



## **ANTIMICROBIAL TREATMENT OF MASTITIS – CHOICE OF THE ROUTE OF ADMINISTRATION AND EFFICACY**

### **TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO DE LA MASTITIS – ELECCIÓN DE LA RUTA DE ADMINISTRACIÓN Y EFICACIA.**

#### **Satu Pyörälä**

University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Veterinary Science, Saari Unit, FIN-04920 Saarentaus, Finland

Traducción:  
MVZ.Fernando Cavazos G  
Servicio Técnico ABS MEXICO

#### **Introducción**

La mastitis bovina ha sido tratada con antimicrobianos por más de 50 años y todavía hay una falta de consenso acerca de las prácticas de tratamiento más eficientes y económicas. La mastitis es la razón más frecuente para el uso de antibióticos en hatos lecheros (20) pero los resultados de estos tratamientos son menos que óptimos. El propósito de este escrito es revisar el conocimiento actual sobre el tratamiento antimicrobiano de la mastitis durante la lactancia.

#### **Aspectos generales del tratamiento antimicrobiano.**

El grado en el que un medicamento tiene acceso a la leche, cuando es administrado en forma sistémica, o bien el grado en el que se absorbe y se distribuye por la glándula mamaria cuando es administrado en forma intramamaria; depende de sus propiedades farmacocinéticas (FC) principales: solubilidad en lípidos, grado de ionización, y nivel de adhesión a proteínas séricas y de la ubre (63). En lo que concierne a las preparaciones intramamarias, el tipo de vehículo utilizado es también importante (21). Las bases orgánicas débiles, tienden a acumularse en la leche en forma ionizada luego de administración parenteral y llegan a concentraciones más altas que las sanguíneas(41). A pesar de la larga historia en el uso de antimicrobianos para tratar infecciones en vacas lecheras, el conocimiento de la farmacocinética de muchas sustancias es todavía muy limitada. Muchas preparaciones antibióticas son viejas y los requisitos para su autorización en el tiempo en que fueron lanzadas al mercado, no cumplían los criterios actuales para los estudios farmacocinéticos en los animales blanco.

Además de las consideraciones farmacocinéticas, se debería poner atención también a la Farmacodinamia (FD), que estudia las interacciones entre la bacteria y la droga y debería dar soporte a los estudios de FC para determinar las dosis óptimas de los antimicrobianos. Se conoce muy poco acerca de la FD de los productos utilizados en la terapia de mastitis debido a que estos estudios aparecieron más recientemente en la ciencia veterinaria. Los antimicrobianos se pueden dividir en dos: Drogas dependientes de la Concentración y Drogas dependientes del tiempo. En el primer grupo (por ej. los aminoglicósidos y las fluoroquinolonas), una concentración de varias veces la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para los microorganismos blanco, en el sitio de la infección, incrementa la eficacia. En el segundo grupo (ej. las penicilinas y macrólidos) la eficacia depende más bien del tiempo durante el cuál la concentración del antibiótico en el sitio de infección, excede la CMI, pero más altas concentraciones no incrementan la eficacia del producto(7). De hecho, esta característica de la Penicilina fué descubierta muy tempranamente en la infecciones por estreptococos (11).

Una droga ideal para la terapia de mastitis debería de tener una CMI baja para los microbios causantes de mastitis. Como los tratamientos deberían ser eficientes y enfocados a infecciones específicas, las infecciones por Gram-negativas y por Gram-positivas deberían de hecho requerir diferentes antimicrobianos (21, 43). Las drogas antimastitis deberían de preferencia tener una acción bactericida ya que la fagocitosis está disminuida en la glándula mamaria. La actividad de las sustancias antimicrobianas no debería disminuir con la presencia de leche pero se ha visto que esto sucede con muchos de ellos, incluyendo los macrólidos, las tetraciclinas y el Trimetoprim-Sulfonamidas (16, 31).

### **Tratamiento intramamario**

La ruta más común para la administración de antimicrobianos en mastitis, es la vía intramamaria (IMM) (21). Las ventajas de esta vía son las altas concentraciones logradas del antibiótico en el compartimento de la leche en la glándula mamaria (21, 36), y el bajo consumo de antibiótico debido a que la droga está siendo introducida directo al sitio de la infección. Las desventajas podrían ser: la distribución poco uniforme de muchas sustancias a través de la ubre, riesgo de contaminación al introducir la cánula de tratamiento por el conducto de la teta, y posible irritación del tejido mamario causada por la droga misma(21). Además, algunos estudios *in vitro* han demostrado que los antibióticos pueden alterar la fagocitosis cuando son administrados por vía intramamaria (37, 64). No se ha demostrado la relevancia clínica que pueden tener estos hallazgos. Autores alemanes han introducido recientemente una nueva técnica para estudiar la distribución de las drogas en la glándula mamaria, utilizando una ubre de bovino aislada y perfundida.(12, 13)

Numerosos productos intramamarios han aparecido en el mercado sin tener realmente un soporte con datos científicos sobre su eficacia. Todos los tubos de mastitis contienen en su etiqueta la indicación para mastitis por estafilococos, pero las tasas de curación pueden ser mínimas, sobretodo en infecciones crónicas (60). Hay también pocos datos que demuestren su eficacia contra patógenos ambientales (22). En estudios publicados, las tasas de curación clínica han sido inferiores a 60% y las tasas de curación bacteriológica tan bajas como el 10 – 40% (1,2,9,55). Los requerimientos para la autorización de drogas veterinarias, al menos en el procedimiento centralizado de la Unión Europea, son ahora cada vez más estrictos y se requiere que las afirmaciones de eficacia sean soportadas con datos científicos.(4)

Preparaciones intramamarias con combinación de dos e incluso de tres antibióticos han sido introducidas para la terapia de mastitis alegando una sugerida acción sinérgica y la cobertura de todos los patógenos incluyendo las bacterias gram-negativas. Todavía está ausente la evidencia de su eficacia contra la mastitis coliforme y la acción sinérgica no ha sido probada *in vivo*. (59). La idea de tubos con combinaciones fijas de antibióticos no está actualizada y bien podrían ser retirados del mercado, ya que no han demostrado ser superiores a los tubos con un solo antibiótico, en pruebas clínicas controladas.(38,45).

### **Tratamiento Parenteral**

La vía de administración parenteral (o sistémica) en la terapia de la mastitis fué introducida en los años 70's después del trabajo de Israelitas (63). Veinte años antes, investigadores suecos habían demostrado, a través de estudios radiográficos, que la Penicilina G se distribuía de manera poco uniforme luego de ser administrada por vía intramamaria.(56). Se sugirió que el tratamiento sistémico lograría una mejor penetración a través de la glándula mamaria y sería un tratamiento más eficaz. El tratamiento sistémico de la mastitis fué ampliamente adoptado en los países nórdicos y esta práctica todavía continúa hasta ahora.(3,20). Sin embargo, la superioridad del tratamiento sistémico sobre el intramamario nunca ha sido demostrada con pruebas clínicas comparativas.

La farmacocinética de los antimicrobianos administrados a rumiantes adultos, es algo problemática.(41). Los rumiantes eliminan los xenobióticos muy rápido y la vida media de muchos antibióticos es corta. Es difícil alcanzar y mantener concentraciones terapéuticas de los antibióticos ya sea en leche o en el tejido mamario,

cuando éstos se aplican por vía sistémica.(63). La administración por vía endovenosa daría en general concentraciones más altas en leche, pero esta vía es con frecuencia impráctica en el campo y no es utilizable cuando se trata de preparaciones con vehículos oleosos. Las preparaciones de antibiótico con lenta absorción, para su aplicación intramuscular, es quizá la peor opción para el tratamiento de mastitis, porque generalmente no alcanzan concentraciones terapéuticas en leche o en los tejidos mamarios.(5,63) Otro problema para el practicante es que, las dosificaciones recomendadas para las preparaciones de antibiótico resultan ser muy bajas tomando en consideración la CMI del antibiótico para la bacteria en cuestión, pero los estudios de residuos de antibiótico en leche sí se han hecho con esas dosis bajas recomendadas.(26). Inyecciones repetidas de preparación antibiótica de gran volumen no son muy recomendables tampoco desde el punto de vista del bienestar animal.

Existen unas cuantas sustancias que tanto desde el punto de vista de su FC como de su FD, serían sustancias ideales para la vía sistémica en la terapia de mastitis. Aún cuando la sustancia tenga características ideales en teoría, los resultados de las pruebas clínicas llegan a ser muy desalentadoras, como es el caso de las fluoroquinolonas o florfenicol (16,27,43,52). Muchos antibióticos de amplio espectro, como la Oxitetraciclina y el Ceftiofur han sido probados por vía sistémica para el tratamiento o prevención de la mastitis; sin ningún efecto.(10,14,15,39). Al menos en el último caso, la FC no es apropiada para el tratamiento de mastitis. Los Macrólidos que son antibióticos de espectro reducido y actúan solo contra Gram-positivas, tendrían una FC ideal (18,48) pero tienen problemas con la FD. Son bacteriostáticos y la leche interfiere substancialmente en su actividad.(31). Una buena penetración al interior de las células, garantiza el aniquilamiento intracelular de las bacterias. (32). Estas son quizá las razones de la baja eficacia reportada de los macrólidos en el tratamiento de mastitis.(39,43). Con altas dosis de Espiramicina algunos autores han reportado mejores resultados (50), pero entonces se tienen problemas con los residuos en leche.

Una de las drogas más comunmente utilizadas para el tratamiento sistémico de mastitis es la Penicilina G pero siendo como es, un ácido débil, tiene poca penetración a la glándula mamaria (18). Sin embargo, como los valores de las CMI para los gérmenes susceptibles suelen ser bajos, se pueden alcanzar y mantener concentraciones adecuadas en leche utilizando regímenes apropiados de dosificación (17,62). La leche no interfiere con la acción de la Penicilina G (31). El Penetamato es una formulación más lipofílica de la Penicilina G y difunde mejor que la Penicilina G procaínica hacia la leche (62).

### **¿Tratamiento Intramamario o Parenteral?**

¿Es acaso la última cuestión si el antibiótico se va a acumular en la leche o bien en el tejido glandular? Esto va a depender del tipo de infección: Se sabe que, los estreptococos de mastitis más bien permanecen en el compartimento de la leche, pero el Staph. aureus en cambio puede penetrar a los tejidos de la glándula provocando infecciones profundas (49). Las bacterias coliformes son eliminadas generalmente de la ubre en forma espontánea y no se requieren antibióticos en ese caso (8,28,46). En casos severos, sin embargo, existe el riesgo de bacteremia y eso justifica la administración sistémica de antibióticos (58).

No existen pruebas de campo aleatorias y comparativas utilizando el mismo antibiótico por vía intramamaria y por vía sistémica para el tratamiento de mastitis. Diferentes regímenes de tratamiento ya sea sistémicos o combinados han sido utilizados con Penicilina G procaínica, para el tratamiento de mastitis provocada por gérmenes susceptibles a penicilina, en pruebas no controladas (19,24,43,57). En el estudio más citado, el tratamiento combinado fué comparado con el tratamiento solo intramamario en mastitis experimental por Staph.aureus, con resultados prometedores, pero se utilizaron diferentes drogas beta-lactámicas y no se dispuso de información acerca de la susceptibilidad del germen a la penicilina (40). En un estudio reciente, se comparó el tratamiento parenteral a base de Hidroyoduro de Penetamato, con un tratamiento intramamario a base de Penicilina-dihidroestreptomina, y no se observó diferencia (34).

Partiendo de comparaciones de estudios separados, parece ser que el único tipo de mastitis en el que el tratamiento sistémico realmente sería ventajoso, es la mastitis por Staph. aureus. La amplia distribución de resistencia a penicilina en muchos Staph. aureus aislados en muchos países, ha dificultado el uso de la Penicilina

G en ellos. Las tasas de curación en los casos provocados por gérmenes resistentes a penicilina son inferiores a las de los casos provocados por gérmenes susceptibles al antibiótico(43,44,53,62). No se sabe si eso se debe a problemas farmacológicos con las drogas utilizadas o a factores de virulencia diferentes a la beta lactamasa producida por las cepas resistentes. En las mastitis causadas por cepas de Staph. aureus susceptibles a penicilina, los mejores resultados se obtuvieron con tratamiento combinado por vía sistémica y vía intramamaria con Penicilina G(45)

En infecciones localizadas en el compartimento de la leche como es el caso de las mastitis por estreptococos, probablemente no hay ventaja alguna en utilizar la administración sistémica, incluso las concentraciones de Penicilina G en leche se mantienen de 100 a 1000 veces más bajas cuando se administra vía sistémica que cuando se administra vía intramamaria (13,18,36). Basado en los resultados de diversos estudios, las tasas de curación en casos de mastitis por estreptococos, utilizando la vía intramamaria, son igual o mejores que cuando se utiliza la vía sistémica (34,57,61)

En casos de Mastitis Coliforme severa, se recomienda la utilización de antibióticos por vía sistémica, debido al riesgo de bacteremia (58). Ha sido cuestionada generalmente la eficacia del tratamiento antimicrobiano en casos de mastitis coliforme, ya que las tasas de curación han sido similares tanto cuando no se utilizan antibióticos como cuando sí se utilizan o cuando se utilizan incluso antibióticos que son ineficientes *in vitro*. (25,42). El ordeño frecuente utilizando oxitocina ha sido recomendado para el tratamiento de la mastitis coliforme (46). Se ha reportado que ese tratamiento da iguales resultados que el tratamiento con antibióticos (22,54). En mastitis severa por Escherichia coli en donde hay crecimiento masivo del germen en la ubre, el tratamiento sistémico con antibióticos sí puede ser de beneficio (28,47). En mastitis experimental por E. coli, la cefquinome, una cefalosporina de avanzado espectro, ha demostrado efectos benéficos, comparándola con el tratamiento a base de ampicilina-cloxacilina(51).

### **Efecto de la duración del tratamiento**

Una de las razones de las pobres tasas de curación es sin duda la corta duración de los tratamientos estándar (29). En los casos de mastitis por Staph. aureus y probablemente también en los de Strep. uberis puede ser benéfico un tratamiento más prolongado(19,35). La mejor eficacia de los tratamientos prolongados en los casos de mastitis por Staph. aureus fué sugerida por autores hace algunas décadas (19,62) y estudios más recientes han confirmado eso (43,53). El tratamiento debería llevarse a cabo sin interrupciones; los tratamientos conocidos como extendidos o por pulsos no tienen una justificación científica; fueron introducidos desde EEUU en donde por cuestiones legales el tratamiento tiene que ser discontinuado debido al período de retención de leche luego de cada episodio de tratamiento (55).

En lo referente a otros gérmenes causantes de mastitis, diferentes al Staph. aureus, como serían los estafilicocos coagulasa-negativos y los estreptococos causantes de mastitis contagiosa, es suficiente un tratamiento de duración corta, tanto desde el punto de vista de la eficacia como de la economía. El análisis de costo-beneficio es importante para las decisiones de tratamiento (8,30) pero sí se requiere mayor conocimiento sobre la eficacia de los distintos regímenes de tratamiento.

### **Conclusiones**

Los diferentes países difieren en sus prácticas y políticas en cuanto a tratamiento de mastitis. En muchos países, los antimicrobianos están disponibles para el personal de las lecherías y son ellos quienes toman las decisiones en cuanto al tratamiento y a la elección del producto a utilizar (23). En esas condiciones, es difícil imaginar cómo se hará llegar a nivel de campo, los avances que se den en la terapia de la mastitis y la nueva información sobre la FC y FD de las drogas para mastitis. Se requiere también mejorar el diagnóstico de la mastitis y la estimación del pronóstico de la misma; el concepto de un tratamiento con un antibiótico de amplio espectro y de una duración estándar para todo tipo de mastitis, ya no es actualizado.

Productos intramamarios a base de antibióticos de amplio espectro como las cefalosporinas de 3a y 4a generación, son vendidos en algunos países para el tratamiento de toda mastitis. Esto no está de acuerdo con las

guías para el uso prudente (3) y puede favorecer la emergencia de producción de beta lactamasa de amplio espectro en las bacterias (6,33). Esas sustancias son menos eficientes que los antibióticos de espectro reducido, en contra de patógenos de mastitis Gram positivos, ya que están más enfocadas hacia las bacterias Gram-negativas (41).

En las mastitis por estreptococos (excluyendo los enterococos) y en aquellas causadas por estafilococos susceptibles a penicilina, la droga de primera elección debería ser la Penicilina G. En general, la base del tratamiento no debe ser tan solo un período corto de retiro de leche si la eficacia y la seguridad del mismo son cuestionables.

En casos de mastitis clínica aguda, es necesario un rápido diagnóstico. Para este propósito, están disponibles medios selectivos de cultivo para diagnóstico en 24 horas (Selma selective agar, SVA, Uppsala, Sweden; ColiMast, ICP, Auckland, New Zealand) que permiten ese rápido diagnóstico. El tratamiento puede entonces ser re-evaluado y re-enfocado al patógeno específico.(30).

## Referencias

1. Aungier, S.P.M. and Austin, F.H.A. (1987) Study of the efficacy of intramammary antibiotics in the treatment of clinical mastitis *Br. Vet. J.* **143**: 88-90.
2. Anonymous (1994) Poor cure rates limit lactation therapy effectiveness. *Udder Topics* **17**: 5.
3. Anonymous (1996) Use of antimicrobial agents in animals. Report of the working group on antimicrobial agents. Ministry of Agriculture and Forestry in Finland. *MAFF Publications* **3**.
4. Anonymous (2002) <http://www.eudra.org/emea.html>.
5. Blanchflower, S.E. (1983) Antibiotic concentration in milk from normal, endotoxin challenged and mastitic quarters of cows after parenteral dosing with amoxycillin. *Vet. Res. Commun.* **7**: 259-260.
6. Bradford, P.A., Petersen, P.J., Fingerman, I.M. and White, D.G. (1999) Characterization of expanded-spectrum cephalosporin resistance in *E coli* isolates associated with bovine calf diarrhoeal disease. *J. Antimicrob. Chemother.* **44**: 607-610.
7. Craig, W. (1993) Pharmacodynamics of antimicrobial agents as basis for determining dosage regimens. *J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Suppl.* **1**: 6-8.
8. Craven, N. (1987) Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation - a review. *Br. Vet. J.* **143**: 410-422.
9. Deluyker, H.A., Chester, S.T. and Van Oye, S.N. (1999) A multilocation clinical trial in lactating dairy cows affected with clinical mastitis to compare the efficacy of treatment with intramammary infusions of a lincomycin/neomycin combination with an ampicillin/cloxacillin combination. *J. vet. Pharmacol. Ther.* **22**: 274-282.
10. Duenas, M.I., Paape, M.J., Wettemann, R.P. and Douglass, L.W. (2001) Incidence of mastitis in beef cows after intramuscular administration of oxytetracycline. *J. Anim. Sci.* **79**: 1996-2005.
11. Eagle, H. and Musselman, A.D. (1948) The rate of bactericidal action of penicillin in vitro as a function of its concentration, and its paradoxically reduced activity at high concentrations against certain organisms. *J. Exp. Med.* **58**: 99-131.
12. Ehinger, A.M. and Kietzmann, M. (2000a) Tissue distribution of oxacillin and ampicillin in the isolated perfused bovine udder. *J. Vet. Med. A.* **47**: 157-168.
13. Ehinger, A.M. and Kietzmann, M. (2000b) Tissue distribution of benzylpenicillin after intramammary administration in the isolated perfused bovine udder. *J. vet. Pharm. Ther.* **23**: 303-310.
14. Erskine, R.J., Barlett, P.C., Crawshaw, P.C. and Gombas, P.M. (1994) Efficacy of intramuscular oxytetracycline as a dry cow treatment for *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.* **77**: 3347-3353.
15. Erskine, R.J., Barlett, P.C., Johnson, G.L. and Halbert, L.W. (1996) Intramuscular administration of ceftiofur sodium versus intramammary infusion of penicillin/novobiocin for treatment of *Streptococcus agalactiae* mastitis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **208**: 258-260.
16. Fang, W. and Pyörälä, S. (1996) Mastitis causing *Escherichia coli*: serum sensitivity and susceptibility to selected antibacterials in milk. *J. Dairy Sci.* **79**: 76-82.

17. Franklin, A., Holmberg, O., Horn af Ranzien, M. and Åström, G. (1984) Effect of procaine benzylpenicillin alone or in combination with dihydrostreptomycin on udder pathogens in vitro and in experimentally infected bovine udders. *J. Am. Vet. Res.* **45**: 1398-1402.
18. Franklin, A., Horn af Ranzien, M., Obel, N., Östensson, K. and Åström, G. (1986) Concentrations of penicillin, streptomycin, and spiramycin in bovine udder tissue liquids. *J. Am. Vet. Res.* **47**: 804-807.
19. Funke, H. (1982) Practical experiences in the treatment of clinical mastitis, *Proc. Symp. Mast. Contr. Ther.* Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark. pp 1-2.
20. Grave, T., Greko, C., Nilsson, L., Odensvik, K., Mörk, T. and Rønning, M. (1999) The usage of veterinary antibacterial drugs for mastitis in cattle in Norway and Sweden during 1990-1997. *Prev. Vet. Med.* **42**: 45-55.
21. Gruet, P., Maincent, P., Berthelot, X. and Kaltsatos, V. (2001) Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **50**: 245-259.
22. Guterbock, W.M., van Eenennaam, A.L., Anderson, R.J., Gardner, I.A., Cullor, J.S. and Holmberg, C.A. (1993) Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *J. Dairy Sci.* **76**: 3437-3444.
23. Guard, C. (1999) Disease treatment programs for farm personnel: an example for a program for clinical mastitis. *Proc. NMC Reg. Meeting*, Waterloo, Ontario, pp 30-34.
24. Jarp, J., Bugge, H.P. and Larsen, S. (1989) Clinical trial of three therapeutic regimens for bovine mastitis. *Vet. Rec.* **124**: 630-634.
25. Jones, G.F. and Ward, G.E. (1990) Evaluation of systemic administration of gentamicin for treatment of coliform mastitis in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **197**: 731-735.
26. Kaartinen, L., Löhönen, K., Wiese, B., Franklin, A. and Pyörälä, S. (1999) Pharmacokinetics of sulphadiazine-trimethoprim in lactating dairy cows. *Acta vet. Scand.* **40**: 271-278.
27. Kaartinen, L., Salonen, M., Älli, L. and Pyörälä, S. (1995) Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *J. vet. Pharm. Ther.* **18**: 357-362.
28. Katholm, J. (2001) Treatment of coliform mastitis in bovine practice: can antibiotics be avoided? *Proc. 11<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Dis.* Copenhagen, Denmark. p 33.
29. Knight, C.H., Fitzpatrick, J.L., Logue, D.N. and Platt, D.J. (2000) Efficacy of two non-antibiotic therapies and topical liniment, against bovine staphylococcal mastitis. *Vet. Rec.* **146**: 311-316.
30. Leslie, K. and Keefe, G. (1998) Decision-making in clinical mastitis therapy programmes. *IDF Bulletin.* **330**: 21-22.
31. Louhi, M., Inkinen, K., Myllys, V. and Sandholm, M. (1992) Relevance of sensitivity testings (MIC) of *S. aureus* to predict the antibacterial action in milk. *J. Vet. Med. B* **39**: 253-262.
32. Madgwick, L., Mayer, S. and Keen, P. (1989) Penetration of antibiotics into bovine neutrophils and their activity against *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* **24**: 709-718.
33. Mayer, K.H., Opal, S.M. and Medeiros, E.A. (1994) Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell et al (eds.), Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. Churchill Livingstone, New York, 212-225.
34. McDougall, S.Mc. (1998) Efficacy of two antibiotic treatments in curing clinical and sub-clinical mastitis in lactating dairy cows. *New. Z. Vet. J.* **46**: 226-232.
35. Milne, M.H., Barrett, D.C., Fitzpatrick, J.L. and Biggs, A.M. (2000) Survey of bacterial causes of clinical mastitis and a pilot investigation of the response to treatment of cases caused by *Streptococcus uberis*. *Proc. IDF Symp. Immunol. Rumin. Mamm. Gland.* Stresa, Italy. pp 379-381.
36. Moretain, J.P. and Boisseau, J. (1989) Excretion of penicillins and cephalosporins in bovine milk following intramammary administration. *Food Add. Contamin.* **6**: 79-90.
37. Nickerson, S.C., Paape, M.J., Harmon, R.J. and Ziv, G. (1986) Mammary leukocyte response to drug therapy. *J. Dairy Sci.* **69**: 1733-1742.
38. Oedegaard, S. and Sviland, S. (2001) Comparison of intramammary antibiotic preparations for the treatment of clinical bovine mastitis caused by bacteria sensitive to penicillin. *Proc. 2<sup>nd</sup> Int. Symp. Mast. Milk Quality*, Vancouver, Canada. pp 502-503.

39. Owens, W.E., Nickerson, S.C. and Ray, C.H. (1999) Efficacy of parenterally or intramammarily administered tilmicosin or ceftiofur against *Staphylococcus aureus* mastitis during lactation. *J. Dairy Sci.* **82**: 645-647.
40. Owens, W.E., Watts, J.L., Boddie, R.L. and Nickerson, S.C. (1988) Antibiotic treatment of mastitis: Comparison of intramammary and intramammary plus intramuscular therapies. *J. Dairy Sci.* **71**: 3143-3147.
41. Prescott, J.F., Baggot, J.D. and Walker, R.D. (eds) (2000) Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 3. ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
42. Pyörälä, S., Kaartinen, L., Käck, H. and Rainio, V. (1944) Efficacy of Two Therapy Regimes for Treatment of Experimentally Induced *Escherichia coli* Mastitis in the Bovine. *J. Dairy Sci.* **77**: 453-461.
43. Pyörälä, S. and Pyörälä, E. (1998) Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **212**: 407-412.
44. Pyörälä, S., Taponen, S., Jantunen, A. and Pyörälä, E. (2000) Efficacy of targeted 5-day parenteral and intramammary treatment of clinical *Staphylococcus aureus* mastitis caused by penicillin-susceptible or penicillin-resistant bacterial strain. *Proc. IDF Symp. Immunol. Rumin. Mamm. Gland.* Stresa, Italy. pp 382-384.
45. Pyörälä, S., Taponen, S., Dredge, K., Henriksson, B., Pyyhtiä, A., Suojala, L., Junni, R. and Heinonen, K. (2001) Efficacy of intramammary treatment with procaine penicillin G vs procaine penicillin G plus neomycin in bovine clinical mastitis – a double blind field study. *Proc. 2<sup>nd</sup> Int. Symp. Mast. Milk Quality.* Vancouver, Canada. pp 219-223.
46. Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2000) Coliform mastitis caused by *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, and *Enterobacter aerogenes*. In: *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses.* 9. ed. W.B. Saunders Company Ltd, New York, USA, 639-650.
47. Rantala, M., Kaartinen, L., Välimäki, E., Styrman, M., Hiekkaranta, M., Niemi, A., Saari, L. and Pyörälä, S. ( ) Efficacy and pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine for treatment of cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *J. vet. Pharm. Ther.* In press.
48. Sanders, P., Moulin, G., Guillot, P., Dagorn, M., Perjant, P., Delepine, B., Gaudiche, C. and Mouro, D. (1992) Pharmacokinetics of spiramycin after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration in lactating cows. *J. vet. Pharm. Ther.* **15**: 53-61.
49. Sandholm, M., Kaartinen, L. and Pyörälä, S. 1990. Bovine Mastitis - Why does antibiotic therapy not work? An overview. *J. vet. Pharm. Ther.* **13**: 248-260.
50. Schällibaum, M., Nicolet, J. and Bosson, J. (1981) Die Behandlung von chronisch-subklinischen Staphylokokkenmastitiden beim laktierenden Rind durch die Verabreichung von hohen Spiramycindosen. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* **123**: 277-292.
51. Shpigel, N.Y., Levin, D., Winkler, M., Saran, A., Ziv, G. and Böttner, A. (1997) Efficacy of cefquinome for treatment of cows with mastitis experimentally induced using *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* **80**: 318-323.
52. Soback, S., Paape, M.J., Filep, R., Varma, K.J. (1995) Florfenicol pharmacokinetics in lactating cows after intravenous, intramammary and intramuscular administration. *Proc. 3<sup>rd</sup> Int. IDF Mast. Sem.* Tel-Aviv, Israel. pp 39-43.
53. Sol, J., Sampimon, O.C., Barkema, H.W. and Schukken, Y.H. (2000) Factors associated with cure after therapy of clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci.* **83**: 278-284.
54. Stämpfli, H.R., Nemeth, J., Leslie, K., Gyles, C.L. and Muckle, C.A. (1994) Clinical response and antimicrobial residue test results in non-antibiotic treated cows with induced acute coliform mastitis. *Proc. XVIII World Buiatrics Congr.* Bologna, Italy. pp 869-871.
55. Timms, L. (1998) Evaluation of recommended and extended pirlimycin mastitis therapy for recent and chronic high SCC cows in two herds. *Proc. 37. Annual NMC Meeting,* Missouri. pp 271-272.
56. Ullberg, S., Hansson, E. and Funke, H. (1958) Distribution of penicillin in mastitic udders following intramammary injection – an autoradiographic study. *Am. J. Vet. Res.* **19**: 84-92.

57. Waage, S. (1997) Comparison of two regimens for the treatment of clinical bovine mastitis caused by bacteria sensitive to penicillin. *Vet. Rec.* **141**: 616-620.
58. Wenz, J.R., Barrington, G.M., Garry, F.B., McSweeney, K.D., Dinsmore, R.P., Goodell, G. and Callan, R.J. (2001) Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **219**: 976-981.
59. Whittam, T. and Hanlon, D. (1997). Dihydrostreptomycin or streptomycin in combination with penicillin in dairy cattle therapeutics: A review and re-analysis of published data, Part 1: Clinical pharmacology. *New Zealand Vet. J.* **45**: 178-184.
60. Wilson, D.J., Gonzales, R.N., Case, K.I., Garrison, L.L. and Gröhn, Y.T. (1999) Comparison of seven antibiotic treatments with no treatment against bovine mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.* **82**: 1664-1670.
61. Wilson, C.D. (1980) Antibiotic therapy in mastitis control. In: Bramley *et al* (eds), Mastitis Control and Herd Management. *NIRD Technical Bulletin.* **4**: 113-127.
62. Ziv, G. and Storper, M. (1985) Intramuscular treatment of sub-clinical staphylococcal mastitis in lactating cows with penicillin G, methicillin and their esters. *J. Vet. Pharm. Ther.* **8**: 276-283.
63. Ziv, G. (1980) Drug selection and use in mastitis: systemic vs. local therapy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **176**: 1109-1115.
64. Ziv, G., Paape, M. J. and Dulin, M.T. (1983) Influence of antibiotics and intramammary antibiotic products on phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by bovine leukocytes. *Am. J. Vet. Res.* **44**: 385-388.