



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

**DETECCION DE RESIDUOS DE UNA SUSPENSION ANTIBIÓTICA COMERCIAL
EN BASE A AMOXICILINA Y GENTAMICINA (AMOXIGENTIN®) EN LECHE
VACUNA**

Alvarado A.¹, Tang J²., Angelats R²., Murguía A²., Ruiz F.²

¹ Laboratorio de Patología Clínica – Facultad de Medicina Veterinaria - UNMSM

² Área de Investigación en Salud Animal – Laboratorio Agrovvet Market Animal Health

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el tiempo de residualidad de una suspensión antibiótica comercial en base a amoxicilina y gentamicina (**Amoxigentín®**) en leche vacuna. Para cumplir dicho objetivo, 20 vacas lecheras en mediana producción, con un peso promedio de 500 kg, fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales de 10 animales cada uno, el grupo A y el grupo B. Se tomó una primera muestra de leche de todos los animales mediante ordeño manual para verificar la ausencia de residuos antibióticos previo al inicio del estudio. Posteriormente, se dosificaron los animales pertenecientes al grupo A con **Amoxigentín®** vía intramuscular profunda a un volumen de aplicación de 1 mL por cada 10 kg de peso vivo (PV), mientras que los animales del grupo B recibieron una aplicación de suero fisiológico vía intramuscular profunda a un volumen de aplicación de 1 mL por cada 10 Kg PV. Luego del tratamiento se tomaron muestras de leche de ambos grupos mediante ordeño manual a las 00, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 horas post aplicación, considerándose las 00horas como el tiempo de aplicación del producto. Todas las muestras fueron trabajadas en el laboratorio con el Kit Devotest SP – NT. Los resultados evidencian que el Grupo A presentó residuos antibióticos desde las 00horas (inicio del tratamiento) hasta las 72 horas (3 días) post aplicación del producto. Por su parte, el grupo control no presentó residuos antibióticos durante todo el período de estudio. Por lo tanto, el tiempo que debe transcurrir entre el último tratamiento con **Amoxigentín®** y el destino de la leche para consumo humano debe ser mayor a 72 horas.

1. INTRODUCCION

La leche es un producto universal que por su elevado valor nutritivo y alta digestibilidad es de gran importancia en la alimentación humana. La leche de alta calidad debe poseer las siguientes características: estar libre de todo organismo patógeno, estar libre de sedimentos y materias totales, tener un ligero sabor dulce, gusto y aroma suave, libre de olores extraños, y cumplir con los requisitos estatales (Judkins *et al* 1984). Por tal razón su control higiénico – sanitario debe realizarse en forma cuidadosa por las instancias competentes.

Cabe considerar, que dentro de los productos farmacéuticos utilizados a nivel mundial, aproximadamente un 42% son aditivos alimentarios, 19% drogas anti-infecciosas (antibacterianos, antifúngicos y antivíricos), 13 % antiparasitarios, 11 % productos biológicos, y el 15 % restante son otras drogas. Los antimicrobianos representan una gran proporción de drogas utilizadas en animales destinados al consumo y/o sus derivados, siendo los grupos más



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

destacados los betalcatámicos (penicilinas y cefalosporinas), tetraciclinas (oxitetraciclina), aminoglucósidos (estreptomicina, neomicina y gentamicina), macrólidos (eritromicina y tilosina) y sulfonamidas como la sulfametazina (Boggio y Litterio, 2010).

Los antibióticos se usan en las actividades ganaderas con tres objetivos básicos, como profilácticos, como promotores de crecimiento y como terapéuticos. Dentro de este último objetivo, los antibióticos se usan extensivamente en el tratamiento de la mastitis de las vacas lecheras (Khem *et al*, 1986). Son varios los antibióticos cuyo uso están ampliamente difundidos en la ganadería lechera, sin embargo, estos constituyen los principales contaminantes de la leche y la tornan inapta para el consumo humano por contravenir el Reglamento Sanitario de Alimentos (Llanos, 1991).

Considerando que actualmente los antibióticos son usados no sólo en el tratamiento de enfermedades infecciosas de los animales domésticos, sino también para mejorar el rendimiento productivo de estos, su uso indiscriminado se ha convertido en una gran preocupación para la salud pública, haciéndose necesaria su detección e identificación en los productos y subproductos de origen animal destinados al consumo humano (Gutiérrez, 1993).

En la producción lechera, el uso indiscriminado de estos fármacos, especialmente cuando no son aplicados adecuadamente, determina la presencia en la leche, con consecuencia grave en la salud del consumidor, en el cual se produce sensibilidad, resistencia, alergias y cambios en la flora intestinal (Lewis, 1967).

Los peligros para la salud humana derivados de la ingestión de cantidades insignificantes de antibióticos, son las reacciones de hipersensibilidad, efectos tóxicos y posibles efectos sobre la microflora intestinal permitiendo la colonización intestinal de bacterias patógenas u oportunistas. Entre el 4 y 7 % de las personas son hipersensibles a la penicilina y de ellas el 0,04% pueden presentar shock anafiláctico cuando entran en contacto con este antibiótico. Por su parte, la anemia aplásica producida por el cloranfenicol, la alteración de la espermatogénesis, así como la alteración de la función hematopoyética y el potencial efecto carcinogénico de los nitrofuranos son otros posibles peligros de la contaminación de la leche por antimicrobianos.

Por otro lado, para el productor lechero, los residuos son causa de castigo en el precio de la leche, y probablemente en poco tiempo más, su presencia resulte determinante del rechazo de la leche contaminada con sustancias químicas (Boggio y Litterio, 2010). Además, la presencia de antibióticos en la leche resulta en un grave problema para la industria de derivados lácteos, ya que los cultivos iniciadores empleados en la producción de derivados lácteos fermentados, tales como el queso y yogurt, son extremadamente sensibles a bajas concentraciones de antibióticos en la leche (Schiffmann, 1992).

Para asegurar que los residuos presentes en los alimentos, como resultado del empleo de medicamentos, desciendan hasta valores próximos al cero, se ha creado el concepto de plazo de seguridad, plazo de carencia, tiempo de espera o período de supresión de un medicamento. Por tal se entiende el tiempo que debe transcurrir entre la última administración del fármaco y el sacrificio o la obtención de leche y huevos con destino a la alimentación humana. Para el caso



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

de la leche, el plazo de seguridad es de dos ordeñes en 24 horas (siendo el primer ordeño, 12 horas luego del último tratamiento) (Boggio y Litterio, 2010).

Por las razones expuestas, es de suma importancia evaluar la presencia de los residuos antibióticos en la leche y el tiempo tras el cual desaparecen. El nivel y la duración de la infusión de antibióticos en la leche depende de numerosos factores, siendo los más importantes, el tipo de presentación de la preparación de los antibióticos utilizados (solución acuosa, pomada, preparación de acción prolongada) y el tipo de administración (vía intramamaria, intrauterina e intramuscular) (Technical Management Communications, 1991).

Por ello, en la actualidad existen herramientas que determinan las concentraciones máximas permitidas de residuos de antimicrobianos en la leche. Se cuenta con técnicas como la de tipo ensayo de receptor de Beta s.t.a.r. (UCB-Bioproducts, Bélgica), la técnica de ensayo de unión a receptor ligado a enzima de Snap (IDEXX Laboratories INC., EEUU), técnicas microbiológicas como la de CH ATK Single Test P&S (Copan Italia), Charm Farm Test Vial (Charm Sciences Inc., EEUU) y el Test cuali o Delvotest[®] SP – NT.

El método Test cuali o Delvotest[®] SP - NT es una prueba de difusión estándar para la detección de los residuos de sustancias antibacterianas (tales como antibióticos y sulfonamidas). Delvotest[®] SP (*Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis*), es un test rápido que inhibe el crecimiento y la producción de ácido del microorganismo *Bacillus stearothermophilus* variedad *Calidolactis*. Con la adición de leche y la subsecuente incubación, el microorganismo germina y produce ácido carbónico. Es un test simple, sensible y relativamente rápido, cuando se compara con otras pruebas. Su uso está aprobado por la FDA (Administración de alimentos y fármacos, por sus siglas en inglés) y es reconocido por la AOAC (Asociación americana de químicos analistas, por sus siglas en inglés) desde 1982. Es considerado de amplio espectro, ya que detecta antibióticos β -lactámicos, no- β -lactámicos, sulfas y tylosina, entre otros (Camacho *et al.* 2010).

La sensibilidad de Delvotest[®] SP-NT, aparte de las sensibilidades especificadas para la Penicilina G y Sulfadiazina, muestra los rangos de sensibilidad para otros antibióticos y sustancias inhibitorias que pueden ser detectados, tales como aquellos definidos por el Nivel Máximo de Residuo (MRL). La tabla 1, da una visión de los niveles de detección de Delvotest SP-NT para residuos de diferentes antibióticos y sulfonamidas. Las drogas enlistadas son una selección de la muestra del espectro de detección. El nivel de detección se refiere a la concentración más baja en la cual una droga es todavía detectada por la prueba, al tiempo control o al tiempo de lectura fijo de 3 horas.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

Tabla 1. Nivel de detección con Delvotest® SP - NT en leche bovina cruda mezclada

Droga	Nivel de detección a tiempo de control (ppb o ng/ml)	Nivel de detección Lectura a 3 horas (ppb o ng/ml)
β-lactams		
penicilina	1 – 2	2 – 3
ampicilina	4	6 – 7
amoxicilina	2 – 3	3 – 5
ceftiofur	25 – 50	50 – 100
cefapirina	4 – 6	6 – 8
cloxacilina	20	20 – 30
dicloxacilina	10	10 – 20
oxacilina	10	10
Sulfonamidas		
sulfadiazina	25 – 50	100 – 150
sulfametazina	25 – 100	100 – 250
Tetraciclinas		
tetraciclina	250 – 500	800
oxytetraciclina	250 – 500	800
Macrolidas		
Tilosina	30	50
Spiramicina	400 -600	800 – 1000
Eritromicina	40 – 80	200
Aminoglicosidos		
Gentamicina	50	200
Neomicina	100 – 200	300 - 600
Otras		
Trimetoprim	50 -100	200 – 300



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

La prueba consiste en ampollitas que contienen al medio sólido agar sembrado de un número estandarizado de las esporas de *Bacillus stearotherophilus* var. *Calidolactis*, junto con nutrientes requeridos para el crecimiento y un antifolate trimethoprim. El medio es coloreado en púrpura por el indicador de pH púrpura de bromocresol.

Cuando se procesan muestras de leche que están libres de sustancias antibacterianas o aquellas que contienen concentraciones por debajo de niveles especificados, se produce la germinación y crecimiento de la bacteria. Esto conducirá a un cambio en color del indicador de púrpura a amarillo. Sin embargo, cuando la muestra de leche contiene sustancias antibacterianas por encima de la sensibilidad de la prueba, el crecimiento bacteriano es inhibido y como resultado el color del agar permanece púrpura. Esta técnica detecta al antimicrobiano por debajo del límite de tolerancia fijada por FDA, USDA. Los niveles de detección para cloxacilina, neomicina y cefalosporinas son 20, 100 – 200 y 25 - 50 partes por billon (ppb), respectivamente.

Amoxigentín® es una suspensión antibiótica en base a trihidrato de amoxicilina (150mg/ml) y sulfato de gentamicina (40mg/ml), la cual está indicada en casos de infecciones causadas por microorganismos grampositivos o gramnegativos tales como enteritis (producidas por *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.*), infecciones producidas por *Streptococcus spp.*, tales como artritis y meningitis, necrosis de oreja, infecciones urinarias (nefritis, uretritis, cistitis), enfermedades respiratorias (neumonía, bronquitis), infecciones sistémicas y prevención de infecciones bacterianas secundarias en bovinos, equinos, ovinos, caprinos, camélidos sudamericanos, porcinos, caninos y felinos.

La amoxicilina pertenece a la familia de los antibióticos beta-lactámicos, cuyo mecanismo de acción consiste en prevenir la formación de la pared celular bacteriana al interferir con el estadio final de la síntesis de peptidoglicanos. Inhiben la actividad de las transpeptidasas y otras enzimas peptidoglicano-activas que se denominan proteínas ligadoras de penicilina (PBP) (transpeptidasas, carboxipeptidasas), las cuales catalizan el entrecruzamiento de las unidades de polímeros glucopeptídicos que forman la pared celular (Prescott, 2002a). Las aminopenicilinas, también llamadas de amplio espectro, tienen una actividad alta contra muchas cepas de bacterias aerobias gramnegativas, tales como algunas cepas de *E. coli*, *Klebsiella* y *Haemophilus* (Plumb, 2002).

La gentamicina es uno de los productos de la fermentación de la *Micromonospora purpurea*. Pertenece a la familia de antibióticos aminoglucósidos, los cuales tienen una acción bactericida rápida y relacionada con la dosis sobre los microorganismos susceptibles. Se menciona que la gentamicina es uno de los aminoglucósidos más activos. Es activa contra la mayoría de los bacilos aeróbicos gramnegativos, incluso muchas *Pseudomonas aeruginosa*, algunas bacterias grampositivas y micoplasmas. Para ejercer su efecto bactericida, el agente primero debe penetrar la cubierta celular. Esto en parte es un transporte oxidativo activo y en parte difusión pasiva. Sin embargo, el transporte activo no ocurre en condiciones anaerobias. La penetración puede ser potenciada mucho por la presencia de un fármaco que interfiera con la síntesis de la pared celular, como un antibiótico beta-lactámico. Una vez dentro de la célula, el aminoglucósido se une a los receptores sobre la subunidad 30S del ribosoma, desde donde induce una mala lectura del código genético sobre el molde del ácido ribonucleico mensajero (ARNm). Esto provoca la incorporación de aminoácidos incorrectos dentro del péptido y así



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

inhibe la síntesis proteica ribosomal. El efecto bactericida es mediante la formación de canales anormales en la membrana celular por las proteínas mal interpretadas (Prescott, 2002b).

Por lo tanto, el **Amoxigentín**[®] constituye un compuesto antibiótico sinérgico, en el cual la amoxicilina, al interferir con la síntesis de la pared celular bacteriana, permite el ingreso y acción bactericida de la gentamicina en los organismos susceptibles. Considerando que este fármaco es utilizado ampliamente en la producción de bovinos lecheros, es importante evaluar su presencia en la leche post aplicación, así como el período en el cual persiste en ella.

2. OBJETIVO

Determinar el tiempo de residualidad de una suspensión antibiótica en base a amoxicilina (como trihidrato) y gentamicina (como sulfato) (Amoxigentín[®]) en leche vacuna.

3. MATERIALES Y METODOS

Lugar de Estudio

El estudio comprendió dos fases, la fase de campo y la fase e laboratorio. La fase de campo se realizó en la ciudad de Huancayo, ubicada en la sierra central del Perú, sobre los 3000msnm. Por su parte, el análisis de laboratorio se realizó en las instalaciones del laboratorio de Patología clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Diseño experimental

Se seleccionaron 20 vacas lecheras con un peso promedio de 500 kg, en mediana producción. Posterior a la identificación de los animales, se procedió a tomar una muestra de leche de cada animal mediante el ordeño manual de los cuatro cuartos de cada vaca, para verificar la ausencia de algún tipo de residuo antibiótico (Ver Figura 1). Estas muestras fueron clasificadas como muestra pre tratamiento (Pre-Tto).



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

Figura 1. Toma de muestra de leche bovina



Luego de descartar la presencia de algún tipo de residuo antibiótico, los animales fueron asignados de manera aleatoria en 2 grupos experimentales de 10 animales cada uno, el Grupo A (tratamiento) y el Grupo B (control). El grupo A fue dosificado con **Amoxicigintin®** vía intramuscular profunda a un volumen de aplicación de 1 mL por cada 10 kilos de peso vivo. El grupo B recibió una aplicación de suero fisiológico vía intramuscular profunda a un volumen de aplicación de 1 mL por cada 10 Kg. de peso vivo. Una vez realizado el tratamiento se tomaron muestras de leche de ambos grupos mediante ordeño manual a las 00, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 horas post aplicación, considerándose las 00horas como el tiempo de aplicación del producto. Todas las muestras fueron trabajadas en el laboratorio con el Kit Devotest SP – NT, de acuerdo con la metodología descrita por el fabricante. Las muestras que viraron al color amarillo fueron consideradas muestras negativas (-) y las muestras que permanecieron de color púrpura fueron consideradas muestras positivas (+).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos por la técnica cualitativa del kit Delvotest SP- NT para el análisis de presencia de residuos de **Amoxicigintin®** en las muestras de leche bovina. Ambos grupos resultaron negativos a la presencia antibiótica antes del inicio del estudio.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

Cuadro 1. Evaluación de residuos de Amoxicigintin en Vacas Lecheras

Identificación	Grupo	Dosis (mL)	Pre-Tto	00hr	12hr	24hr	36hr	48hr	60hr	72hr	84hr	96hr
Fatima	A	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Tulia	A	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Yanela	A	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Alison	A	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Saly	A	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Kukuli	A	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Zareal	A	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Anotnia	A	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Zulu	A	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Dorita	A	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Charo	B	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melisa	B	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sharron	B	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sheyla	B	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Teresa	B	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jacoba	B	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alina	B	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lea	B	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Josefa	B	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lucha	B	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Por otro lado, como se puede apreciar en el gráfico 1, el Grupo tratamiento presentó residuos antibióticos desde las 00horas (inicio del tratamiento) hasta las 72 horas (3 días) post aplicación del producto. Por su parte, el grupo control no presentó residuos antibióticos durante todo el período de estudio.



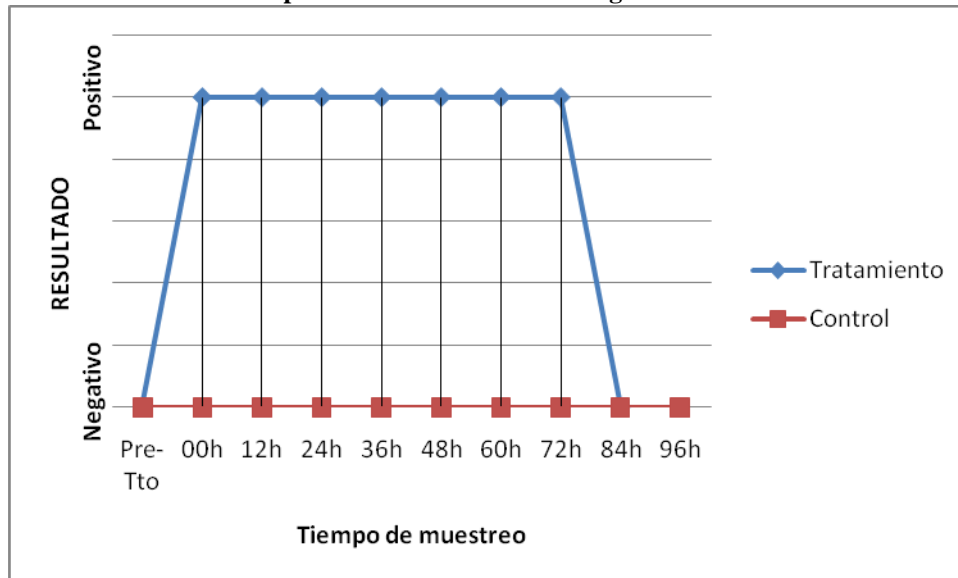
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

Gráfico 1. Tiempo de residualidad de Amoxicigentin® en leche bovina



Cabe mencionar que la concentración que alcanza el fármaco en el organismo varía de acuerdo a diferentes factores, entre los cuales se encuentra el tipo de tejido. En la glándula mamaria, los valores alcanzados en el interior de la misma dependerán de las características fisicoquímicas del fármaco, el grado de ionización, la liposolubilidad y el grado de unión a las proteínas plasmáticas o con las macromoléculas de la leche. En general, se menciona que las glándulas mamarias tienen un pH local que puede contribuir a que los fármacos se acumulen en ellas (Boggio y Litero, 2010).

5. CONCLUSIONES

El tiempo que debe transcurrir entre el último tratamiento con Amoxicigentin® y el destino de la leche para consumo humano debe ser mayor a 72 horas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boggio** JC, Litterio NJ. 2010. Problemática de Antimicrobianos y Residuos en Leche. Argentina: Universidad Católica de Córdoba. Argentina. [Internet], [10 mayo 2010]. Disponible en: http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/xenobioticos/drogas_veterinarias/problematika_antimicro-bianos_en_leche.pdf.
- Camacho** L, Cipriano M, Cruz B, Gutiérrez I, Hernández P, Peñaloza I, Nambo O. 2010. Residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en la región Tierra Caliente, de Guerrero, México. REDVET Vol.11, N°02 [Internet], [02 junio 2011]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020210/021009.pdf>



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

- Gutiérrez GC.** 1993. Estudio de residuos de antibióticos en leche. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco.
- Judkins NF, Keener H.** 1984. La leche, su producción y sus procesos industriales. 2da. Ed. México: Editorial Continental. 495p.
- Lewis AK.** 1967. Milk Production and Control. 4th ed. London: H.K. Lewis.
- Llanos G.** 2002. Determinación de residuos de antibióticos en la Leche fresca que consume la población de Cajamarca. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, V.2 N° 2 p. 35 – 43.
- Prescott JF.** 2002a. Antibióticos beta-lactámicos: penicilinas penam. En: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD. Eds. Terapéutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria. 3ra Ed. Argentina: Inter- Médica Editorial, pp: 92-117.
- Prescott JF.** 2002b. Aminoglucósidos y aminociclitoles En: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD. Eds. Terapéutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria. 3ra Ed. Argentina: Inter- Médica Editorial, pp: 170-203.
- Plumb D.** 2002. Veterinary Drug Handbook. 4th Ed. USA: Iowa State Press, pp: 44-48.
- Khem M, Shahani KM, Whalen J.** 1986. Significance of antibiotics in foods and feeds. In: Moats W A, eds. Agriculture uses of antibiotics. Washington D. C: American Chemical Society. pp 88-99.
- Schiffmann AP.** 1992. Methodological and legal problems relating to the detection of inhibitory substances in milk. Thesis Thierarztliche Hochschule. Hannover, Germany.
- Technical Management Communications.** 1991. Desarrollo de la reunión sobre calidad de la leche fresca. Cia. Nestlé Limitada Verey Suiza. 56p.