

Mestorino, N.;  
Lucas, M.; Daniele, M.;  
Errecalde, J.O.

Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica.  
Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.  
[noram@fcv.unlp.edu.ar](mailto:noram@fcv.unlp.edu.ar)



FARMACOLOGÍA

# Perfil de eliminación en leche de la asociación cefalexina-neomicina tras su administración por vía intramamaria



## Resumen

El objetivo del presente trabajo fue analizar el perfil de eliminación de una formulación a base de cefalexina y neomicina administrada por la vía intramamaria en vacas de alta y de baja producción. Las concentraciones equivalentes en leche se determinaron por método microbiológico. Los animales experimentales fueron seis bovinos Holando Argentino sanos y en lactancia que recibieron tres dosis intracisternales, de cada cuarto mamario, a intervalos de doce horas. Se obtuvieron muestras de leche de los cuatro cuartos previamente a la aplicación del primer pomo intramamario y sucesivamente cada doce horas hasta las 168 horas postratamiento. El tiempo de descarte (withdrawal time) se determinó aplicando el método armonizado Time to Safe Concentration (TTSC) recomendado por la Comunidad Europea. El tiempo requerido para que la concentración de los residuos en la leche no sobrepase el Límite máximo de Residuos (LMR) establecido para neomicina (500 ppb) y para cefalexina (100 ppb) fue calculado en 9,28 ordeñes.

Palabras clave: Cefalexina. Neomicina. Leche. Bovinos. Farmacocinética. Residuos. Withdrawal

## Introducción

El empleo de antibióticos con fines terapéuticos o profilácticos en las vacas lecheras determina la presencia de concentraciones residuales de estas drogas en diferentes tejidos y fluidos. La presencia de residuos químicos en alimentos es una de las mayores preocupaciones de científicos, autoridades, productores y consumidores.

La leche es uno de los alimentos de mayor riesgo de contaminación química debido a la elevada presión quimioterápica/antiséptica a la que los animales de tambo están sometidos. El tratamiento con antimicrobianos por la vía intramamaria durante el período de lactancia puede resultar en la presencia de residuos en leche, siendo necesario establecer tiempos de retirada adecuados al producto o asociación antimicrobiana utilizada.

La seguridad del consumidor se basa en una serie de medidas como el límite máximo de residuo (LMR) y la ingesta diaria aceptable (IDA). Conociendo el LMR se puede estimar el tiempo de retirada para cada principio químico y para los diferentes formulados utilizados. Existen diferentes métodos armonizados que han sido fijados por los países miembros de la Comunidad Europea que nos permiten determinar dicho periodo de tiempo.

El laboratorio elaborador debe dar instrucciones claras y precisas de utilización del producto; y el veterinario debe actuar de acuerdo a las mismas. De esta manera se controlaría la presencia de inhibidores en leche, puesto que los mismos acarrear consecuencias como toxicidad en los consumidores (lo más frecuente son las alergias), selección de cepas resistentes (RYAN ET AL., 1986) e incidencia negativa en los procesos de industrialización (los cultivos iniciadores para la producción de yogurt y queso son sensibles a concentraciones bajas de antimicrobianos (ALLISON 1985; BRADY & KATZ, 1988; ERRECALDE, 1996). También, la presencia de residuos de antibióticos puede influir en el resultado del recuento total de gérmenes, produciendo interferencias en las pruebas de la reductasa y dando resultados erróneos en el recuento de gérmenes patógenos, falseando así la calidad higiénica de la leche (MORETAIN, 1996).

La asociación entre antibacterianos y antiinflamatorios es frecuentemente utilizada para el tratamiento de afecciones que combinan la infección con inflamaciones destructivas. Los corticoides han demostrado ser eficaces en reiteradas oportunidades, especialmente en casos de mastitis graves, ya que previenen la liberación de enzimas lisosomales de los neutrófilos y la resultante destrucción tisular. Al mismo tiempo, y si bien no es una contingencia frecuente, el corticoide asociado a una cefalosporina actuaría en forma inmediata en caso de reacciones alérgicas producidas por el beta-lactámico.

Cefalexina es una cefalosporina de primera generación activa frente a una amplia variedad de infecciones causadas por estafilococos, estreptococos, enterobacterias, corynebacterias y bacterias anaerobias G+. También presenta actividad frente a determinadas bacterias G- aerobias y anaerobias. En general el *S. aureus* productor de penicilinasa es susceptible, sin embargo se han reportado casos

de resistencia por  $\beta$ -lactamasa y si se trata de un *S. aureus* meticilino-resistente, lo será también frente a todas las cefalosporinas (PRESCOTT & DESMONT BAGGOT, 1988, PRESCOTT, 2000).

Por ser activas frente a una gran variedad de microorganismos no específicas, las cefalosporinas tienen un uso especial en el tratamiento de la mastitis bovina (Wilson & Gilbert, 1986). De hecho, su introducción en la terapia local de la mastitis ha sido de gran utilidad (PRESCOTT & DESMONT BAGGOT, 1988).

Neomicina, es un antimicrobiano perteneciente al grupo de los aminoglucósidos y como tal, es un bactericida de acción rápida. Los aminoglucósidos son activos frente a bacterias aeróbicas Gram-, mientras que frente a bacterias Gram+ su acción es limitada, con excepción del *S. aureus* (Prescott & Desmont Baggot, 1988).

Neomicina combinada con Penicilina G, ha demostrado excelentes resultados en el tratamiento de mastitis por estafilococos y estreptococos (PRESCOTT & DESMONT BAGGOT, 1988), incluso han sido superiores a los obtenidos con la combinación Penicilina-estreptomomicina (LE LOUEDEC, 1978). También se ha asociado con espiramicina para el tratamiento de la vaca seca con resultados satisfactorios (PRESCOTT & DESMONT BAGGOT, 1988; MORETAIN & BOISSEAU, 1993).

Las cefalosporinas y los aminoglucósidos actuarían sinérgicamente frente a un amplio rango de bacterias patógenas. Esta interacción se explicaría porque la penetración de la pared bacteriana se ve favorecida frente a drogas que interfieran en la síntesis de la misma, como es el caso de los  $\beta$ -lactámicos (TAMPONEN ET AL. 2003). Por supuesto, siempre y cuando el microorganismo sea sensible a los  $\beta$ -lactámicos (PRESCOTT & DESMONT BAGGOT, 1988) y a los aminoglucósidos (ELIOPOULOS & MOELLER, 1996; PRESCOTT, 2000). De hecho, los aminoglucósidos han sido utilizados desde 1960 en el tratamiento de mastitis y en general se los ha combinado con penicilina G u otro  $\beta$ -lactámico (WHITTEM & HANLON, 1997a).

Muchos autores han realizado estudios de eliminación de residuos de aminoglucósidos por leche, incluso en combinación con penicilinas (ROLLINS ET AL, 1970; MERCER ET AL, 1974; Larocque & Neville, 1985; Moretain & Boisseau, 1993), pero sus resultados no pueden ser directamente aplicados a las preparaciones actualmente disponibles en Argentina.

Debido a que en los últimos años han aparecido en el mercado gran cantidad de formulaciones intramamarias a base de la asociación neomicina/cefalexina con o sin antiinflamatorios es fundamental establecer el tiempo de retirada apropiado a cada producto. De manera tal que los objetivos del presente estudio fueron evaluar la cinética de eliminación de la asociación cefalexina/neomicina/prednisolona luego de su administración intracisternal durante el período de lactancia en animales de alto y bajo nivel productivo y establecer el período de descarte correspondiente.

## Materiales y Métodos

### Animales experimentales

Se utilizaron seis vacas Holando Argentino en lactancia, sanas, con un peso corporal promedio de  $498.00 \pm 19.25$  kg. El grupo experimental estaba integrado por 3 animales con una producción láctea mayor a los veinte litros y 3 animales con una producción menor a 15 litros diarios. Los bovinos no formaban parte de ningún experimento paralelo, ni habían recibido medicación alguna durante los 30 días previos. Durante el experimento, las vacas fueron mantenidas en la rutina de ordeño habitual (dos ordeños diarios) procurando minimizar los factores de stress que pudiese generar el muestreo.

### Formulación y dosis

Cada pomo de 10 mL contenía: cefalexina monohidrato (0,100 g), neomicina sulfato (0,150 g), prednisolona (0,005 g) y cantidad suficiente de excipientes para 10 g (Cefalexina Elmer®).

Una vez lavado y desinfectado el pezón, previo ordeño, los animales experimentales recibieron tres aplicaciones intramamarias en cada cuarto a intervalos de doce horas.

### Muestreo de leche

Las muestras fueron obtenidas según las normas del Nacional Mastitis Council (1990), a partir de los 4 cuartos mamarios y coincidentes con los ordeños. El esquema de muestreo seguido fue: a las 0 h (muestra control, antes de la primer aplicación), 12 h (antes de la segunda), 24 h (antes de la tercer administración intramamaria), 36, 48, 60, 72, 96, 120, 144 y 168 horas.

### Análisis de las muestras

Las concentraciones equivalentes de cefalexina-neomicina en leche se determinaron por método microbiológico, técnica cilindro-placa (GROVE & RANDALL, 1955). Se utilizó *Bacillus subtilis* ATCC 6633 como microorganismo test y el medio de cultivo fue Medio para Antibióticos N°1 (laboratorio Difco, Detroit, MI, USA). El método microbiológico permite determinar el total de los residuos antimicrobianos activos, es decir con poder inhibitor del crecimiento bacteriano. De manera tal que los valores de concentración obtenidos serán considerados concentraciones equivalentes de cefalexina/neomicina. Según el informe de la novena reunión del Comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos los residuos de asociaciones antibióticas corresponden a la sumatoria de los residuos de los analitos en cuestión, en este caso cefalexina/neomicina (Codex Alimentarius, 1997).

La técnica tuvo un límite de cuantificación de  $0,062 \mu\text{g/mL}$ . El coeficiente de correlación promedio obtenido para soluciones patrones conteniendo cefalexina/neomicina en leche en concentraciones entre 1 y  $0,062 \mu\text{g/mL}$  fue de 0,9786 con un CV de 5,21 %.



La linealidad del método se determinó mediante la realización de curvas de calibración (n= 6) con estándares de cefalexina / neomicina en iguales proporciones al formulado ensayado en los siguientes equivalentes de concentración 0,062; 0,125; 0,25; 0,5; y 1 µg/mL. Los estándares fueron preparados fortificando con cefalexina/neomicina leche libre de inhibidores, en la relación neomicina:cefalexina (1,5:1). El límite de detección del ensayo fue de 0,045 µg/mL y el de cuantificación fue 0.062 µg/mL.

**Análisis farmacocinético:**

A partir de la última administración se realizó un análisis farmacocinético por método no compartimental utilizando el programa informático WinNonlin Professional 5.0 (SCIENTIFIC CONSULTING INC., CARY, N.C.). Los parámetros calculados fueron: semivida de eliminación ( $T_{1/2} \lambda 1$ ) área bajo la curva de concentración láctea versus tiempo extrapolada al infinito (AUC 0-∞) y tiempo medio de residencia (MRT).

**Determinación del período de retirada**

Se realizó siguiendo el método armonizado TTSC (Time to Safe Concentration). El TTSC (Time to Safe Concentration) fue elegido como método armonizado por la Comunidad Europea. Se utilizó el programa WTM 1.4 desarrollado por la Agencia Europea para la Evaluación de Productos λ

Medicinales (EMA). Este método calcula el límite de tolerancia sobre el número de ordeñes por animal. El límite de tolerancia es el tiempo necesario para que la concentración residual en la leche de la mayoría de los animales alcance una concentración segura (Límite Máximo de Residuos). El tiempo de retirada es calculado con un límite de tolerancia del 95/95, es decir, un límite de confianza superior del 95% en el 95% de la población de los tiempos individuales. El Límite máximo de Residuos (LMR) establecido por la EMA para neomicina es 500 ppb y para cefalexina es 100 ppb.

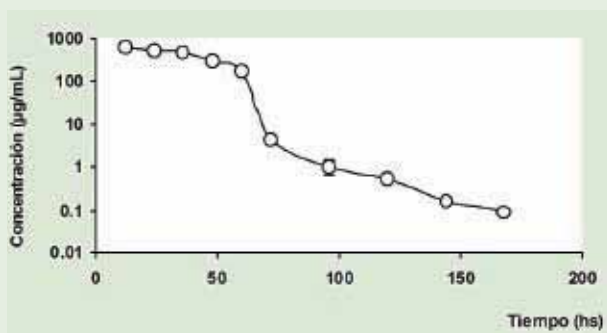


**Resultados**

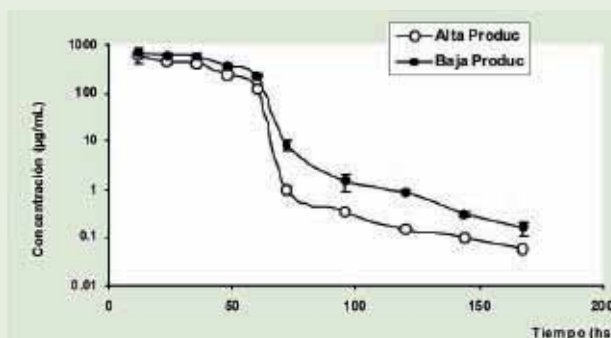
En la FIGURA 1 se presentan los perfiles de eliminación en leche (promedio ± DS) de los antimicrobianos ensayados tras la administración intramamaria de tres pomos a intervalos de 12 horas. Mientras que en la FIGURA 2 se comparan los perfiles lácteos obtenidos en animales de alta y de baja producción.

Los resultados (promedio ± DS) del análisis farmacocinético realizado a partir de los datos de concentración equivalente de cefalexina/neomicina en leche se exponen en la TABLA I.

**FIGURA 1. PERFIL DE CONCENTRACIONES EQUIVALENTES PROMEDIO ± DS DE CEFALEXINA/NEOMICINA EN LECHE, LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE TRES POMOS INTRAMAMARIOS DE CEFALEXINA ELMER® EN BOVINOS CON UNA PRODUCCIÓN MAYOR A 20 L DIARIOS.**



**FIGURA 2. PERFIL COMPARATIVO ENTRE LAS CONCENTRACIONES EQUIVALENTES DE CEFALEXINA/NEOMICINA EN LECHE OBTENIDAS PARA ANIMALES DE ALTA PRODUCCIÓN Y DE BAJA PRODUCCIÓN, LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE TRES POMOS INTRAMAMARIOS DE CEFALEXINA ELMER®.**



**TABLA I. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS (PROMEDIO ± DS) OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAMAMARIA DE LA ASOCIACIÓN CEFALEXINA/NEOMICINA/PREDNISOLONA EN VACAS EN LACTANCIA.**

Parámetro	Producción >20 L			Producción <15 L				Media	DS
	7	8	9	10	11	12			
B (µG/mL)	794,33	664,34	1022,33	680,89	1060,28	887,98	851,69	168,231	
λ(h <sup>-1</sup> )	0,030	0,031	0,032	0,034	0,046	0,041	0,036	0,006	
T <sub>1/2</sub> λ (h)	22,93	22,49	21,38	20,63	14,96	16,75	19,86	3,254	
AUC(µG.H/mL)	11598,85	15415,35	16711,92	16468,89	22379,51	19713,66	17048,03	3696,967	
CLM (mL/h)	21,55	16,22	14,96	15,18	11,17	12,68	15,29	3,577	
MRT(h)	11,07	14,99	12,09	16,54	14,87	15,17	14,12	2,083	



Al realizar el cálculo del tiempo de retirada aplicando el método armonizado de la Comunidad Europea TTSC (tiempo de concentración segura) se estimó (para los seis animales tratados -3 de alta producción y 3 de baja producción-) un tiempo de descarte de 9,28 ordeñes. Considerando que los animales fueron ordeñados cada 12 h, el tiempo necesario (withdrawal) para que la concentración residual en la leche de la mayoría de los animales alcance una concentración segura (Límite Máximo de Residuos, 500 ppb para NEO y 100 ppb para CEF) sería de 111,36 h (4,64 días) post-última administración.

## Discusión y conclusiones

La técnica microbiológica empleada fue adecuada para cuantificar la asociación antibiótica ensayada, dado que presentó buena sensibilidad (0,045 µg/mL) y un límite de cuantificación muy por debajo de los niveles de tolerancia recomendados. El coeficiente de correlación promedio obtenido para soluciones patrones conteniendo cefalexina/neomicina en leche en concentraciones entre 1 y 0.062 µg/mL fue de 0,9786 con un CV de 5,21 %.

La principal razón por la que se recurre a la combinación β-lactámico-aminoglucósido es el amplio espectro. Si bien el aminoglucósido es efectivo contra bacterias coliformes, la alta tasa de curación espontánea de la mastitis por coliformes hace que dicho tratamiento sea cuestionable. (PYÖRÄLÄ & PYÖRÄLÄ, 1998; WILSON ET AL., 1999). Sin embargo, no se puede dejar de lado bajo ningún concepto al *Staphylococcus aureus*, puesto que constituye la principal causa de mastitis subclínica o mastitis clínica leve a moderada (Prescott, 1988; Erskine, 2002), y se destaca entre los demás agentes infecciosos, por su capacidad de resistir mediante diferentes mecanismos la terapia antibiótica (PHILPOT Y NICKERSON, 2000).

Entre los agentes causales de mastitis, se ha demostrado *in vitro* la existencia de actividad sinérgica entre β-lactámicos-aminoglucósidos frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* (ROSSELET ET AL., 1977; FRANKLIN ET AL., 1984; LOHUIS ET AL, 1995 a,b). En algunos experimentos se ha sugerido que dicho sinergismo es dependiente de la concentración de las dos drogas y de la cepa bacteriana, siendo algunas de estas susceptibles al sinergismo y otras no (FRANKLIN ET AL., 1984).

El análisis de las curvas concentración equivalente de cefalexina/neomicina en leche permite evidenciar una ligera mayor concentración y permanencia de las moléculas en aquellos animales con una producción de leche inferior. Este hallazgo fue corroborado con los valores de área bajo la curva concentración en función del tiempo (AUC = 19520.69 ± 2960.031 µg.h/mL vs 14575.37 ± 2658.015 µg.h/mL en baja producción vs alta producción) y con el tiempo medio de residencia (MRT = 15.53 ± 0.89 h vs 12.72 ± 2.034 h, respectivamente). Sin embargo no se encontraron diferencias altamente significativas entre ambos lotes, posiblemente

por tratarse de lotes muy pequeños (solo 3 animales en cada grupo).

La disminución de la concentración equivalente de la asociación cefalexina/neomicina es característica de una cinética de orden uno y puede servir como indicador de la absorción de la misma dentro de la glándula y una eventual absorción hacia sangre (ZIV, 1980). Las propiedades físico-químicas de los antimicrobianos que más afectan la absorción dentro de la glándula mamaria son la liposolubilidad y el pKa (ZIV, 1980). Consecuentemente, moléculas polares como la neomicina se absorberán pobremente hacia el volumen plasmático (ZIV, 1981).

En la práctica clínica los antimicrobianos son administrados por la vía intramamaria en vacas con mastitis, en donde la leche difiere en su composición y propiedades físico-químicas con respecto a los animales sanos, por lo cual la eliminación de las moléculas podría verse afectada.

La excreción de los agentes antimicrobianos a través de la leche depende de una serie de factores físico-químicos, como pH, solubilidad del fármaco en lípidos y unión de éste a las proteínas. A su vez, estos factores pueden verse alterados por la enfermedad y provocar cambios sistémicos o locales en la distribución de dicha sustancia.

Tras la aplicación de Cefalexina-Neomicina-Prednisolona a la dosis especificada anteriormente se debería descartar la leche durante el tratamiento y los 9 ordeñes posteriores a la finalización del tratamiento, la leche apta para consumo se obtendrá a partir del 5to día post-tratamiento. Nuestro resultado coincide con otros hallados en la literatura para neomicina asociada con espiramicina o con lincomicina (BOOTH, 1986) quienes señalan un período de descarte, también de 5 días. Sin embargo no debemos olvidar que las diferentes formulaciones influyen en la liberación y eliminación de un fármaco y por lo tanto cualquier modificación realizada incide en el período de resguardo (OLIVER ET AL. 1990, RIVIERE, 1991, MESTORINO, 1993). De manera tal que toda nueva formulación lanzada al mercado debe contar con su correspondiente estudio de los niveles residuales y calculo del período de retirada.

En general los estudios farmacocinéticos en bovinos de leche son realizados en animales normales; el uso de animales con mastitis subclínica o clínica, homogéneamente seleccionados, puede contribuir a un mejor entendimiento de posibles tratamientos. Probablemente, en los países realmente desarrollados desde el punto de vista lechero, los planes de administración diseñados por las empresas no puedan ser objetados, debido a la homogeneidad del rendimiento de los rodeos. En nuestro país, pese al elevado nivel alcanzado por muchas explotaciones, siguen existiendo explotaciones de escaso rendimiento y pobre perfil sanitario. Hemos detectado importantes diferencias farmacocinéticas y en períodos de retirada entre animales normales y mastíticos. Este es un problema que, si no se estudia debidamente, puede resultar en cuantiosas pérdidas económicas. Por otro lado nos preocupan sobremanera las diferencias en productividad que detectamos en distintas



explotaciones. Creemos muy razonable esperar diferencias en tiempo de eliminación de antibacterianos cuando existen importantes diferencias en productividad. El conocimiento de la incidencia de la productividad en la cinética de los medicamentos antimastóticos, permitirá tratamientos más racionales y representará no solamente una herramienta para maximizar la eficacia de la terapia, sino que contribuirá a la disminución de riesgos para la salud pública y a un mayor rendimiento industrial a través de la reducción de presencia de inhibidores en leche.

## Bibliografía

- ALLISON, J.R.D. (1985). *Antibiotic residues in milk*. British Vet.J. 141:9-16.
- BOOTH, J.M. (1986). *Intramammary antibiotic preparations and their holding times*. Vet. Rec. (11)34-35.
- BRADY, M.S., KATZ, S.E. (1988). *Antibiotic, antimicrobial residues in milk*. J.Food protect. 51:8-11.
- calidad de leche. Pamplona.
- COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS (1997) *Informe de la novena reunion del comite del codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos*. Ginebra, 23-28 de junio.
- Conferencia XIII Reunión de Técnicos especialistas en control de mamicit y
- ELIOPOULOS, G.M. & MOELLERING, R.C. JR (1996) *Antimicrobial combinations*, En: Lorian (Ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 4° ed., Baltimore, V: 330-383
- ERRECALDE, J.O. (1996) *Los inhibidores y la calidad higiénico-sanitaria de la leche. Futuro y alternativas de la lechería*. 1ª Jornada Regional, Sociedad Rural de Rafaela, 2-10.
- ERSKINE, R.J. (2002) *Empleo de Fármacos antimicrobianos en la mastitis bovina. Terapéutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria*. Ed. J.F.Prescott, J.D.Baggott and R.D.Walker. Intermédica. 613-642.
- FRANKLIN, A., HOLMBERG, O., HORN AF RANZIEN, M & ÅSTRÖM, G. (1984) *Effect of procaine benzylpenicillin alone or in combination with dihydrostreptomycin on udder pathogens in vitro an in experimentally infected bovine udders*. Am. J. of Vet. Research, 45: 1398-1402.
- Grove, D. and Randall, W., 1955. *Assay Methods of Antibiotics*. Medical Encyclopedia Inc, New York., USA.
- LAROCQUE L. & NEVILLE G.A. (1985). *Quantitative evaluation of a bovine antibiotic infusion product by milk residue depletion studies*. J. of Food protection, 48: 611-615.
- LE LOUEDEC, C.(1978) *Efficacite des antibiotiques contre les mammites bovine staphylococciques et streptococciques*. Ann. Rech. Vet.; 9:63.
- LOHUIS, J.A.C.M., HENSEN, S.M., BEERS, H., SARAN, A. & SOBACK, S. (1995 a) *MIC's and combined activity of penicillin and neomycin against Staph. aureus strains from bovine mastitis an determined by microdilution and checkerboard assay*. Third IDF International Mastitis Seminar, Tel-Aviv, Israel, 28 May-1 June 1995. Proceedings Book 2: 114-115.
- LOHUIS, J.A.C.M., HENSEN, S.M., BEERS, H., SARAN, A. & SOBACK, S. (1995 b) *MIC's and combined activity of penicillin and dihydrostreptomycin against Staph. aureus strains from bovine mastitis an determined by microdilution and checkerboard assay*»Third IDF International Mastitis Seminar, Tel-Aviv, Israel, 28 May-1 June 1995. Proceedings Book 2: 112-113.
- MERCER H.D., GELETA J.N., PORTEOUS, L.A. and CONDON R.J. (1974) *Excretion of penicillin G and dihydrostreptomycin from quarters of cows with experimental induced staphylococcal mastitis*. Am.J.of Vet. Res., 35:1191-1196.
- MESTORINO, O.N., 1993 *Estudio farmacocinético del tianfenicol en vacas lecheras Holando Argentino*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.
- MORÉTAIN J. P. (1996). «*Elimination des médicaments vétérinaires dans le lait*».
- MORETAIN J.P., BOISSEAU J. (1993) *Elimination of aminoglycoside antibiotics in milk following intramammary administration*. Veterinary Quarterly, 14: 109-112.
- OLIVER S.P., MAKI J.L., DOWLER H.H. (1990). *Antibiotic residues in milk following antibiotic therapy during lactation*. J. Food. Prot. 53(8):693-696.
- PHILPOT, W.N. and NICKERSON, S.C. (2000) *Ganando la lucha contra la mastitis*. 1ª ed. Traducción al español. Westfalia.Surge, Inc., USA.
- PRESOTT J.F. & DESMONT BAGGOT J.(1988) *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Blackwell Scientific Publications Inc., USA.
- PRESOTT, J.F. (2000) *Aminoglycosides and aminocyclitols*, En: Prescott, J.F., Baggot, J.D. & Walker, R.D.(eds): *Antimicrobial therapy in Veterinary medicine*. 3° ed. Iowa State University Press, Ames, I.A., 105-133
- PYÖRÄLÄ, S. & PYÖRÄLÄ, E (1998) *Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995)*. J. of Am. Vet. Medical Association, 212: 407-412.
- RIVIERE, J.E. (1991). *Pharmacologic principles of residue avoidance for veterinary practitioners*. JAVMA. Vol 198 N°5 March 1, pp. 809-815.
- ROLLINS L.O., MERCER H.D, CARTER G.G. and KRAMER J. (1970) *Absorption, distribution and excretion of penicillin and dihydrostreptomycin in dairy cows following intramammary infusion*. J. of Dairy Science, 53: 1407-14.
- ROSSELET, A., SCHLUEP, J. & KNÜSEL, F. (1977) *A quantitative in vitro evaluation of the combined action of benzylpenicillin and dihydrostreptomycin on staphylococci isolated from the bovine udder with special regard to synergistic activities*. J. of Vet. Med. B, 24:35-52.
- RYAN, J.J., WILDHAN, E.E., DUTHIE, A.H., ATHERSON, H.V. (1986). *Detection of penicillin, cephalosporin and cloxacillin commingle raw milk by test*. J.Dairy Sc. 69:1510-1517.
- TAPONEN, S, DREDGE, K., HENRIKSSON, B., PYYHTIÄ, A.-M., SUOJALA, L., JUNNI, R., HEINONEN, K., PYÖRÄLÄ, S.(2003) *Efficacy of intramammary treatment with procaine penicillin G vs. Procaine penicillin G. Plus neomycin in bovine clinical mastitis caused by penicillin susceptible, gram-positive bacteria-a double blind field study*. J. Vet. Pharmacol. Therap., 26:193-198.
- WHITTEN, T. & HANLON, D. (1997A) *Dihydrostreptomycin or streptomycin in combination with penicillin in dairy cattle therapeutics: a review and re-analysis of published data*, Part 1: Clinical pharmacology. New Zeland Vet J, 45: 178-184.
- WILSON C.D. & GILBERT G.A. (1986) *Pharmacokinetics of cefoperazone in the cow by the intramammary route and its effect on mastitis pathogens in vitro*. Vet. Rec.; 118:607.
- WILSON, D.J., GONZALEZ, R.N., CASE, K.L., GARRISON, L.L. & GRÖHN, Y.T. (1999) *Comparison of seven antibiotic treatments with no treatment for bacteriological efficacy against bovine mastitis pathogens*. J. of Dairy Sci, 82: 1664-1670.
- ZIV, G. (1980). *Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy-3: intramammary treatment*. Vet.Med.Small Anim.Clin, 75: 657-670.
- ZIV, G. (1981) *Concentrations and residues of gentamicin in the milk of dairy cows after intramammary infusion*. Bovine Pract. 16: 30-35.

