

Universidade Federal de Minas Gerais
Conselho de Pós-Graduação
Escola de Veterinária

PERSISTÊNCIA DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE BOVINO EM CONDIÇÕES
EXPERIMENTAIS E PREVALÊNCIA NO LEITE TIPOS B e C CONSUMIDO
EM BELO HORIZONTE, 1978

Celso Medina Fagundes

Belo Horizonte
Minas Gerais
1980

T864
F156p
1980

Celso Medina Fagundes

PERSISTÊNCIA DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE BOVINO EM CONDIÇÕES
EXPERIMENTAIS E PREVALÊNCIA NO LEITE TIPOS B E C CONSUMIDO
EM BELO HORIZONTE, 1978.

Tese apresentada à Escola de
Veterinária da Universidade
Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para a ob-
tenção do Grau de Mestre.

Área: Medicina Veterinária
Preventiva

Belo Horizonte
Minas Gerais
1980

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

50/23/04/06

Fagundes, Celso Medina, 1949-
F150p Persistência de antibióticos no leite bovino
em condições experimentais e prevalência no
leite tipos B e C consumido em Belo Horizonte,
1978. Belo Horizonte, Escola de Veterinária
da UFMG, 1980.

48p. ilustr.

Bibliografia

Tese, Mestre em Medicina Veterinária

1. Leite - Inspeção sanitária. I. Título.

CDD- 614.32

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
U F M G

4622888-08

BIBLIOTECA - ESCOLA

201.021.81

BIBLIOTECA UNIV

14.237

MV 77637

Aprovada em 11/06/1980

Edison Clemente dos Santos

Prof. Edson Clemente dos Santos
Orientador

Francisco Cecilio Viana

Prof. Francisco Cecilio Viana

Ivan Barbosa Machado Sampaio

Prof. Ivan Barbosa Machado Sampaio

Dedico este trabalho
à minha esposa, filho
e meus pais.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Edson Clemente dos Santos, por sua orientação e, em particular pela amizade, e seu elevado espírito de companheirismo.

Aos Departamentos de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal e Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG.

Aos Laboratórios Farmavet e Blemco, pela gentileza de ceder-nos antibióticos para a execução da pesquisa.

Aos Profs. Francisco Cecílio Viana, Elvio Carlos Moreira, Jorge Rubinich, Ronon Rodrigues e Ivan Barbosa Machado Sampaio, pelo apoio e compreensão.

Aos amigos e colegas Nero Dorella Filho, Aldonir B. Bilhalva, Frutuoso L. Araújo, Marcos D. Gusmão e Pedro Luiz Antunes, pelo estímulo e cooperação prestados.

Ao PICD/CAPES, pelo suporte financeiro.

Aos laboratoristas da Escola de Veterinária (TI-POA), pela colaboração e atenção a nós dispensada.

Agradecimentos às bibliotecárias da Escola de Veterinária da UFMG e a BIORRÁS - Bioquímica do Brasil S.A.

Este trabalho contou com o suporte financeiro da
FUNDAÇÃO DE ESTUDO E PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA PRE-
VENTIVA - FEP-MVP.

BIOGRAFIA DO AUTOR

CELSONO MEDINA FAGUNDES, filho de Adail Fagundes e Esther Medina Fagundes, nasceu em Bagé, Rio Grande do Sul, aos 22 dias do mês de janeiro de 1949.

Obteve o diploma de Médico Veterinário em 1973, pela Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, RS.

Em 1977 iniciou o Curso de Mestrado na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, na área de Tecnologia de Alimentos, transferindo-se posteriormente para a Medicina Veterinária Preventiva.

RESUMO

O objetivo desta pesquisa compreendeu três aspectos preponderantes, ou seja: verificar a sensibilidade do método (Delvotest-P); estudar a prevalência de antibióticos no leite tipo B e C, industrializado e comercializado em Belo Horizonte, e, finalmente, diagnosticar o tempo de eliminação dos antibióticos (Acromicina e Sin-Bio-Vet), por duas vias (intramamária e intramuscular), em vacas sadias e mamílicas.

O método empregado apresentou-se extremamente sensível a penicilina, bem como à Clortetraciclina, sendo seguro, rápido e de fácil interpretação.

A prevalência, no leite tipo B, foi de 5,49% e, no tipo C, 1,25%, comprovando a freqüente utilização destas drogas, através dos produtores, alheios à orientação e fiscalização dos órgãos responsáveis.

Quanto ao tempo de eliminação dos antibióticos a permanência em vacas mamílicas ultrapassou em muito, a previsão de 72 horas, regulamentadas em lei. A via intramamária eliminou até 144 horas, ao passo que a via intramuscu-

lar eliminou até 132 horas.

Vacas sadias mantiveram uma eliminação que oscilou de 72 a 96 horas, por via intramamária e de 48 a 72 horas, por via intramuscular, não se afastando das normas previstas (72 horas).

Quartos não tratados, em vacas sadias, apresentaram eliminação de 48 a 72 horas, enquanto que, nas vacas mamíticas, a eliminação, nestes quartos, teve a média de 92 horas, por via intramamária e, por via intramuscular, apresentou uma eliminação média de 84 horas.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. LITERATURA CONSULTADA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4. RESULTADOS.....	21
5. DISCUSSÃO.....	26
6. CONCLUSÃO.....	30
7. TABELAS.....	32
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

INTRODUÇÃO

A importância dos antibióticos no leite está relacionada com a saúde pública, tendo sido causa de polêmica por parte dos órgãos competentes, podendo resultar em problemas alérgicos, choque anafilático, efeitos tóxicos, resistência microbiana e efeitos colaterais secundários.

A presença de resíduos antibióticos no leite tem trazido problemas, notadamente em centros economicamente laticinistas. Na indústria de laticínios a presença desta droga, no leite, traz dificuldades técnicas interferindo nos caracteres organolépticos e tecnológicos dos produtos lácteos industrializados, principalmente no processamento tecnológico do iogurte, manteiga e queijo, devido à inibição da flora microbiana.

Na indústria laticinista brasileira, o problema é bem maior, pois o uso de antibióticos é indiscriminado não havendo uma legislação específica para o leite "in natura" de maior consumo, ou seja, leite tipo C. No entanto para produção do leite tipo B, a legislação permite sua comercialização somente após terem decorrido 72 horas da última aplicação no

animal independente da via.

Tendo em vista os problemas causados pelo uso abusivo de antibiótico, este trabalho objetivou estudar a prevalência deste no leite de plataforma de recepção da indústria; comprovar a sensibilidade e especificidade do método (Delvotest-P), e determinar o período de eliminação de antibióticos no leite, após aplicações intramuscular e intramamária, comparando o tempo de eliminação destes agentes entre vacas normais e mamíticas. Com isto, adviria a necessária orientação dos órgãos de inspeção para alertar os produtores e consumidores para o grave problema de saúde pública, como também orientar as indústrias de laticínios, no sentido de evitar prejuízos, quando na manipulação de matéria prima contaminada com antibióticos.

Justifica-se o presente estudo, pelo fato de não existir em nosso país normas regulamentadas em lei, relativo ao consumo do leite "in natura", contendo resíduos de antibióticos, havendo somente determinação específica para produção e consumo do leite tipo B, a qual permite sua comercialização após transcorridas 72 horas da última aplicação.

O método a ser utilizado para detecção de antibióticos no leite, permitirá rápida leitura e extrema sensibilidade, proporcionando condições aos técnicos de operar tanto a nível de plataforma como em condições de campo, no que os métodos anteriormente existentes tornavam-se impraticáveis nas condições acima descritas.

Quanto à prevalência não há estudos, até a presente data, para o leite de consumo tipo B. Espera-se que a presença de antibióticos seja bem maior, devido ao alto in-

vestimento dos produtores, na aquisição de equipamentos e matrizes de elevados caracteres zootécnicos. Nestes rebanhos leiteiros a probabilidade de ocorrência desta droga torna-se maior, pela grande incidência da mamite, levando o produtor a recorrer ao uso intenso e indiscriminado destes agentes antibacterianos.

2. LITERATURA CONSULTADA

2.1. Tempo de eliminação dos antibióticos no leite e prevalência.

Sabe-se que a literatura, principalmente a norte-americana, vem apresentando inúmeras pesquisas enfatizando a presença de agentes inibidores, onde se destacam os antibióticos, sendo a penicilina a principal representante.

Este problema foi uma preocupação constante, comprovado na própria literatura, onde países como Estados Unidos, França, Dinamarca, Inglaterra e tantos outros obrigaram-se a desenvolver estudos e realizar campanhas educacionais procurando conscientizar os produtores. Posteriormente, recorreram a normas rígidas amparadas em suas legislações, as quais dão autonomia aos órgãos de inspeção e saúde pública no sentido de combater o uso intenso destes agentes antibacterianos, segundo ALBRIGHT et alii (1961a).

A permanência de antibióticos no organismo vivo varia intensamente, dependendo da dose administrada, veículo, via de aplicação e aspectos inerentes ao animal. YASAF VAID et alii (1960) utilizaram penicilina G procaína, suspen-

são aquosa e oleosa com monoestearato de alumínio na dosagem de 5.000 UI/Kg. Concluíram que houve retenção de 60 horas, para penicilina G procaína aquosa e 108 horas referente a penicilina G procaína oleosa, após a última aplicação, sendo ambas aplicadas por via intramuscular em vacas mamíticas. MOL & BAKKER (1969) administrando penicilina G procaína aquosa, por via intramuscular, em 9 vacas mamíticas, observaram que o antibiótico permaneceu por 54 horas no leite. SEVICK et alii (1970) injetaram cloranfenicol em 3 vacas mamíticas por via intramuscular. Concluíram que até 96 horas, dependendo da concentração, este antibiótico podia ser encontrado no leite.

BLOBEL & BURCH (1960b) administraram, por infusão intramamária em vacas mamíticas, penicilina G cristalina nas dosagens de 1.000.000 UI/quarto. A penicilina persistiu até 120 horas nos quartos tratados; entretanto, naqueles não tratados foi eliminada em 24 horas, sendo a via sanguínea a principal responsável pela transferência. BRODIE et alii (1962) verificaram que a penicilina G procaína com monoestearato de alumínio (PAM) aplicada por via intramamária em vacas mamíticas, podia ser detectada no leite, por sete ou oito dias após a aplicação. A penicilina G procaína aquosa produziu níveis detectáveis no leite por mais de quatro dias após uma única dosagem. FINCHER et alii (1962) realizaram pesquisa em vacas mamíticas, utilizando diversos antibióticos por via intramamária. Comprovaram que a penicilina G procaína aquosa era eliminada em 72 horas. A clortetraciclina e oxitetraciclina pomada persistiram de 126 a 180 horas. EBERHART et alii (1963) efetuaram um estudo em vacas mamíticas por via intra-quarto, tratando-as com penicilina G

potássica aquosa (100.000 UI) e 250 mg dihidroestreptomicina, encontrando eliminação de 132 horas. Quando usaram uma combinação de produtos comerciais, verificaram que o antibiótico permanecia no leite durante 240 horas. SIDDIQUE et alii (1965) administraram penicilina G procaína aquosa e estreptomicina por via intramamária (quarto posterior direito) em vacas mamíticas. Comprovaram que havia transferência de quarto tratado para o não tratado, até 36 horas; no quarto inoculado, o antibiótico persistiu por 60 horas. KATZ et alii (1973) administraram oxitetraciclina, por via intramamária, em 2 vacas mamíticas em lactação. Os autores observaram que resíduos oriundos dos quartos anteriores tratados, permaneciam por cinco e meio dias (130 horas) ao passo que resíduos procedentes dos quartos posteriores persistiram de três a quatro dias e meio (108 horas). Resíduos no leite de quartos não tratados continuavam presentes durante 96 horas, sendo o sistema circulatório o principal responsável pela transferência.

BLOBEL & BURCH (1960a) usaram dihidroestreptomicina e clortetraciclina intramuscular e endovenosa, respectivamente, em vacas normais. O 1º antibiótico na dosagem de 0,5 g/45 Kg permaneceu por 36 horas no leite; mas quando usaram 1 g/45 Kg, detectaram durante 48 horas. Ao administrarem clortetraciclina, na concentração de 2 mg/Kg, verificaram que todas as vacas eliminaram a droga por 48 horas. ALBRIGHT et alii (1961) administraram em 8 vacas sadias, via intramuscular, penicilina G procaína oleosa, na dose de 6.000.000 UI/animal, verificaram que o leite era isento de resíduos de antibióticos nas 96 horas. Aplicando, por via

intramamária, penicilina G procaína oleosa e aquosa no quarto posterior direito na dose de 100.000 UI/animal, encontraram penicilina em todas as vacas por 36 horas. Nas vacas tratadas com suspensão aquosa, a mesma não foi detectada após 72 horas. Quando aplicada penicilina base oleosa, resíduos permaneceram no leite, da seguinte maneira: em sete das oito vacas por 72 horas; em cinco das oito vacas por 84 horas, e em quatro das oito do grupo eliminaram até 96 horas. SCHIPPER (1965) administrou penicilina potássica, procaína e sódica suspensão aquosa, via intramuscular, em vacas sadias, na dosagem de 6.000.000 UI. Verificou que todas eram eliminadas durante 48 horas. Quando a dosagem foi de 9.000.000 UI, somente a penicilina G procaína era detectada em 60 horas e, as demais, persistiam no leite por 48 horas. VYHNALIK (1974) injetou oxitetraciclina intramuscular em 5 vacas sadias, e após três horas de aplicação, já havia presença da mesma no leite, prolongando-se por 72 horas.

ROLLINS et alii (1971) efetuaram uma pesquisa em 6 vacas sadias, administrando penicilina G procaína e dihidroestreptomicina por via intramamária, observando que: em quartos tratados, ambas as drogas estavam presentes no leite de 72 a 80 horas e em quartos não tratados, as mesmas persistiam até 8 horas, sendo que a penicilina era detectada, na urina, por 14 dias e a dihidroestreptomicina até 15 dias. VIDEAU et alii (1977) realizaram uma pesquisa em duas vacas sadias por infusão intramamária, com uma bisnaga em cada quarto, sendo que usaram, em cada vaca, um tipo de pomada: a primeira era clortetraciclina associada a hidrocortisona e a segunda, somente clortetraciclina, chegando ao seguinte resultado: a pomada com hidrocortisona retardou a eliminação

até 108 horas, enquanto que na segunda aplicação o antibiótico persistiu no leite por 96 horas. MAY et alii (1975) aplicaram antibióticos por via intramamária em vacas sadias. Os autores detectaram a presença de antibióticos (Pen.G procaína + Pen.G sódica + dihidroestreptomicina + sulfonamida) por 60 a 84 horas.

CANNON & HAWKINS (1962) trataram um grupo de vacas sadias por diversas vias, com penicilina G potássica suspensão aquosa e penicilina G procaína oleosa, chegando à seguinte conclusão: por via endovenosa, a penicilina potássica aquosa permanecia, no leite, por 44 horas; via intrauterina, de 27 a 31 horas; a aplicada no músculo, detectava-se por 72 horas. A penicilina G procaína oleosa, via intramuscular persistiu, no leite até 96 horas.

Quanto à prevalência de resíduos de antibióticos no leite, a literatura registra diversos trabalhos. WELSH et alii (1955) realizaram uma pesquisa no leite pasteurizado nos Estados Unidos, Canadá e Reino Unido, verificando a prevalência de 11,6% de penicilina. MEARA (1959) fez um levantamento num rebanho de 1.200 cabeças, no Sul da África, e comprovou a ocorrência de 3% de antibióticos no leite. GROVE (1959) efetuou uma pesquisa na Pensilvânia (USA), revelando que até 71% dos fazendeiros não descartavam o leite proveniente de animais tratados nas 72 horas após a última aplicação. Diante disto, o Estado formulou normas severas para punir os infratores havendo, com isso, um decréscimo da incidência de antibióticos no leite, diminuindo de 6,5% para 0,52%. KOSIKOWSKI (1960) fez um levantamento em 17 estados (USA), obtendo informações da ocorrência de resíduos de an-

tibióticos no leite, sendo que a penicilina oscilava em 0,54% num total de 768.500 amostras. MELLO et alii (1969) realizaram um estudo de 1.000 amostras de leite tipo C no estado de São Paulo, detectando penicilina em torno de 1,9%. FARRELY (1970) estudou a ocorrência de antibióticos no leite da cidade de Dublin (Irlanda). De 1.765 fazendas examinadas, 8,2% continham antibióticos e, destas, 5,8% era penicilina. Examinou, também, 174 amostras de leite pasteurizado com a prevalência de 5,7% de antibióticos, sendo 4,6% penicilina. COOK et alii (1976) em pesquisas efetuadas na cidade de Johannesburg, África do Sul, revelaram a existência de penicilina no leite pasteurizado, ou seja, de 366 amostras, 12 continham penicilina (3,2%) e, no total de leite comercializado na cidade, num período de cinco anos, a mesma oscilava em torno de 1,2 a 2,6%. POLO LORA et alii (1977) pesquisaram 1.346 amostras de leite cru provenientes de sete províncias do Sul da Espanha. Concluíram que a penicilina estava presente em torno de 1,19%; estreptomicina, 1,11%; tetraciclina, 1,04%; bacitracina 9,8% e kanamicina, 9,3%, sendo a Província de Córdoba, a que apresentava a maior prevalência, ou seja, 25,87% das amostras com resíduos de antibióticos no leite.

2.2. Aspectos inerentes à indústria de laticínios.

Sabe-se que a presença de antibióticos no leite constitui adulteração de acordo com a "Federal Food Drug and Cosmetic Act". A mesma institui programas educacionais, realizados por serviços de extensão, veterinários, laticinistas, sanitaristas, junto ao homem do campo, tendo alcançado bom

aproveitamento e cooperação. Procurou-se deixar bem claro que o êxito exclusivamente do bom senso, responsabilidade e aquiescência dos produtores, fazendo-os ver que leite contendo antibiótico constitui-se num produto tóxico, trazendo resultados nocivos à indústria laticinista (ALBRIGHT et alii 1961a) pois os produtos lácteos, os quais dependem de fermentação, sofrem inibição de suas floras microbianas; como ressalta HUNTER (1949) demonstrando que culturas puras de Streptococcus cremoris quando adicionadas isoladamente, foram completamente inibidas numa concentração de 0,07 UI/ml de penicilina, e que o Streptococcus thermophilus, quando utilizado no fabrico do queijo suíço foi muito sensível à presença de antibióticos. Este mesmo pesquisador verificou que o queijo Cheddar, fabricado com leite penicilínico na concentração de 0,1-0,5 UI/ml determinou uma má qualidade do mesmo, quanto ao aspecto de sabor e coloração, após três meses de maturação. BRADFIELD (1950) comprovou que 0,25 - 0,31% da acidez do queijo podia ser atingida num período de 7 horas, em condições normais, mas, na presença de agente antibacterianos o produto final era caracterizado por sabor anormal, sem textura e muito frágil. HANSEN et alii (1950) demonstraram a existência de resíduos de antibióticos no creme, que impediam o desenvolvimento normal da maturação do creme para a manteiga. JACQUET (1953) comprovou que na fabricação do queijo Camembert, em presença de antibióticos na concentração de 0,5-1,0 UI/ml de penicilina, obtém-se, no final, um produto impregnado de gás. RUSSOF et alii (1957) trataram vacas sadias e mamíticas por via intramamária com clortetraciclina, a qual foi detectada no leite desnatado durante cinco ordenhas, mesmo depois da remoção da caseína e al-

bumina. MARTH & ELLICKSON (1959) mostraram claramente que a pasteurização não elimina a penicilina do leite e afirmaram que os antibióticos resistem também a ebulição durante 60 minutos e mesmo ao aquecimento em autoclave à 120°C em uma pressão de 1 Kg/cm² por 15 a 30 minutos. Estes mesmos pesquisadores analisaram amostras de leite em pó desnatado, comprovando a presença de penicilina em torno de 0,05 a 0,1 UI/ml, e que este produto retinha entre 0,5 a 2,5 UI de penicilina por grama. HARPER (1960) estudou o fenômeno relativo à não coagulação da caseína durante o fabrico de queijo "Cottage", observando que, para pequenas concentrações de tetraciclina no leite, haveria uma interação entre caseína, antibiótico e cálcio, e em consequência, a coagulação não se realizava. MELLO et alii (1968) efetuaram estudos no leite em pó comercializado em São Paulo (250 amostras), encontrando 1,2% de penicilina e 3,6% de inibidores não identificados. PILET & THOMA (1969) comprovaram que a penicilina no leite só é destruída totalmente a uma temperatura de 100°C, o mesmo acontecendo com a tetraciclina. JACQUET & PITRE (1977) comprovaram que a pasteurização não diminui, a não ser ligeiramente, o índice de antibiótico. Os mesmos fizeram referências à fermentação láctica, onde a inibição é medida em função do teor de antibiótico presente, afirmando que, na produção do queijo Camembert, só poderá ocorrer um acidente tecnológico a partir de 200 UI/litro. Com objetivo de comparar três métodos sensíveis à detecção de antibióticos no leite, JOHNSON et alii (1977) efetuaram um estudo: análise de disco, cilindro de placa e Delvotest-P, chegando à seguinte conclusão: no primeiro teste a penicilina foi detectada em 75% do leite; no segundo método a detecção foi de

83%, ao passo que o Delvotest-P apresentou positividade de 95% para penicilina. HUHTANEN et alii (1977) constataram a alta sensibilidade (0,004 UI/ml), precisão e rapidez do método Delvotest-P, para revelar penicilina no leite cru e no leite em pó desnatado.

2.3. Aspectos inerentes à saúde pública.

Há muito tempo, são realizadas pesquisas de âmbito mundial, no sentido de elucidar as consequências do uso intenso e abusivo dos antibióticos no tratamento de rebanhos leiteiros. A presença de antibióticos no leite pode provocar os mais variados tipos de reações que vão desde uma simples urticária ao choque anafilático mortal. E de um modo geral doses a partir de 0,03 UI/ml são suficientes para provocar reações em pessoas sensíveis citada por MELLO (1969); este mesmo pesquisador cita a "Food Drug and Administration", onde esta organização efetuou uma conferência com um grupo de médicos especialistas em alergia causada por antibióticos. Concluiu que a penicilina quando presente no leite, mesmo em pequenas parcelas, provoca reações alergizantes. BORRIE & BARRET (1961) demonstraram que a penicilina contida no leite pode produzir erupções eczematosas recidivantes em pessoas sensibilizadas. Os mesmos constataram, num enfermo, reações graves após ingestão de 500 ml de leite, contendo 0,03 UI de penicilina por ml. MELLO (1969) na cidade de São Paulo, forneceu 400 ml de leite penicilínico na concentração de 0,5 UI/ml, ou seja, 200 UI a cinco voluntários sadios, sem passado alérgico. Logo, a seguir, detectou na urina níveis capazes de produzir fenômenos de sensibilização. ROSANOVE (1960) relatou um caso onde o paciente apresentou bo-

lhas e erupções, oral e cutâneas, após ter ingerido leite penicilínico (0,05 UI/ml). ZIMMERMAN (1959) nos Estados Unidos, comprovou quatro casos de urticária crônica, atribuídas à penicilina ingerida no leite.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material.

3.1.1. Animais utilizados no experimento.

Foram selecionadas 24 vacas holandesas em lactação, sendo 8 sadias (quanto à mamite) e 16 mamíticas, diagnosticadas por exames clínicos e CMT (SCHALM & NOORLANDER, 1957). As mesmas permaneceram em regime de semi-estabulação, na Fazenda Experimental da Escola de Veterinária da UFMG (Igarapé - MG).

3.1.2. Amostras de leite.

Para pesquisa de antibióticos no leite de consumo tipo B e C as amostras foram coletadas na plataforma da Cooperativa Idio Leal a fim de estabelecer-se a prevalência de antibióticos. Nos animais, as amostras foram tomadas antes da ordenha, por quartos, conforme critério pré-estabelecido para determinar a presença de antibióticos nestes animais.

3.1.3. Reagentes e Antibióticos.

- Resazurin
- Penicilina G procaína + Penicilina G potássica + dihidroestreptomicina (P.P.E.)*
- Clortetraciclina**

3.2. Métodos

3.2.1. Sensibilidade e especificidade do Delvotest-P.

A existência ou não de agentes antimicrobianos no leite foi detectada através do teste Delvotest-P, o que torna possível a leitura em 2 horas e meia a 63-65⁰C, em banho-Maria. Este método se caracteriza pela presença de um microrganismo, ou seja, o Bacillus stearothermophilus var. Calidolactis, acondicionado em ampolas num meio sólido, adicionando-se às mesmas um tablete nutriente que funciona como indicador, no caso o bromocresol púrpura, além da peptona, glicose e leite em pó; logo a seguir, acrescenta-se 0,1 ml de leite, com uma seringa dosificadora ajustada à pipeta descartável. As ampolas são acondicionadas em um suporte apropriado e leva-se ao banho-Maria, observando-se que o nível da amostra seja mantido cerca de 0,5 cm, sob a superfície da água. A interpretação consiste em: cor amarela de to-

_____ * Sin-Bio-Vet (Farmavet)

_____ ** Acromicina (Blemco)

do o meio sólido, indicando resultado negativo; cor rósea (violácea) de todo o meio, indicando teste positivo.

Como o Bacillus stearothermophilus é notavelmente penicilínico sensível, seu crescimento é particularmente inibido por uma concentração tão pequena quanto 0,003 UI/ml no leite e tem completa inibição a partir de 0,006 UI/ml. Torna-se importante manter a temperatura na faixa prevista, pois, havendo desvios da mesma, haverá alteração quanto ao tempo de leitura do teste.

Para avaliar a sensibilidade e especificidade do Delvotest-P, várias diluições com os antibióticos selecionados foram testados experimentalmente, sendo: P.P.E. e clortetraciclina.

Procedimento

a) P.P.E. (2.000.000 UI), pesou-se o conteúdo do frasco do antibiótico, e a seguir realizamos as diluições: 0,01, 0,001, 0,002 e 0,005 UI/ml, usando como diluente água destilada esterilizada (120°C por 20 minutos).

Foram usadas cinco ampolas do método (Delvotest-P) para cada diluição. De imediato retirava-se 0,1 ml das diluições problema, e adicionava-se em cada uma das cinco ampolas, acrescentando um tablete nutriente específico, por ampola. Posteriormente, incubava-se no banho-Maria a 65°C, durante duas horas e meia.

b) Clortetraciclina - 500 mg, sendo que as diluições testadas foram: 0,15 mg, 0,10 mg e 0,05 mg.

Procedeu-se de forma idêntica ao P.P.E., quanto à ampliação do método Delvotest-P.

3.2.2. Estudo da prevalência de antibióticos no leite tipo B e C.

As amostras de leite tipo B e C, foram tomadas em frascos de 250 ml, retirando-as do latão, após serem homogeneizadas. O horário de chegada do leite B variava de 8h30min às 10h30min. O número de amostras foi de 183, coletadas durante 3 meses, com uma amostragem de 16 produtores por semana. Foram coletadas, também, 80 amostras, de duas rotas de leite tipo C, durante um mês. Estas amostras eram tomadas de latões transportados em caminhões. Após serem acondicionadas em caixas isotérmicas, eram conduzidas para o laboratório do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da UFMG.

Procedeu-se com leite tipo B, a prova de resazurin e lactofermentação (MADSEN et alii, 1965) para comprovar se estas análises poderiam servir como indicadores da presença de antibióticos no leite. Para tanto, diluições de 0,04 UI, 0,05 UI, 0,07 UI e 1,0 UI de penicilina foram preparadas, adicionando-as em tubos de ensaio com as respectivas amostras de leite. De imediato, incubou-se no banho-Maria, 37°C por 1h30min e a seguir à leitura da prova de resazurin, foi feita a lactofermentação durante 48 horas.

3.2.3. Estudo do período de eliminação de antibióticos.

Para realizar o experimento, foram utilizadas 24 vacas holandesas, em fase de lactação; dessas, foram selecionadas oito vacas sadias e 16 portadoras de mamite, diagnosticada por exames clínicos e identificada pelo teste CMT.

As vacas sadias foram selecionadas em quatro grupos de duas, ao passo que as mamíticas em quatro grupos de quatro, tratadas por duas vias (intramamária e intramuscular), com dois diferentes antibióticos (P.P.E. e Clortetraciclina).

As seguintes doses foram administradas: P.P.E. (2.000.000-UI) pelas vias intramuscular e intramamária, com três aplicações durante 36 horas, intercaladas de 12 horas. Evidentemente, esta dosagem foi calculada por quarto infectado para, em seguida, serem aplicadas as infusões intramamárias.

A dose de clortetraciclina (500 mg) por via intramuscular foi de 1.000 mg, enquanto que, por via intramamária, foram aplicados 500 mg por quarto infectado, sendo três aplicações com intervalos de 12 horas.

As vacas sadias, quando submetidas à antibioticoterapia, pela via intramamária, receberam dose única de P.P.E. 2.000.000 UI, durante 36 horas, intercaladas de 12 horas, enquanto que a clortetraciclina foi administrada 500 mg, em mesmo intervalo de tratamento descrito acima.

Quanto à infusão intramamária nas vacas sadias, seguiu-se o seguinte critério: infusão no quarto posterior direito (PD) e coleta no anterior esquerdo (AE), o mesmo ocorrendo com aplicação intramuscular, onde foram usados, para coleta, dois quartos citados (PD e AE).

O veículo aquoso foi usado para o antibiótico, adicionando-se 10 ml de solução fisiológica (0,85% de NaCl) com pH 6,7, somente para a infusão intramamária.

A coleta de amostras foi efetuada após 24 horas da última aplicação e, posteriormente, com intervalos de 12 horas, em tubos de ensaio devidamente esterilizados para evitar a presença de resíduos de antibióticos. Ainda se observou para as vacas mamáticas, que a amostragem foi tomada dos quartos infectados e um sadio, previamente selecionados.

3.2.4. Análise estatística dos dados experimentais.

O teste chi-quadrado (SNEDECOR & COCHRAN, 1967) foi utilizado para avaliar a sensibilidade e especificidade do método Delvotest-P, segundo o modelo:

Diagnóstico Real (caso)

		+	-	
Diagnóstico	+	a	b	a + b
do	-	c	d	c + d
Delvotest-P		a + c	b + d	N

Portanto, a sensibilidade e especificidade são traduzidas por:

$$S = \frac{a}{a+c}$$

$$E = \frac{d}{b+d}$$

No estudo do período de eliminação dos antibióticos, os tratamentos formados em esquema fatorial (2 vias x 2 antibióticos x 2 estados sanitários) seguiram um delineamento inteiramente casualizado, com 2 repetições para vacas sadias e 4 para as mamíticas. A análise de variância obedeceu ao seguinte esquema:

fontes de variação	graus de liberdade
Total	23
Tratamento	7
Erro	16

As médias de período de eliminação, para cada tratamento foram comparadas pelo teste t de Student ao nível de 5% através do cálculo da diferença mínima significativa (dms)

$$dms = t_{16} \sqrt{\frac{s^2}{n_1} + \frac{s^2}{n_2}} \quad \text{onde}$$

t é o valor tabelado de t com 16 graus de liberdade

s^2 é a variância do erro

n_i é o número de repetição dos tratamento comparados.

4. RESULTADOS

4.1. Sensibilidade e especificidade.

A sensibilidade e especificidade do Delvotest-P, foram de 100% de probabilidade estatística, nas diluições 0,01, 0,001, 0,002 e 0,005 UI para P.P.E. Quanto à clorte-traciclina, nas diluições 0,15 mg, 0,10 mg e 0,05 mg, repetiu-se o mesmo resultado estatístico citado acima.

4.1.1. Prevalência de antibióticos no leite tipo B e C.

Após a análise do leite tipo B, comprovou-se a existência de resíduos de antibióticos, com uma prevalência de 5,49%.

No que se refere ao leite tipo C, a presença de resíduos de antibióticos foi de 1,25%.

Quanto aos testes de lactofermentação e resazurin, nas diluições (0,04, 0,05, 0,07 e 1,0 UI), pode concluir-se que, na prova de resazurin, não houve alteração significativa, quanto à interpretação, pois todos os resul-

tados foram idênticos (coloração azul acinzentada, durante 1h30min), ou seja, leite de ótima qualidade, quer na amostra problema (com antibiótico) ou na testemunha. Na lactofermentação todos os testes fermentaram (+) durante as primeiras 24 horas de incubação. Portanto, estes dois métodos não são específicos por si só, para indicar a presença de antibióticos, logicamente dependendo das concentrações presentes no leite.

4.1.2. Período de eliminação de antibióticos.

Pela TAB. I uma vaca sadia (v_5) eliminou por 48 horas, após aplicação intramuscular de clortetraciclina, ao passo que na vaca (v_6) a permanência do antibiótico no leite foi de 84 horas, superando o permitido pela legislação, ou seja, de 72 horas. Quando na aplicação intramamária, a eliminação nos quartos tratados foi de 96 horas por ambas as vacas do grupo (v_7 e v_8).

Na administração desse mesmo antibiótico, em vacas mamíticas, indiferente da via e de quartos tratados ou não, as 8 vacas do grupo eliminaram antibióticos pelo leite por mais de 72 horas, tendo 3 vacas do grupo (v_{22} , v_{23} e v_{24}) eliminado até 144 horas.

Na TAB. II nota-se, que após inoculação de P.P.E. por via intramuscular, as duas vacas sadias (v_1 e v_2) tiveram a persistência de antibiótico no leite, por 72 a 84 horas, respectivamente. O mesmo antibiótico, administrado em vacas sadias (v_3 e v_4), pela via intramamária, apresentou o período de eliminação de até 72 horas, nos quartos tratados.

Na aplicação do P.P.E., em vacas mamíticas, quer

por via intramuscular ou intramamária, a eliminação de todas as vacas do grupo foi superior a 84 horas, principalmente nos quartos tratados infectados. Quanto aos quartos controles, apenas 1 vaca (v_{10}), eliminou antibiótico por menos de 72 horas.

Na TAB. III onde se avalia o tempo de eliminação dos dois antibióticos, pôde se detectar que 91,6% das vacas eliminaram clortetraciclina além do permitido pelas normas de produção de leite (72 horas). Podendo notar-se também, que 25% das vacas eliminaram antibiótico até 144 horas.

No que se refere a P.P.E., 75% dos animais do experimento apresentaram uma eliminação do antibiótico no leite, superior ao tempo estabelecido em lei. Evidencia-se, que 8,33% das vacas desse grupo, mantiveram resíduos desse antibiótico, no leite, até 144 horas.

Pela TAB. IV estima-se o tempo de eliminação da clortetraciclina entre quartos, quando inoculado em vacas mamíticas. Verifica-se que indiferente da via de aplicação, todos os animais do grupo eliminaram por mais de 72 horas, quer por quarto tratado infectado ou quarto controle.

Na TAB. V comprova-se a persistência de P.P.E. entre quartos, após inoculação em vacas mamíticas. Todas as vacas doentes, apresentaram uma permanência do antibiótico no leite por mais de 72 horas, independente dos quartos tratados.

A TAB. VI demonstra a persistência dos dois antibióticos, após inoculação pelas duas vias (IM e IQ), em

vacas sadias. A P.P.E. e clortetraciclina, quando inoculadas por via intramuscular, fizeram-se presente no leite pelo período de até 84 horas. O P.P.E., aplicado por via intramamária, no quarto tratado, eliminou pelo tempo regulamentado em lei (72 horas), e nos quartos controles a persistência foi de 60 horas. A clortetraciclina, por infusão intramamária, apresentou um período de permanência no leite de 90 horas, ao passo que os quartos controles, tiveram a eliminação pelo leite de 72 horas.

Na TAB. VII relaciona-se a influência da intensidade da reação CMT, no tempo de persistência da P.P.E. Esse antibiótico, administrado por via intramuscular, teve sua eliminação pelo leite de 132 horas, tempo este, bem superior ao previsto em lei (72 horas), independente da intensidade da reação do CMT.

Quando da inoculação intramamária, repetiu-se os resultados acima descritos, tendo uma vaca (v_{13}) eliminado até 144 horas, sendo que por esta via houve influência da intensidade de reação.

Na TAB. VIII os parâmetros são os mesmos da TAB. VII, exceto quanto ao antibiótico administrado. A clortetraciclina, por via intramuscular, foi eliminada até 132 horas pelo leite, dependendo da reação do CMT.

Na aplicação, por via intramamária, também houve eliminação superior as normas previstas. Pode-se notar, realmente, que há influência quanto à intensidade da reação do CMT, citando como exemplo 3 vacas (v_{22} , v_{23} e v_{24}) que eliminaram antibiótico pelo leite até 144 horas.

Na TAB. IX podem ser observadas as diferenças, entre tempo de eliminação dos antibióticos, clortetraciclina e P.P.E., e o comportamento da persistência destes, em vacas sadias e mamíticas.

Para as vacas sadias (dms = 25), houve diferença significativa na eliminação, entre os tratamentos, intramuscular e intra-quarto, com clortetraciclina.

Para vacas mamíticas (dms = 18) houve para o tempo de eliminação diferença significativa, independente dos tratamentos e vias utilizadas (exceto por vias IM e IQ com P.P.E.).

O cálculo da dms, entre os tratamentos das vacas sadias e mamíticas foi de 22, demonstrando haver diferença significativa na permanência de antibióticos, dependendo da via inoculada.

O coeficiente de variação do experimento foi 11,14%.

5. DISCUSSÃO

5.1. Sensibilidade e especificidade do Delvotest-P.

O método utilizado para detectar resíduos de antibióticos no leite mostrou-se altamente satisfatório, apresentando-se com grande sensibilidade e especificidade e atendendo, notadamente, o binômio tempo-precisão. Comprova-se a total eficiência do método, pois, além das características acima citadas, é simples e de fácil interpretação.

Estes resultados coincidiram com aqueles apresentados por HUHUTANEN et alii (1977), ou seja, a sensibilidade de 0,004 UI/ml para o método Delvotest-P; ao passo que JOHNSON et alii (1977), comparando três métodos de detecção de antibióticos no leite (análise de disco, cilindro de placa e Delvotest-P, concluíram que o Delvotest-P alcançou 95% de segurança no diagnóstico para penicilina.

5.2. Prevalência de antibióticos no leite.

Com o estudo da prevalência realizado durante três meses consecutivos foram, até certo ponto, expressivos,

pois resíduos de antibióticos no leite tipo B, foram detectados e, levando-se em conta o pequeno número de produtores, a prevalência foi elevada, comprovando o uso intensivo e indiscriminado desses agentes antibacterianos.

O leite tipo C apresentou antibiótico, mas com índices bem menores. Essa menor ocorrência poderia ser atribuída ao despreparo do produtor quanto à profilaxia sanitária, falta de orientação técnica na exploração leiteira, menor valor econômico e seleção zootécnica dos rebanhos leiteiros, e em termos gerais resume-se o deficiente manejo.

Quanto ao tipo B, há maior investimentos, no que tange à instalações, manejo, controle higiênico-sanitário, o rebanho leiteiro com boas características zootécnicas, fazendo com que o produtor use indiscriminadamente, antibióticos e não obedeça as normas existentes para produção e comercialização desse leite com resíduos de antibióticos.

A prevalência, por nós detectada, não difere muito do estudo realizado por WELSH et alii (1955), diagnosticando 11,6% de penicilina em leite pasteurizado. MEARA (1959) detectou 3% de antibiótico; já KOSIKOWSKI (1960) constatou 0,54% de penicilina nos Estados Unidos; COOK et alii (1970) comprovaram a presença de 3,2% no leite pasteurizado; MELLO (1969) detectou 1,9% de penicilina no leite tipo C, mas no leite em pó a prevalência foi de 1,2% (1968); FARRELY (1970), determinou a existência de 5,8% de penicilina. Conclui-se, frente a estes dados, que os resultados encontrados em nossa pesquisa, assemelham-se, mas devemos dar ênfase à época destas pesquisas, principalmente nos Estados

Unidos (1959-60), onde hoje esta prevalência não ocorre mais.

Comparando os dados publicados por MELLO (1969) e trasladando-se para a realidade atual, onde a cidade de São Paulo apresenta-se como a maior fonte de comercialização do leite tipo B, torna-se quase evidente que a prevalência de 5,49%, verificada aqui em Belo Horizonte nesse leite é alarmante diante do grande consumo do mesmo, em São Paulo.

5.3. Período de eliminação dos antibióticos.

Na detecção do tempo de eliminação de antibióticos no leite, existem várias afirmativas divergentes, estando na dependência da via de aplicação, dose, veículo e fatores inerentes ao animal.

Para vacas sadias, tratadas por via intramamária, os resultados obtidos foram praticamente idênticos aos achados pelos pesquisadores ROLLINS et alii (1971), MAY et alii (1975), VIDEAU et alii (1977), ALBRIGHT et alii (1961b), ou seja, uma eliminação em torno de 72 a 96 horas (TAB. I e II); mas o próprio VIDEAU et alii (1977), quando utilizaram hidrocortisona associada ao antibiótico, detectaram no leite pelo tempo de 108 horas.

Após administração por via intramuscular, em vacas sadias, o período de eliminação variou de 48 a 96 horas (TAB. I e II), já outros pesquisadores, obtiveram resultados semelhantes, BLOBEL & BURCH (1960b), SCHIPPER (1965), CANNON & HAWKINS (1962), detectando resíduos de antibióticos no leite pelo período de 24 a 72 horas.

Vacas mamíticas, após o tratamento intramuscular, eliminaram durante 84 a 132 horas (TAB. IV e V), independente dos antibióticos administrados (P.P.E. e Clortetraciclina), o que de certa forma, assemelham-se aos resultados obtidos por YASAF VAID et alii (1960), SEVICK et alii (1970), MOL & BAKKER (1969); as oscilações existentes nos períodos de eliminação, provavelmente ocorreram devido a fatores como: dosagem, veículo e grau de infecção dos animais.

O tratamento intramamário no grupo de vacas mamíticas, apresentaram um período de eliminação de 84 a 144 horas (TAB. IV e V), vindo de encontro aos resultados detectados por BLOBEL & BURCH (1960a), KATZ et alii (1973) e SIDDIQUE et alii (1965). Mas os pesquisadores EBERHART et alii (1963), FINCHER et alii (1962) e BRODIE et alii (1962), detectaram antibióticos no leite pelo período de 180 a 240 horas. Esta diferença marcante pode ter ocorrido em função da composição dos antibióticos, concentração, tipo de veículo utilizado e a fatores inerentes ao animal.

6. CONCLUSÃO

Em face dos resultados mencionados nesta pesquisa, podem ser enumeradas as seguintes conclusões:

a) O método utilizado para diagnosticar resíduos de antibióticos no leite (Delvotest-P) é altamente sensível, específico e atende o binômio tempo-precisão.

b) A prevalência de resíduos de antibióticos, no leite tipo B, comercializado em Belo Horizonte de agosto a novembro de 1978, foi de 5,49% e para o leite tipo C, foi de 1,25%.

c) Vacas mamíticas eliminam por um tempo bem maior que vacas sadias, independente do antibiótico administrado.

d) Um maior ou menor tempo de eliminação dos antibióticos no leite, pode depender da intensidade da reação do CMT.

e) O número de quartos infectados por vacas não interfere diretamente no tempo de eliminação dos antibióticos no leite.

f) A clortetraciclina permaneceu por tempo maior do que a P.P.E. (TAB. III), notadamente pela via intramamária em vacas mamíticas.

g) A via intramamária elimina antibiótico por um período de tempo maior que a via intramuscular, independente do estado de saúde do animal.

h) Os quartos não tratados das vacas mamíticas eliminam antibióticos por um tempo maior do que os mesmos quartos, em vacas sadias.

7. TABELAS

TABELA I - Eliminação da cloro-triaciclina no leite de vacas sadias e mamíticas, após inoculação por via intramuscular e intra-quarto

Horas	Mamíticas											
	Sadias						Mamíticas					
	Intramuscular		Intra-Quarto		Intramuscular		Intra-Quarto		Intramuscular		Intra-Quarto	
V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₁₇	V ₁₈	V ₁₉	V ₂₀	V ₂₁	V ₂₂	V ₂₃	V ₂₄	
PD AE	PD AE	PDT AEC	PDT AEC	QM QC	QM QC	QM QC	QM QC	QM QC	QM QC	QM QC	QM QC	
Até 48	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
60	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
72	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
84	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
96	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	
108			-		+	-	+	+	+	+	+	
120					+			+	+	+	+	
132					+			+	+	+	+	
144					+			+	+	+	+	
156					-			-	-	-	-	

PD = Posterior direito

AE = Anterior esquerdo

PDT = Posterior direito tratado

AEC = Anterior esquerdo control.

QM = Quarto mamítico tratado

QC = Quarto control não tratado

Dosagens de Acromicina:

Sadias - IM = 1.000 mg de 12 x 12 durante 36 horas

IQ = 500 mg de 12 x 12 durante 36 horas

Mamíticas - IM = 1.000 mg de 12 x 12 durante 36 horas

IQ = 500 mg de 12 x 12 por quarto infectado durante 36 horas

TABELA II - Eliminação da Penicilina G procaína + Penicilina G potássica + Dihidro estreptomicina no leite de vacas sadias e mamíticas, após inoculação por via intramuscular e intra-quarto

Horas	Mamíticas															
	Sadias								Mamíticas							
	Intramuscular				Intra-Quarto				Intramuscular				Intra-Quarto			
	V	1	2	7	V	4	9	10	V	11	12	13	14	V	15	16
	PD	AE	PD	AEC	PDT	AEC	QM	QC	QM	QC	QM	QC	QM	QC	QM	QC
Até 48	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
84	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
96	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
108							+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
120							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
132							-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
144							-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
156							-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PD = Posterior direito
 AE = Anterior esquerdo
 PDT = Posterior direito tratado
 AEC = Anterior direito controle
 QM = Quarto mamítico
 QC = Quarto controle

Dosagens:
 Sadias - IM = 2.000.000 UI 3 doses de 12 x 12 horas
 IQ = 2.000.000 UI 3 doses de 12 x 12 horas
 Mamíticas - IM = 2.000.000 UI 3 doses de 12 x 12 horas
 IQ = 2.000.000 UI por quarto infectado de 12 x 12 horas, durante 36 horas

TABELA III - Comparação percentual do tempo de eliminação, no leite, de dois antibióticos inoculados em vacas*

Tempo (horas)	Clortetraciclina		P.P.E.**	
	Nº Vacas	%	Nº Vacas	%
24	12	100,0	12	100,0
36	12	100,0	12	100,0
48	12	100,0	12	100,0
60	11	91,6	12	100,0
72	11	91,6	12	100,0
84	11	91,6	9	75,0
96	7	58,3	8	66,6
108	5	41,6	7	58,3
120	5	41,6	7	58,3
132	4	33,3	2	16,6
144	3	25,0	1	8,33

* Inoculação por vias intramuscular e intramamária, em vacas sadias e mamíticas

** Penicilina G procaína + Penicilina G potássica + Dihidro Estreptomina

TABELA IV - Tempo de persistência da clortetraciclina, entre quartos, no leite de vacas mamáticas, inoculada por via intramuscular e intra-quarto

Tempo (horas)	Intramuscular						Intra-Quarto								
	+	+	+	+	N	N	+	+	+	+	N	N	N	N	
	PD	AD	AE	PD	AD	AE	PD	AD	AE	PD	AD	AE	PD	AE	PE
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
96	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
108	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
120			+				+	+	+	+	+	+	+	+	-
132			+				+	+	+	+	+	+	+	+	-
144			-				+	-	+	+	+	+	+	+	-
156							-		-	-	-	-	-	-	-

+ = Quarto mamático
 N = Quarto normal não tratado
 IM = Intramuscular
 IQ = Intra-quarto

TABELA V - Tempo de persistência da Penicilina G procaína + Penicilina G potássica + Dihidro Estreptomycinã, em tre quartos, no leite de vacas mamáticas, através de inoculação intramuscular e intra-quarto

Tempo (horas)	Intramuscular										Intramamário																			
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AD	AE	PD	PE	N AD	N PD	N AE	N PE	N AD	N PD	AD	AE	PE	N AD	N PD	N AE	N PE	N AD	N PD	N AE	N PE									
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
96	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
108	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
120	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
132	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
144	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = Quarto mamítico

N = Quarto normal

* = nome comercial Sin-Bio-Vet - nº de vacas no experimento foram oito

AD, AE, AP, PE, quartos mamários, anterior direito e esquerdo, posterior direito e esquerdo, respectivamente

TABELA VI - Permanência de antibióticos no leite de vacas sadias, após inoculação intramuscular e intramamária

Tempo (horas)	P.P.E.*															
	Clortetraciclina															
	Intramamária				Intramamária				Intramamária				Intramamária			
	Intramamária		Intramamária		Intramamária		Intramamária		Intramamária		Intramamária		Intramamária		Intramamária	
PD ^C		AE ^C		PD ^t		AE ^C		PD ^C		AE ^C		PD ^t		AE ^C		
V ₁	V ₂	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₇	V ₈	
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
48	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
60	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	
72	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
84	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	
96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
108																

* Penicilina G procaína + Penicilina G potássica + Dihidro Estreptomomicina

PD^C, AE^C = quartos mamários, posterior direito e anterior esquerdo controles

PD^t = quarto mamário posterior direito tratado

TAPELA VII - Tempo de eliminação da Penicilina G procaína + Penicilina G potássica + Dihidro Estreptomicina I-noculada por via intramuscular e intramamária em vacas mamíticas, em função da intensidade da reação do CMT.

Tempo (horas)	Intramamária									
	Intramamária					Intramamária				
	V 9	V 10	V 11	V 12	V 13	V 14	V 15	V 16		
até 60	AD+++	AD+++	AE+++ PD+++ PE++	AD++	PE+++	AE+++	PE++	PE+++	AE++	AE++
72	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
96	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
108	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
120	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
132	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
144	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

AD, AE, PD, PE (++...), quartos mamários anterior direito e esquerdo, posterior direito e esquerdo, mamíticos

TABELA VIII - Tempo de eliminação da Clortetraciclina, inoculada por via intramuscular e intramamária em vacas mamáticas, em função da intensidade reação do CMT.

Tempo (horas)	Intramuscular						Intramamária									
	V 17		V 18		V 19		V 20		V 21		V 22		V 23		V 24	
	AD+++	PD+++	AE+++	AE++	AE++	AE++	AE++	AE++	AE+++	AE+++	PD+++	PD+++	PD+++	PD+++	AD+++	AE+++
até 60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
96	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
108	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
120			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
132			+						-	-	+	+	+	+	+	+
144											+	+	+	-	-	+
156											-	-	-	-	-	-

AD, AE, PD (++...), quantos mamários anteriores direito e esquerdo, posterior direito, mamáticos

TABELA IX - As médias de eliminação (horas) segundo o estado sanitário do animal, antibiótico utilizado e via de inoculação

	P.P.E.		CLORTETRACICLINA	
	IM	IQ	IM	IQ
Sadias	78	72	66	96
<hr/>				
Mamíticas	117	126	96	141
<hr/>				

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBRIGHT, J.L.; TUCKEY, S.L.; WOODS, J.T. Antibiotics in milk - A Review. J. Dairy Sci., Champaign, 44(5): 779-99, 1961a.
2. ALBRIGHT, J.L.; ORMISTON, E.E.; BRODIE, B.O.; WITTER, L.D. Penicillin in milk following intramuscular and intramammary administration of penicillin in normal and mastitic cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. Schaumburg, 138(2):70-1, 1961b.
3. BLOBEL, H. & BURCH, C.W. Dihydroestreptomycin and Chlortetracycline into milk of cows following parenteral administration. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 137(12):698-700, 1960a.
4. BLOBEL, H. & BURCH, C.W. Oxytetracycline concentration in blood serum and milk secretions of cows following intravenous or intramammary treatment. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 137(2):701-4, 1960b.
5. BORRIE, P. & BARRET, J. Br. Med. J., London, 2:1267 1961 apud ABDUSSALAN, M. et alii. Higiene de la Le-

che. Geneva, OMS, 1966. p.73.

6. BRADFIELD, A. The effect of mastitis curatives on cheesemaking. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci., Gardenvale, 14(2):127, 1950.
7. BRODIE, B.O.; ALBRIGHT, J.L.; ORMISTON, E.E.; WITTER, L.D. Penicillin in milk after intramammary injection. J. Am. Vet. Med. Assoc., 140(2):1293-94, 1962.
8. CANNON, R.Y. & HAWKINS, E.G. Duration of secretion of bacteriostatic drugs in milk. Penicillin, following oral and parenteral administration. J. Dairy Sci., Champaign, 45(16):769-73, 1962.
9. COOK, R.C.; KATZ, W.K.; MEARA, P.J. The incidence and sources of penicillin in milk supplied to the city of Johannesburg. J. South Afr. Vet. Assoc., Pretoria, 47(3):205-7, 1976.
10. EBERHART, R.J.; HOKANSON, J.F.; RURGH, G.E.; WATROUS, G.H. Persistence of antibacterial agents in milk after intramammary treatment of clinical mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 143(4):390-95. 1963.
11. FARRELY, B.T. A survey of the incidence of antibiotics contamination of milk in the Dublin liquid milk area. Ir. Vet. J., Dublin, 26(3):41-7, 1970.
12. FINCHER, M.G.; KOSIKOWSKI, F.V.; GUTHRIE, R.S.; HODGES, H.G.; JOHNSON, H.G. Relative importance of persistence transfer and milking technique to antibiotic residue contamination of milk. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 141(2):223-8, 1962.

13. GROVE, D.C. Prevention of antibiotics in milk presents status. J. Dairy Sci., Champaign, 42(1):199-201, 1959.
14. HANSEN, H.C.; WIGGINS, G.E.; ROYD, J.C. Modern methods of mastitis treatment cause trouble in the manufacturing of fermented dairy products. J. Milk. Food Technol. 13:359, 1950.
15. HARPER, W.J. Antibiotics proteins interation and the acid coagulation of milk. Am. Milk. Rev., Mount Morris, 22(8):32-4, 1960.
16. HUHTANEN, C.N.; PHILLIPS, J.G.; BRAZIS, A.R.; BREDVOLD, E.; MARSHALL, R.T.; PEDERSON, D.E.; SING, E. T.; THOMPSON, D.L.; WALTZ, M.F.; WEHR, H.M.; BENGSCHE, H. Evolution of a rapid test for antibiotic residue in milk using spores of bacillus stearothermophilus var. calidolactis. J. Food. Prot., Ames, 40(4):236-40, 1977.
17. HUNTER, G.J.E. The effect of penicillin in milk on the manufacture of cheddar cheese. J. Dairy Res., London, 253-4, 1949.
18. JACQUET, J. La presence d'antibiotique dans le lait et ses consequences pour l'industrie laitiere. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 13, He Hague, 1953. Proceedings. The Hague, 1953. N.3, p.1143-5.
19. JACQUET, J. & PITRE, J. Frequence actuelle et consequences de la presence des antibiotiques dans le lait et les products laitiers. Calv. Med. Vet., Paris, 46(1):58-64, 1977.

20. JOHNSON, M.E.; MARTIN, J.H.; BAKER, R.J.; PARSON, J. G. A comparison of several assay procedures to detect penicillin residue in milk. J. Food Prot., Ames, 40 (11):785-9, 1977.
21. KATZ, S.E.; FASSRENDERT, C.A.; HACKETT, A.J.; MITCHELL, R.G. Oxytetracycline residue in milk following intramammary infusion. J. Assoc. Off. Anat. Chem., Washington, 56(3):706-12, 1973.
22. KOSIKOWSKI, F.V. The control of antibiotic in milk through a sound test program. J. Milk. Food. Technol. 23:285-7, 1960.
23. MADSEN, F.; TAVARES, W.A.; CLEMENTE, E.S. Práticas de Laboratório para inspeção industrial e sanitária de leite e laticínios, Volume II, Escola de Veterinária UFMG, 1965.
24. MARTH, E.H. & ELLICKSON, B.E. Antibiotic residues in milk and milk products - A review. J. Milk. Food. Technol., Ames, 22(7):241-9, 1959.
25. MAY, J.; SEEWALD, T.; STEGER, R. Residues in bovine milk after intramammary or intrauterine application of combined chemotherapeutic preparation. Tierärztl. Umsch., Konstanz, 30(5):228-31, 1975.
26. MEARA, O.J. A survey of penicillin contamination of market milk supplies. S. Afr. Med. J., 33:821, 1959 apud ARDISSALAM, M. et alii. Higiene de la Leche. Genebra, OMS, 1959. p.77.
27. MELLO, F.A. Penicilina no leite de consumo da cidade de São Paulo e risco de sensibilização. Rev. Paul. Med.,

São Paulo, 25:21-34, 1969.

28. MELLO, F.A.; SANDOVAL, A.L.; RODRIGUES, R.N.; XIMENDES, J. Inibidores bacterianos no leite de consumo da cidade de São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, 69-93, 1968.
29. MOL, H. & RAKKER DE KOFF, E.C. Penicillin residues occurred in milk of cows after intramuscular administration. Tijdschr. Diergeneeskd, Utrecht, 94(8):577-8, 1969.
30. PILET, C. & THOMA, B. Essais sur la thermostabilité de quelques antibiotiques. Cah. Med. Vet., Paris, 38(6):227-31, 1969.
31. POLO LORA, R.; HERRERA, M.A.; POLO VILLAR, M.; LOPEZ, G.R.; JODRAL, V.M.; IGLESIAS, P.J. Antibiotics in milk from Southern Spain. Arch. Zootec., Madrid, 26(102):125-45, 1977.
32. ROLLINS, L.D.; MERCER, H.D.; CARTER, E.G.; KRAMER, J. Absorption, distribution and excretion of penicillin and dihydroestreptomycin in dairy cows following intramammary infusion. J. Dairy Sci., Champaign, 53(10):1047-14, 1971.
33. ROSANOVE, R. Contamination of milk penicillin. Minn. Med., St. Paul, 43:306-9, 1960.
34. RUSSOF, L.L.; LEE, G.C.; STONE, E.J. Aureomycin (Chortetracycline). Distribution in milk. J. Dairy Sci., 40(10):1390, 1957.
35. SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observation leading to development of California Mastitis

- Test. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 130(5): 199-204, 1957.
36. SCHIPPER, A. Milk and blood levels of chemotherapeutic agents in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 147(2):1403-7, 1965.
37. SEVICK, B.; DVORAK, M.; PLISEK, K. Chloranfenicol levels, in milk and blood serum of cows after intramuscular administration. Vet. Med. Prague, 15(2):83-8, 1970.
38. SIDDIQUE, I.H.; LOREN, K.L.; HOKI, H.H. Antibiotics residues in milk transferred from treated to untreated quarter in cattle dairy. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 146(6):589-93, 1965.
39. SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. Statistical methods. 6.ed. Ames, Iowa, USA. The Iowa State University Press, 1967. p.215.
40. VICKERS, H.R.; BAGNATUNI, L. & ALEXANDRE, S. Dermatitis caused by penicillin in milk. Lancet, London, 1: 35-7, 1958.
41. VIDEAU, D.; DESMOULINS, M.; ROYER, P.; TOURATIER, L. Considerations générales sur l'élimination des antibiotiques dans le lait, cas particuliers de l'élimination de la chlortétracycline. Cah. Med. Vet., Paris, 46:49-57, 1977.
42. VYHNALEK, J. Oxytetracycline excretion in healthy and diseased udder quarters. Vet. Spofa, Prague, 13(3):151-63, 1974.

43. WELSH, H.; JESTER, W.R.; BURTON, J.M. Antibiot Chemother, Basel, 5:571, 1955 apud ABDUSSALAM, M. et alii. Higiene de la leche. Genebra, OMS, 1966. p.73.
44. YASAF VAID, M.; PROUTY, C.C. SHAW, A.O.; WATTS, R. E. Penicillin levels in milk following parenteral administration of procaine penicillin G. J. Milk. Food. Technol., Ames, 24(1):7-10, 1960.
45. ZIMMERMAN, M.C. Chronic penicillin urticaria from dairy products, proved by penicillinase cures. Arch. Dermatol., Chicago, 79:1-6, 1959.