluaron la actividad de los extractos de neem a concentraciones desde 10 hasta 50 mg/mL sobre *Staphylococcus aureus*, aislado a partir de leche de vacas con mastitis subclínica, presentándose como resultado una evidente actividad bacteriostática. En cuanto al efecto antibacteriano de los extractos en la cepa control *S. aureus* se observó una total sensibilidad ante las diferentes concentraciones desde 10 hasta 50 mg/mL.

Por otro lado, se debe destacar que los resultados obtenidos en el presente trabajo tienen el mérito de haber sido alcanzados en época de lluvias cuando hay incremento de humedad en los potreros donde las vacas pasan la noche, lo que facilita que el patógeno penetre la ubre vía pezón (Florio-Luis *et al.*, 2015). Las estaciones lluviosas constituyen un factor predisponente para la proliferación y transmisión de patógenos, preferentemente ambientales, y por ende se corre el riesgo de que se eleve la prevalencia de mastitis. De hecho, los brotes de mastitis por coliformes son comunes durante las estaciones lluviosas cuando se exponen las vacas a la suciedad por estiércol, con el peligro de que vayan sucias a las salas de ordeño (Hogan y Smith, 2008).

En estudios previos se han informado prevalencias de mastitis subclínica superiores a las obtenidas en el presente trabajo, entre ellos: Armenteros *et al.* (2006) en Cuba (75 %); Cuayla (2010) en Colombia (62,3%); Ramírez *et al.* (2011) en Colombia (54,8%), Ruiz *et al.* (2011) en Brasil (31,7%), Santivañez *et al.* (2013) en Colombia (65,55-72,25%), Gómez *et al.* (2015) en Perú (65,6% -72,3%). Sin embargo, Florio-Luis *et al.* (2015) lograron disminuir la prevalencia de la mastitis subclínica, desde valores de 86% hasta 21,68%, gracias a estrategias correctivas sencillas de prevención y control de la mastitis. Por supuesto, que la variabilidad de la prevalencia de mastitis depende de las condiciones propias en que se desarrollaron las experiencias.

En la medida que se disminuya la prevalencia de la mastitis subclínica se garantiza un rebaño más saludable y productivo. La prevalencia de esta enfermedad es un elemento crucial a tener en cuenta en las estrategias de prevención y control de la mastitis, ya que significa el porcentaje de vacas o cuartos con diagnóstico de infección intramamaria en un periodo dado. La mastitis subclínica suele ser más frecuente y de 15 a 40 veces más prevalente que la mastitis clínica, determinado esto fundamentalmente porque no hay cambio fácilmente detectable en la ubre y no se observa anormalidad en la leche, de acuerdo a lo descrito por Ponce (2011).

Los resultados obtenidos en esta experiencia y los elementos anteriormente expuestos permiten reafirmar las potencialidades del aceite del neem como antimicrobiano para uso animal, efectivo para la disminución de la prevalencia de la mastitis subclínica, por lo que podría ser utilizado con éxito como desinfectante postordeño dentro de las estrategias de prevención y control de esta enfermedad.

CONCLUSIONES

La aplicación de aceite de neem (5%, 10% y 15%) como desinfectante post ordeño provocó la disminución del índice de prevalencia hasta valores de 20-40%, con comportamiento similar al desinfectante tradicionalmente empleado, la solución yodada.

Se recomienda realizar estudios extensivos con el uso del aceite de neem como desinfectante postordeño, dentro de las estrategias de prevención y control de la mastitis, a modo de alternativa agroecológica ante el empleo excesivo de agentes químicos.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Almas, K. (1999). The antimicrobial effects of extracts of *Azadirachta indica* (Neem) and *Salvadora persica* (Arak) chewing sticks. *Indian J. Dent. Res.*, 10,23-26.
- Armenteros, M., Ponce, P., Capdevila, J., Zaldívar, V. & Hernández, R. (2006). Prevalencia de mastitis en vacas lecheras de primer parto y patrón de sensibilidad de las bacterias aisladas en una lechería especializada. *Rev. Salud Anim.*, 28(1), 8-12.

- Bedolla C. & Ponce de León, M. (2008). Economic casualties inflicted by the bovine mastitis in the milk industry. *Rev. Electrónica Veterinaria REDVET*, 9(4). Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.
- Bedolla, C., Castañeda, V. & Wolter, W. (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina. *Rev. Electrónica Veterinaria REDVET*, 8(9). Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>.
- Castillo (2014). La mastitis bovina. *CD de Monografías 2014 (c)*. Universidad de Matanzas, Cuba.
- Coventry, E. & Allan E. (2001). Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: new data on antimicrobial activity. *Phytoparasitica*, 29, 1-10.
- Cuayla, E. (2010). *Prevalencia de Mastitis subclínica bovina en las Secciones C, D y E en establos inscritos en el comité zonal de productividad lechera, distrito de Majes, departamento de Arequipa*. (Tesis Inédita de Grado Medicina Veterinaria y Zootecnia). Universidad Católica de Santa María, Perú.
- Fernández, O., Trujillo, J., Peña J., Cerquera J. & Granja Y. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico (Bovine Mastitis: general and diagnostic methods). *Rev. Electrónica Veterinaria REDVET*, 13(11). Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111112.html>.
- Florio-Luis, J., Pineda, M., Polanco, M., Mendoza, J., Díaz, N. & Florio-Luis, G. (2015). Estrategias de prevención y control de mastitis como apoyo para preservar un rebaño bovino en los llanos centrales, Venezuela. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA*, 6, 598-616.
- Hogan, J. & Smith, K. (2008). Risk factors associated with environmental mastitis National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. *J. Dairy Res.*, 56, 19.
- López, Y. Angulo, M., Martínez, C., Soto, J. & Chaidez, C. (2007). Efecto antimicrobiano de extractos crudos de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) y venadillo (*Swietenia humilis* Zucc) contra *E. coli*, *S. aureus* y el bacteriófago. *Bioquímica*, 32(4), 117-125.
- Manjarrez, L., Velázquez, O., Alonso, M., Díaz, Z., Lagunas, B., Valladares, C. & Saltijeral, O. (2012). *Niveles de infección producidos por Staphylococcus aureus en hatos lecheros del Estado de México* (Reunión Nacional de Investigación Pecuaria). Yucatán, México.
- Mayans, V., Robledo, A. & Quintero, P. (2004). La higiene del ordeño. Recuperado de http://www.agrocabildo.com/publica/Publicaciones/gana_85_D_Higiene.Pdf.
- Novoa, R. (2003). *Evaluación epizootiológica y económica de la mastitis bovina en rebaños lecheros especializados de la provincia de Cienfuegos*. (Tesis inédita de Maestría en Ciencias, Especialidad de Medicina Preventiva Veterinaria). Universidad Agraria de la Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez", La Habana, Cuba.
- Novoa, R., Armenteros, M. & Abeledo, M. (2005). Factores de riesgo asociados a la prevalencia de mastitis clínica y subclínica. *Revista de Salud Animal*, 27(2), 84-88.

- Okemo, P., Mwatha W., Chhabra, S. & Fabry W. (2001). The kill kinetics of *Azadirachta indica* A. Juss (*Meliacea*) extracts on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. *African J. Sci. Technol.*, 2, 113-118.
- Osteras, O. (2006). Mastitis epidemiology practical approaches and applications. *XXIV World Bariatric Congress*. Nice, France.
- Pérez, M., Cabrera, L., Pietrosevoli, S., Colina, G., Oviedo de Vale, M. & Méndez, Y. (2007). Uso del extracto acuoso de la hoja del neem (*Azadirachta indica* Juss) sobre *Staphylococcus* causantes de mastitis. *Comp. Fac. Agron. (LUZ)*, 113.
- Ponce, P.; Ribot, A., Capdevila, J. & Villoch, A. (2011). *Procal. Manual de aprendizaje de calidad de leche* (Manual dirección de calidad CENSA). La Habana, Cuba.
- Ramírez, N., Arroyave, O., Cerón, M., Jaramillo, M., Cerón, J. & Palacio, L. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Rev. Med. Vet.*, 22, 31-42.
- Ruiz, A., Ponce, P., Gomes, G., Mota, R., Sampaio, E., Lucena, E. & Benone, S. (2011). Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Rev. Salud Animal*, 33(1), 57- 64.
- S.A.S. (2001). *Statistical Analysis System, Release 8.02*. SAS Institute Inc, Cary, North Caroline, USA.
- Santivañez, C., Gómez, O., Cárdenas, A., Escobedo, M., Bustinza, R. & Sánchez, J. (2013). Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. *Revista Veterinaria y Zootecnia*, 7(2), 92-104.
- Scaramelli, A. & González, Z. (2005a). Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. En Fundación GIRARZ Ed., *Manual de ganadería multipropósito* (328-335). Maracaibo: Astro Data.
- Scaramelli, A. & González, Z. (2005b). Prevención y control de La mastitis bovina. En: En Fundación GIRARZ Ed., *Manual de ganadería multipropósito* (335-340). Maracaibo: Astro Data.
- Williams, R., Peng, C., Chuang, R., Doi, R. & Mussen, E. (1998). The inhibitory effect of azadirachtin on *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood in the honeybee, *Apis mellifera* L. *J. Invert. Pathol.*, 72, 252-267.