

## INIBIDORES MICROBIANOS EM LEITE PASTEURIZADO DO COMÉRCIO DA CIDADE DE SÃO PAULO \*

Dilma Scala GELLI \*\*  
Miyoko JAKABI \*\*  
Aldo de SOUZA \*\*

RIALA6/567

GELLI, D. S.; JAKABI, M. & SOUZA, A. — Inibidores microbianos em leite pasteurizado do comércio da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:19-24, 1984.

**RESUMO:** Foram analisadas 404 amostras de leite pasteurizado, tipos B e Especial no período 1981-1982. Destas, 172 (42,57%) foram positivas para antibióticos e/ou anti-sépticos, como segue: (3,96%) para antibióticos pelo método de difusão em disco e 47 (11,63%) pelo Delvo-teste; 19 (4,70%) para antibióticos e anti-sépticos e 90 (22,28%) para anti-sépticos. Houve redução no teor de antibióticos nas amostras de 1982, em relação às de 1981, considerando a sensibilidade dos microrganismos usados para a sua detecção. Dentre os vários microrganismos usados para a detecção de anti-sépticos, os bacilos gram-negativos foram inibidos com maior frequência, seguidos dos bacilos e cocos gram-positivos. Há, pelos resultados, indicação da utilização de anti-sépticos diversos. Não houve redução da presença desta classe de inibidores durante o período de observação assinalado. Em 73 amostras, realizou-se também o exame bacteriológico. Destas, 21 apresentaram-se de acordo com os padrões legais estabelecidos e livres de substâncias inibidoras. Entre as demais, 28 amostras estavam em desacordo com os padrões microbiológicos, porém livres de inibidores; 5 amostras acusavam a presença de antibióticos e 14, a de anti-sépticos; 5 destas amostras estavam de acordo com os padrões microbiológicos, porém 4 delas continham antibióticos e uma, anti-séptico.

**DESCRIPTORIOS:** leite, substâncias inibidoras; leite, antibióticos, anti-sépticos, contaminantes microbianos.

### INTRODUÇÃO

As substâncias que podem estar presentes no leite de consumo e que exercem ação inibidora sobre microrganismos são, basicamente, as naturais, secretadas pelo próprio animal, as químicas, com ação anti-séptica — desinfetante, e as antibióticas e quimioterápicas.

O leite de animais que estão secretando colostro, assim como o leite de retenção, não podem ser aproveitados para fins de alimentação humana<sup>1,2</sup>, pois estas substâncias exercem ação inibitória, assim como as lacteninas, lactoperoxidasas etc.

Os anti-sépticos podem estar presentes no leite seja como resíduo da lavagem de utensílios e recipientes, ou por acidente tecnológico ou, ainda, pela adição intencional, na tentativa de prolongar e/ou assegurar o tempo de vida do produto<sup>18</sup>.

A presença dos antibióticos e/ou quimioterápicos é, em geral, conseqüência do seu uso em clínica e terapêutica veterinárias. Podem ser usados como agentes promotores de crescimento do animal, ou adicionados às rações tanto para a preservação das mesmas como para a referida promoção de crescimento e para tratamento de doenças infecciosas<sup>4, 6, 7, 8, 11, 15, 16, 17</sup>.

\* Realizado na Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

As implicações em Vigilância Sanitária relativas à presença de inibidores, no que se refere aos anti-sépticos, se associa com fraude, uma vez que tem por finalidade prolongar o tempo de vida útil e/ou mascarar a qualidade higiênica do produto, inibindo o desenvolvimento dos contaminantes microbianos presentes. No que se refere aos antibióticos, em especial a penicilina, há a possibilidade de eclosão de fenômenos de hipersensibilidade, tardia ou imediata, nos consumidores alérgicos, previamente sensibilizados. Pode ainda haver indução de sensibilização dos que não tiveram contacto com esta substância. A possível ação seletiva dos microrganismos resistentes aos antibióticos e quimioterápicos, que podem levar à fixação das cepas resistentes, depende da concentração do agente inibidor no leite. Com efeito, para a emergência e fixação destas cepas resistentes, os antibióticos e quimioterápicos devem estar em doses próximas à da concentração mínima inibitória de cada uma das substâncias <sup>4, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 20</sup>.

Os métodos laboratoriais para averiguar a presença destas substâncias presentes no leite podem ser químicos ou microbiológicos. Estes últimos não permitem a identificação química das substâncias, apesar de serem os microrganismos indicadores selecionados relativamente sensíveis a cada uma delas. A grande maioria dos anti-sépticos e desinfetantes são volatilizados pela ação do calor, enquanto os antibióticos e quimioterápicos permanecem, o que leva a uma distinção entre estas duas classes de substâncias. No que se refere à penicilina, pode-se evidenciá-la pela adição da penicilinasase que impede a ação desta substância <sup>17</sup>.

O presente trabalho tem por finalidade verificar a incidência de inibidores com ação antibiótica ou anti-séptica presentes em amostras de leite pasteurizado tipos B e Especial, comercializados na cidade de São Paulo, nos anos de 1981 e 1982 e pretende-se associar os resultados destas determinações às de contaminantes microbianos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 404 amostras de leite pasteurizado, sendo 189 do tipo B e 215 do tipo especial (3,2% de gordura), de 19 marcas diferentes comercializadas na cidade de São Paulo.

### *Microorganismos utilizados nos testes*

A seleção dos microrganismos foi baseada em técnicas padronizadas <sup>13, 17, 18</sup> nas indicações dos catálogos do "American Type Collection" (Estados Unidos), e do "National Collection of Type Culture" (Inglaterra).

Para a pesquisa de anti-sépticos foram usados: *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Staphy-*

*lococcus aureus* NCTC H209 *Escherichia coli* ATCC 11313; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 14502; *Klebsiella pneumoniae* NCTC H 204; *Candida albicans* ATCC 10231; *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 e *Aspergillus niger* sem referência de número de coleção.

Para a pesquisa de antibióticos, foram usados: *B. subtilis* ATCC 6633; *Sarcina lutea* ATCC 9341; *S. aureus* ATCC 6538; *S. epidermidis* ATCC 12228; *K. pneumoniae* ATCC 10031 e *B. stearothersophilus* variedade *calidolactis*.

### *Pesquisa de anti-sépticos*

As bactérias selecionadas foram cultivadas sobre ágar nutritivo, inclinado, incubado a 35°C por período máximo de 24 horas, e semeadas, pelo método de estria, usando a agulha em cabo de Kolle, sobre a superfície do ágar em placa, contendo a amostra de leite. Este ágar em placa foi preparado usando-se 10 ml de ágar nutritivo (concentração dupla), fundido e resfriado a aproximadamente 45°C, e a ele foram adicionados 10 ml da amostra sob análise. Para os fungos, procedeu-se da mesma maneira, porém sobre ágar-dextrose batata (concentração dupla) acrescido, nas mesmas proporções, do leite sob análise. Cada amostra foi analisada em duplicata, uma com o leite à temperatura em que foi recebido pelo laboratório (refrigerada) e outra, após exposição do mesmo a 80°C, por 30 minutos. As placas semeadas com bactérias foram incubadas a 35°C, durante 24-48 horas, e as semeadas com fungos, a 22°C, por 5 dias <sup>8, 18</sup>. Os controles foram feitos com leite estéril, isento de inibidores, ao qual se adicionou 0,001 ml de formol por ml da amostra.

### *Pesquisa de antibióticos*

As bactérias foram cultivadas em 9 ml de água peptonada a 0,1%, tamponada, incubadas a 35°C por 24 horas, semeadas em ágar Mueller-Hinton, método da sementeira em profundidade, e distribuído em placas, para os testes de difusão. A amostra foi previamente aquecida a 80°C, por 10 minutos e, depois de resfriada, com ela foram impregnados discos de papel, estéreis, tipo Watmann, com 13 mm de diâmetro, indicado para absorção de 0,1 ml do leite <sup>17</sup>. Os discos foram, então, colocados sobre a superfície do ágar já semeado com cada uma das bactérias selecionadas, e incubados a 35°C, por 24-48 horas. Para o Delvo teste, realizado com o *B. stearothersophilus*, usou-se ágar nutritivo com glicose e púrpura de bromocresol, ao qual se acrescentou aproximadamente 10<sup>4</sup> esporos do bacilo por ml do meio. O ágar foi distribuído, à razão de 1 ml em cada tubo de 12 x 120 mm. Sobre a superfície do ágar em pé, contendo a bactéria indicadora, acrescentou-se 0,1 ml do leite sob análise, previamente aquecido e procedeu-se à incuba-

ção a 58°C, por até 6 horas. Foi acrescentado 0,1 U.I. de penicilinase por ml às amostras de leite positivas para antibiótico, repetindo-se então o teste. Os controles foram feitos com leite estéril, isento de inibidores, ao qual se acrescentou 0,1 U.I. de penicilina por ml.

de bactérias coliformes fecais foi feita a partir dos tubos positivos para o teste de coliformes totais, pela produção de indol em caldo peptonado, incubado a 45°C, durante 24-48 horas<sup>13</sup>.

#### Determinações bacteriológicas

As amostras de leite diluídas a 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> e 10<sup>-4</sup> foram semeadas em profundidade, em ágar nutritivo, e incubadas a 35°C por 48 horas. A pesquisa de coliformes totais foi feita pelo método de tubos múltiplos (3 tubos para cada alíquota) em caldo lactosado bile-verde-brilhante, usando-se 1,0, 0,1 e 0,01 ml da amostra, com incubação a 35°C por 24-48 horas, e leitura de acordo com tabelas do número mais provável. A pesquisa

#### RESULTADOS

Para as 404 amostras, foram realizados os testes de pesquisa de anti-sépticos e de antibióticos, método de difusão; o Delvo teste foi feito em 308 amostras correspondentes ao ano de 1982, conforme a tabela 1. A variação dos resultados da pesquisa de antibióticos, de acordo com a inibição de cada bactéria, está expressa na tabela 2. Em 86% das amostras positivas, a inibição foi inativada pela adição de penicilinase.

TABELA 1

#### Antibióticos e/ou anti-sépticos em leite pasteurizado

Amostras analisadas	Leite tipo B		Total parcial	Leite tipo Especial (com 3,2% de gordura)		Total parcial	Total geral
	Ano 1981	Ano 1982		Ano 1981	Ano 1982		
Negativas	25 (60,97%)	94 (63,51%)	119 (62,96%)	33 (60%)	80 (50%)	113 (52,55%)	232 (57,42%)
Positivas para antibióticos (disco)	5 (12,19%)	1 (0,67%)	6 (3,17%)	11 (20%)	0	11 (5,11%)	17 (4,20%)
Positivas para antibióticos (delvo)	(*)	16 (10,81%)	16	(*)	31 (19,37%)	31	47
Positivas para antibióticos (disco) e anti-sépticos	3 (7,31%)	0	3 (1,58%)	3 (5,45%)	0	3 (1,39%)	6 (1,48%)
Positivas para antibióticos (delvo) e anti-sépticos	(*)	4 (2,70%)	4	(*)	9 (5,62%)	9	13
Positivas para anti-sépticos	8 (19,51%)	34 (22,97%)	42 (22,22%)	8 (14,54%)	40 (25%)	48 (22,32%)	90 (22,27%)
<b>Total</b>	<b>41</b>	<b>148</b>	<b>189</b>	<b>55</b>	<b>160</b>	<b>215</b>	<b>404</b>

(\*) Delvo teste não realizado.

TABELA 2

Distribuição das amostras positivas com relação à bactéria teste (método de difusão)

Bactéria teste	Tipo de leite		Total
	B	Especial	
<i>S. lutea</i>	2	3	5
<i>S. lutea</i> <i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	1	3	4
<i>S. lutea</i> <i>B. subtilis</i> <i>S. epidermidis</i>	1	—(*)	1
<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	2	1	3
<i>S. lutea</i> <i>S. aureus</i>	—(*)	1	1
<i>S. aureus</i>	—(*)	3	3
Total	6	11	17

(\*) Negativa para a bactéria teste.

Os resultados positivos, obtidos para antibióticos associados aos anti-sépticos, foram assim distribuídos: *S. lutea* (antibiótico) com *S. aureus* e *B. subtilis* (anti-séptico); *S. aureus* com *A. niger*; *S. lutea*, *B. subtilis* e *S. aureus* com *S. aureus* (para os leites tipo B); *S. lutea* com *S. aureus*, *B. subtilis* e *E. coli*; *S. lutea* com *B. subtilis* e *A. niger*, *S. lutea*, *B. subtilis* e *S. epidermidis* com *E. coli*, *K. pneumoniae* e *B. subtilis* para o leite Especial. Através do Delvo-teste, a correspondência foi com a *K. pneumoniae* — 2 de leite tipo B e 5 de Especial — num total de 7 amostras.

Os resultados específicos de inibição das cepas selecionadas, para a pesquisa de anti-sépticos, foram: *S. aureus* em 9 amostras; *B. subtilis* em 18; *K. pneumoniae* em 9; *K. pneumoniae* e *B. subtilis*, com ou sem inibição de outros, exclusiva o *S. aureus* em 10, e outros, exclusive os citados nominalmente, em 3 amostras, para o leite tipo B. Para o leite tipo Especial, encontramos inibição de *S. aureus* em 8 amostras, *B. subtilis* em 18, *B. subtilis* e *K. pneumoniae* e outros, exclusive o *S. aureus* em 11, *A. niger* e *S. cerevisiae* em 1 e para os demais, exclusive os citados, em 4 amostras.

A pesquisa de presença de microrganismos foi realizada em 73 amostras de leite tipo B, no ano de 1982. Para a caracterização destes dados, consideraram-se os limites tolerados para esta classe de produto, constante da Resolução n.º 13/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, Mi-

nistério da Saúde (contagem padrão em placas, máximo 4 x 10<sup>4</sup>/ml; coliformes totais, máximo 2/ml e coliformes fecais, ausência em 1 ml). Das amostras analisadas, 21 (28,77%) se apresentavam dentro dos padrões estabelecidos e isentas de antibióticos e anti-sépticos; 5 (6,85%), positivas para antibióticos pelo Delvo teste e em desacordo com os padrões, sendo que 1 amostra (1,37%) revelou presença de coliformes fecais; 14 (19,18%), em desacordo com os padrões e contendo anti-sépticos, sendo 7 (9,59%) com coliformes fecais; 28 (38,35%), isenta de antibióticos e anti-sépticos porém em desacordo com os padrões, e, dentre elas, 8 (10,95%) com fecais; 4 (5,48%) das amostras foram positivas para presença de antibióticos pelo Delvo teste e 1 (1,37%) para a presença de anti-sépticos, estas últimas com resultados microbiológicos abaixo dos limites tolerados pelo padrão legal.

## DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra uma diminuição acentuada de número de amostras positivas para antibióticos, pelo método de difusão. Este é um dado de importância, uma vez que a sensibilidade das bactérias está em função da natureza e quantidade desta classe de substâncias inibidoras. *B. subtilis* é inibido por concentrações iguais ou maiores do que 0,005 U.I. de penicilina por ml de leite, enquanto *S. lutea* o é em concentrações de 0,05 U.I. e *B. stearothermophilus*, pelo Delvo-teste, em

0,0025 U.I. deste antibiótico<sup>9, 10, 13, 17</sup>. Considerando a tabela 2, 4 amostras do leite tipo B e 4 do tipo especial continham o equivalente de, pelo menos, 0,05 U.I. de penicilina por ml da amostra e 2 do tipo B e 1 do tipo Especial, entre 0,05 e 0,005 U.I. deste antibiótico.

Entretanto, é necessário assinalar que em trabalhos experimentais não há 100% de concordância com as correspondências acima referidas, isto é, quando da adição destas concentrações de penicilina em leite, as concentrações mínimas assinaladas são detectadas por este método, porém ocorrem também reações falso-negativas. No caso do Delvo-teste, há indicações da ocorrência de reações falso-positivas<sup>3, 4, 10, 12, 14</sup>. Nas amostras de leite analisadas, há predominância da presença da penicilina, pela percentagem de amostras com inibição da ação quando da adição da penicilinase.

Ainda pela tabela 1, no que se refere à presença de substâncias inibidoras inativadas pelo calor, utilizando o método para anti-sépticos, conclui-se que não há alteração significativa dos percentuais de positividade entre os anos de 1981 e 1982, mas só flutuações. Pela associação dos resultados com os microrganismos usados, há indicação da presença de mais do que uma substância, sem critério de escolha, pois inibem gram-positivos, gram-negativos e fungos. É interessante observar que as amostras de uma única procedência inibiram sistemática e exclusivamente a *K. pneumoniae*, indicando a presença de um inibidor específico neste período de observação, associada àquela marca.

Pelos dados das determinações microbiológicas, observa-se que a presença de contaminantes microbianos independente da presença dos inibidores, nas amostras analisadas. Pelo

contrário, em 50% das amostras com anti-sépticos, observou-se também a presença dos coliformes fecais, enquanto nas amostras sem inibidores, a positividade para este grupo de microrganismos foi de 22,4%. Considerando também este dado, questiona-se a necessidade e eficiência destes inibidores. Entretanto, não é possível, pelo método microbiológico, determinar a natureza química destes anti-sépticos.

## CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente trabalho permitem concluir que, dentre os inibidores microbianos presentes no leite pasteurizado comercializado em São Paulo, os que são inativados pelo calor estão presentes com maior frequência. Com relação àqueles com atividade antibiótica, houve uma redução marcante de 1981 para 1982. A presença dos inibidores termolábeis não está relacionada com a melhoria da qualidade microbiológica do leite, e é feita sem critério. Nas concentrações dos antibióticos detectados, considerando a sensibilidade dos microrganismos usados (de 0,0025 a 0,05 U.I. de penicilina/ml) e a inativação pela adição de 0,1 U.I. de penicilinase/ml, o risco potencial está associado a fenômenos de hipersensibilidade nos consumidores alérgicos previamente sensibilizados, sendo que o risco de emergência e fixação de bactérias resistentes é pouco provável<sup>5, 6, 7, 10, 14, 15, 16</sup>.

É necessário que se avalie a natureza química dos inibidores presentes e é fundamental, para assegurar a saúde pública, que se somem os esforços dos órgãos inspetores, fiscalizadores e dos produtores, para se alcançarem os objetivos comuns de expor ao consumo um produto de qualidade higiênica adequada.

RIALA6/567

GELLI, D. S.; JAKABI, M. & SOUZA, A. — Microbe inhibitors in pasteurized milk sold in São Paulo City, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:19-24, 1984.

**ABSTRACT:** A search for the presence of antibiotics and/or antiseptic compounds was made in 404 samples of type B or "Special" pasteurized milk sold in São Paulo City in 1981 and 1982. The presence of antibiotics and/or antiseptics was disclosed in 172 samples (42.57%). Of these, 16 (3.96%) were positive for antibiotics by disc diffusion and 47 (11.63%) by Delvo-test; 19 samples (4.70%) were positive for antibiotics and antiseptics and 90 (22.28%) for antiseptics. The antibiotic level was lower in the samples collected in 1982 compared with 1981, having in consideration the sensitivity of the microorganisms employed in the tests. Gram-negative bacilli were more frequently inhibited by antiseptics, followed by Gram-positive bacilli and Gram-positive cocci. No reduction in the levels of antiseptics was noted. A bacteriologic examination of 73 samples was also made. Of these, 21 met the legal requirements and were free of microbe inhibitors. Of the remaining samples, 28 did not meet the microbiological standards but were free of inhibitors, 5 showed the presence of antibiotics and 14 showed antiseptics. Five samples met the microbiological standards but 4 of them contained antibiotics and 1, antiseptics.

**DESCRIPTORS:** milk, inhibiting substances; milk, antibiotics, antiseptics, microbial contaminants.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARROS, V. R. M. & FERCHES, E. M. C. — Pesquisa de inibidores no leite tipo "B", distribuído ao consumo da Grande São Paulo. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, 36: 39-42, 1981.
2. BRASIL, Leis, decretos etc. — Decreto n.º 30.691, de 29 de março de 1952. *Diário Oficial*, Brasília, 7 jul. 1952. Seção 1, p. 10802. [Art. 478 e 479]. Aprova o novo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, que com ele baixa assinado ...
3. FAGUNDES, C. M.; SANTOS, E. C. & RODRIGUES, R. — Prevalência de antibióticos no leite tipo B e C consumido em Belo Horizonte, 1978. *Arq. Esc. vet. Univ. M. Gerais*, 34:203-6, 1982.
4. FRANÇOIS, M. A. C. — L'utilisation des antibiotiques en alimentation animale. *Bull. Acad. natl. Méd. (Paris)*, 150:13-23, 1966.
5. GOUNELLE, H. & SZAKUARY, A. — Antibiotiques et aliments. IV — L'utilisation des antibiotiques hors de la prescription médicale. *Bull. Acad. Natl. Méd.*, 150:149-56, 1966.
6. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS — *Microbial ecology of foods*. v. 1: *factors affecting life and death of microorganisms*. New York, Academic press., 1980. p. 160-9.
7. JUKES, T. H. — Public health significance of feeding cow levels of antibiotics to animals. *Adv. appl. Microbiol.*, 16:1-30, 1973.
8. KOSIKOWSKY, F. V.; HENNINGSON, R. W. & SILVERMAN, G. J. — The incidence of antibiotics, sulfa drugs and quaternary ammonium compounds in the fluid milk supply of New York State. *J. dairy Sci.*, 35:533-9, 1952.
9. MACAULY, D. M. & PACKARD, V. S. — Evaluation of methods used to detect antibiotic residues in milk. *J. Food protect.*, 44:696-8, 1981.
10. MARTH, E. H. & ELLICKSON, B. E. — Antibiotic residues in milk products — A review. *J. Milk Food Technol.*, 22:241-9, 1959.
11. MELLO FILHO, A. — Penicilina no leite de consumo da cidade de São Paulo e risco de sensibilização. *Rev. paul. Med.*, 75:21-34, 1969.
12. MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R. & XIMENES, J. — Inibidores bacterianos no leite de consumo da Capital. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 25:27: 69-93, 1965/67.
13. MESSER, J. W.; CLAYPOOL, L. L.; HOUGHTBY, G. A.; MIKOLAJCIK, E. M. & SING, E. L. — Detection of antibiotic residues in milk and dairy products. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, ed. Elmer H. Marth — *Standard methods for the examination of dairy products*. 14th ed. Washington, D.C., APHA, 1978. p. 141-50.
14. OLSON, J. C., Jr. & SANDERS, A. C. — Penicillin in milk and milk products: some regulatory and public health considerations. *J. Milk Food Technol.*, 38:630-3, 1975.
15. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ — *Questions de santé publique posés par l'introduction d'antibiotiques dans les aliments de l'homme et de animaux domestiques*. Rapport d'un Comité d'Experts, Genève, 1962. Genève, OMS, 1963. [Sér. Rapp. techn. n.º 260]
16. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ — *La surveillance, moyen de prévenir et de réduire les risques pour la santé associés aux entérobactéries antibiorésistantes*. Rapport d'une réunion de l'OMS, Genève, 1977. Genève, OMS, 1978. [Sér. Rapp. techn. n.º 624]
17. SERRES, L.; AMARIGLIO, S. & PETRANXIENE, D. — *Controle de la qualité des produits laitiers*. [Issy-les-Moulineaux, Direction des Services Vétérinaires, 1973] Chap. IV-A (Microb.), p. 1-7.
18. Ibid. Chap. IV-B (Microb.), p. 1-6.
19. VAN SCHTHORST, M. & PEELEN-KNOL, G. — Detection and identification of some antibiotics in slaughter animals. *Neth. J. vet. Sci.*, 3:85-93, 1970.
20. WICHER, K.; REISMAN, R. E. & ARBESMAN, C. E. — Allergic reactions to penicillin present in milk. *J. Amer. med. Assoc.*, 208:143-5, 1969.

Recebido para publicação em 5 de julho de 1983.