

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E DE IMPUREZAS ENCONTRADAS NA Pimpinella anisum L., COMERCIALIZADAS EM LOJAS DE PRODUTOS NATURAIS DE APUCARANA – PR E REGIÃO

Flávia Cristina Salvador

Farmacêutica bioquímica; Bióloga; Especialista em Análises Clínicas; Docente de Microbiologia e Imunologia básica da Faculdade de Apucarana – FAP. E-mail: flavia.salvador@fap.com.br

Aline Daniele Novelli Gracioli

Discente do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Faculdade de Apucarana – FAP. E-mail: aline.cristaldistribuidora@hotmail.com

Amanda dos Santos Burin

Discente do curso de Licenciaturas em Ciências Biológicas na Faculdade de Apucarana – FAP. E-mail: amandas_b@hotmail.com

Nayara Faila

Discente do curso de Licenciaturas em Ciências Biológicas na Faculdade de Apucarana – FAP. E-mail: nayara_2@msn.com

RESUMO: O uso de plantas medicinais na fitoterapia para o tratamento de doenças, manutenção e recuperação, vem crescendo pela população brasileira em todas as idades. Entre elas encontra-se a *Pimpinella anisum L.*, que pode ser encontrada facilmente em jardins, supermercados, farmácias e em lojas que comercializam produtos naturais. Esta planta, de acordo com a bibliografia pesquisada, é utilizada como chá, presente em cosméticos e na culinária. O fato de ser um produto natural, não significa que o seu uso é indiscriminado. A falta de hábitos de higiene e a contaminação local podem contaminar o produto com fezes, insetos, fungos patogênicos e bactérias, entre elas as pesquisadas como *Salmonella spp.*, coliformes totais e fecais e *Staphylococcus aureus*. Os resultados obtidos, comparados com as legislações vigentes, mostraram que 100% das amostras apresentaram ausência de contaminação para *Salmonella sp.* Uma amostra encontrou valores de coliformes totais acima do permitido, dez amostras contaminadas com coliformes fecais e oito amostras apresentaram *Staphylococcus aureus*, mas todas dentro dos padrões exigidos. As bactérias consideradas patogênicas, associadas com as impurezas encontradas, podem estar contaminando a planta e, desta maneira, causar intoxicações e/ou contaminações nos consumidores, validando a importância do preparo correto de chás para consumo.

PALAVRAS-CHAVE: Avaliação Bacteriana; Contaminação; Produtos Naturais.

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF IMPURITIES IN *Pimpinella anisum L.*, SOLD IN NATURAL PRODUCTS SHOPS IN APUCARANA PR BRAZIL AND NEIGHBORING TOWNS

ABSTRACT: The phyto-therapy use of medicinal herbs for the treatment of diseases, maintenance and recovery, is on the increase by Brazilians of all ages. Among these herbs *Pimpinella anisum L.* may be easily found in gardens, supermarkets, pharmacies and in natural products shops. The plant may be used as a form of tea, in cosmetics and in kitchen products. Albeit a natural product, its indiscriminate use may be harmful. Lack of hygiene and contamination by feces, insects, pathogenic fungi and bacteria, among which *Salmonella spp.*, total and fecal coliform bacteria and *Staphylococcus aureus* may modify the product. When results are compared to rates according to current laws, they show that no sample was contaminated by *Salmonella SP*. One sample revealed total coliforms above the rates permitted; ten samples were contaminated by fecal coliforms and eight samples were contaminated with *Staphylococcus aureus*, albeit within standards. Pathogenic bacteria associated with extant impurities may be contaminating the plant and may be causing intoxications or contaminations in consumers. The correct tea preparation is highly important

for consumption.

KEYWORDS: Bacterial Evaluation; Contamination; Natural Products.

INTRODUÇÃO

A sociedade atual tem buscado na natureza hábitos mais saudáveis de vida. Essa tendência, associada ao alto custo dos medicamentos, tem levado ao aumento progressivo da produção e utilização de medicamentos fitoterápicos, conseqüentemente, à preocupação em relação à qualidade destes produtos, já que as contaminações, as falsificações e as adulterações são frequentes (ARAÚJO; OHARA, 2000; BRANDÃO et al., 2001).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) 65 a 80% da população mundial, especialmente em países em desenvolvimento, utilizam dos produtos à base de plantas medicinais no tratamento de suas doenças para várias finalidades e sob diversas combinações baseados em evidências históricas (CALIXTO, 2000; RAHMAN; SINGHAL, 2002; FUNARI; FERRO, 2005).

Atualmente há um crescimento na utilização de fitoterápicos pela população brasileira. Alguns fatores explicam o aumento do uso desses medicamentos, como os avanços científicos permitiram o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes, como também um aumento da população por terapias menos agressivas, destinadas ao atendimento primário à saúde (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

A prática da fitoterapia segura encontra uma série de dificuldades, que vão desde a identificação correta do material botânico utilizado até a inexistência de estudos de segurança, eficácia e das plantas (ROCHA; SOARES; CORREA, 2005). A qualidade implica controle em que estão envolvidos experimentos nos quais se insere o controle microbiológico, cujo objetivo é analisar a contaminação por microrganismos (SANTOS; OLIVEIRA; TOMASSINI, 1995; BRANDÃO; FREIRE; SOARES, 1998; BUGNO; MATOS; PINTO, 2002).

Os medicamentos fitoterápicos devem ser registrados conforme as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), sendo a pesquisa de contaminantes microbiológicos também contemplada nas recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS). (BRASIL, 2004).

Fatores como poluição na água de irrigação, atmosfera, solo, condições da coleta, manipulação, secagem e estocagem são importantes a serem considerados no controle de produtos

naturais, por permitirem altos níveis de contaminação microbiana, por vezes patogênica (FISCHER; OHARA, SAITO, 1993; ABOU-ARAB et al., 1999; DE SMET, 2004; FENNELL et al., 2004; MANDEEL, 2005).

Dentre as maiores biodiversidades do mundo, o Brasil está em primeiro lugar, possuindo grande quantidade de plantas medicinais. Entre essa variedade de plantas existentes está a *Pimpinella anisum* L., que possui grandes ativos farmacológicos sendo grandemente comercializada para fins terapêuticos (NASCIMENTO et al., 2005).

Este trabalho teve como objetivo avaliar, quantificar e isolar bactérias como *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e fecais e *Salmonella* spp., em amostras de *Pimpinella anisum* L. (Erva-doce) comercializados em lojas de produtos naturais e feiras livres das cidades de Arapongas e Apucarana – Paraná, visando a contribuir para a melhoria do perfil de qualidade deste produto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Para a realização desta pesquisa foram compradas amostras da planta popularmente conhecida como Erva-doce, obtidas nas lojas de produtos naturais e nas feiras de agricultores localizadas nas cidades de Apucarana e Arapongas – PR, no período de setembro de 2009 a maio de 2010, de acordo com as normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, conforme a Resolução RDC nº 14/10, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Foi observado se nas amostras constavam os rótulos com nomenclatura botânica, nome popular, temperatura de secagem, validade e procedência do produto. Foram analisadas 20 amostras, sendo 9 amostras da cidade de Arapongas (numeradas de 1 a 9) e 11 amostras da cidade de Apucarana (numeradas de 10 a 20). As amostras, de ambas as cidades, foram adquiridas em lojas de produtos naturais e em feira livre e foram analisadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Apucarana - FAP.

2.2 AVALIAÇÃO E SEPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

No laboratório ocorreu a pesagem e uma parte foi separada para análise microscópica das impurezas presentes. No total foram analisadas vinte amostras de *Pimpinella anisum* L., realizadas em duplicata para melhor confirmação

dos resultados. A metodologia aplicada foi de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), MB- 3462 e MB 3464, e o Diário Oficial da União do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento com publicação em 18 de setembro de 2003.

2.3 AVALIAÇÃO MICROBIANA

No laboratório as amostras foram pesadas e diluídas da seguinte forma: 25 g da amostra adicionadas a 225 ml de solução salina peptonada 0,1%, diluições até 10^{-3} para contagem de *Staphylococcus aureus* e 10^{-1} para a pesquisa de coliformes totais e fecais.

2.3.1 Determinação de *Staphylococcus aureus*

Para a contagem de *Staphylococcus aureus*, as amostras diluídas foram inoculadas na superfície de placas contendo ágar Baird-Parker. Após o término das operações, as placas foram incubadas em posição invertida, à temperatura de 35 °C ou 37 °C, por 48 h. Foram contadas as placas que continham entre 20 e 200 colônias suspeitas de *Staphylococcus aureus*. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) de *Staphylococcus aureus* por mL da amostra. Para a identificação foi feita a coloração de Gram, prova da catalase e coagulase.

2.3.2 Pesquisa de coliformes totais e fecais

Para a pesquisa de coliformes totais e fecais, foi utilizado a Técnica de Tubos Múltiplos utilizando uma bateria com diluição até 10^{-4} com três tubos cada. Segundo Tortora e colaboradores (2003) determinam, o Número Mais Provável (NMP) de microrganismos presentes na amostra analisada, ou seja, quanto maior o número de microrganismos em uma amostra maior será o número de diluições necessárias para inibir o crescimento nos tubos contendo meio de cultivo, assim facilitando a quantificação. As amostras foram inoculadas em tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose, considerando resultado positivo os que apresentaram gás nos tubos de Durham. A confirmação da presença de coliformes totais foi feita por meio da inoculação das colônias que cresceram em caldo verde brilhante bile lactose 2% e posterior incubação 36 ± 1 °C por 24 a 48 h. A presença de gás nos tubos de Durham do caldo verde brilhante evidenciou a fermentação de lactose presente no meio. A confirmação da presença de

coliformes fecais foi feita por meio da incubação em caldo EC, em temperatura de $45\pm 0,2$ °C em banho-maria com agitação mecânica por 24 a 48 h. Foram considerados positivos os tubos que apresentarem gás nos tubos de Durham. Os resultados foram liberados por NMP/g da amostra.

2.3.3 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* baseou na fase de pré-enriquecimento com incubação, a 36 ± 1 °C por 16 a 20 h, de 25 g da amostra, adicionada em 225 ml de solução salina peptonada 1% tamponada. A partir deste procedimento, foram pipetadas alíquotas desta amostra para tubos contendo caldo Rappaport Vassiliadis e em tubos contendo caldo Selenito Cistina. Ambos os meios foram incubados a $41\pm 0,5$ °C em banho-maria com agitação mecânica por 24 a 30 h. A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, foram feitos repiques sobre a superfície de placas com ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e ágar Macconkey, estriando de forma a obter colônias isoladas. Foram obtidas 2 placas de Agar XLD e Macconkey para cada tubo de caldo. Essas placas foram inoculadas a 36 ± 1 °C por 18 a 24 h.

As colônias selecionadas foram repicadas em EPM, MILI e CITRATO para confirmação bioquímica, além do teste da oxidase. Os resultados positivos foram testados com soro anti-*Salmonella* polivalente "O", emitidos como presença ou ausência para *Salmonella* spp.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Observando os rótulos e as embalagens na qual as amostras estavam armazenadas e comparando com a Resolução RDC nº 14/10, da Agência Nacional da Vigilância Sanitária (BRASIL,), todas as amostras estavam fora dos padrões estabelecidos. De modo geral, deixaram de constar o rótulo ou quando presente, alguma exigência como nomenclatura botânica, nome popular, temperatura de secagem, validade e procedência do produto, e apresentaram falhas em relação à rotulagem. Também foi possível verificar que as condições de armazenamento dos produtos vendidos em lojas de produtos naturais estavam em recipientes de plástico com tampa ou já embalados em sacos plásticos de 100g feito na própria loja, na feira livre estavam em tambores feitos de papelão expostos ao sol e em saquinhos. Todos os produtos foram manuseados pelos vendedores, antes ou após a compra das amostras e armazenadas em ambiente

propício de contaminação por poeira e insetos.

A presença de material estranho nas amostras analisadas em nível superior ao permitido pode ser proveniente da falta de limpeza, de separação e manejo inadequados durante os processos de produção e comercialização. Isso se torna um problema frequente no que diz respeito a produtos à base de plantas medicinais. A presença de matéria estranha compromete a qualidade do produto e sua eficácia, uma vez que estes são um dos responsáveis pela contaminação microbiológica do produto, pondo em risco a saúde do consumidor (MELO et al., 2004). Nas amostras de erva-doce foram encontradas insetos, casulos de insetos, terra, rocha, sementes de outras plantas e linha, variando de 0,5% a 4% de contaminantes, se destacando as amostras adquiridas em feiras livres (20%), vista que a Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 1988) permite no máximo 2% de elementos estranhos para a maioria das drogas vegetais.

As pesquisas de bactérias auxiliaram na classificação das amostras, como próprias ou impróprias para o consumo humano.

Quadro 1 Contagem estimada de *Staphylococcus aureus* nas amostras de erva-doce comercializadas nas cidades de Arapongas e Apucarana – PR.

AMOSTRAS	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
2	$12,2 \times 10^2$ UFC/g
3	$12,3 \times 10^2$ UFC/g
4	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
5	$6,5 \times 10^2$ UFC/g
6	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
7	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
8	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
9	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
10	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
11	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
12	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
13	$18,0 \times 10^2$ UFC/g
14	$1,1 \times 10^2$ UFC/g
15	$23,0 \times 10^2$ UFC/g
16	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
17	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g
18	$4,0 \times 10^2$ UFC/g
19	$6,0 \times 10^2$ UFC/g
20	$<1,0 \times 10^1$ UFC/g

Nesta pesquisa obteve-se a aprovação de 100% das amostras na quantificação de *Staphylococcus aureus*, pois todas se encontram dentro do limite estabelecido pela World Health Organization - WHO (1998), que determina valores não superiores a 10^7 UFC/g para materiais destinados ao uso na forma de chás e infusões, e de no máximo 10^5 UFC/g para uso interno. As amostras que apresentaram maior contaminação foram a 13 ($18,0 \times 10^2$ UFC/g) e 15 ($23,7 \times 10^2$ UFC/g) ambas comercializadas em lojas de produtos naturais localizadas na cidade de Apucarana – PR.

Alguns autores utilizam como valores de referência para a pesquisa deste microrganismo, tanto a Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 1988) quanto a Farmacopéia Americana (THE UNITED..., 2005), que estabelecem ausência de *Staphylococcus aureus* para produtos de uso oral. De acordo com estes valores, as amostras 2, 3 e 5 de Arapongas e 13, 14, 15, 18 e 19 de Apucarana, 40% do total das amostras analisadas,

podem ser consideradas impróprias, mas, visto que o consumo acontece após a infusão, estes valores de contaminação, que já são considerados pequenos, diminuirão ainda mais, desde que a preparação aconteça de forma correta.

A presença da bactéria *Staphylococcus aureus* não é comum em drogas vegetais, apesar de produzir enterotoxinas em determinadas condições ambientais, este não apresenta grande risco por via oral. Para que a mesma seja capaz de provocar intoxicação, são necessárias valores acima de 10^5 UFC/g de *Staphylococcus aureus*. (MELO et al., 2004; FRANCO et al., 2005).

A contagem de *Staphylococcus aureus* em alimentos envolve três objetivos: confirmar o envolvimento em surtos de intoxicação alimentar, verificar se o alimento é uma fonte potencial de *Staphylococcus aureus* ou indicar uma contaminação pós-processo. (SILVA et al., 2007).

O quadro 2 descreve os valores encontrados para coliformes totais e fecais (*Escherichia coli*), bactérias que causam intoxicações alimentares.

Quadro 2 Valores estimados de coliformes totais e fecais (*Escherichia coli*) encontrados nas amostras de erva-doce comercializadas em Arapongas e Apucarana - PR e liberados por NMP/g.

AMOSTRAS	COLIFORMES TOTAIS	COLIFORMES FECALIS
1	3,6	<3,0
2	9,2	3,6
3	43	43
4	93	93
5	9,2	9,2
6	3,6	3,6
7	3,6	3,6
8	<3,0	<3,0
9	<3,0	<3,0
10	3,6	3,6
11	<3,0	<3,0
12	<3,0	<3,0
13	<3,0	<3,0
14	9,2	<3,0
15	1100	3,6
16	3,6	3,6
17	<3,0	<3,0
18	43	43
19	9,2	9,2
20	<3,0	<3,0

A Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 1988) e World Health Organization (1998) descrevem os valores para coliformes totais, que crescem a 35 °C, um limite máximo de 104 NMP/g, e de ausência para coliformes fecais (*Escherichia coli*) também denominados de coliformes termotolerantes por crescerem a 45°C. Nos resultados obtidos para coliformes totais, a amostra 15 (5%) adquirida em uma feira livre de Apucarana, apresentou um valor de 1100 NMP/g estando acima do permitido pela legislação. Quanto aos coliformes fecais, as amostras 2, 3, 4, 5, 6 e 7 de Arapongas e 10, 15, 16, 18 e 19 de Apucarana (55% do total analisado), estavam contaminadas com *Escherichia coli*, uma bactéria que habita o intestino de humanos e animais, portanto não própria para o consumo, mesmo apresentando valores baixos, indicando problemas com a higiene que ocorreram durante o processo de colheita, produção, armazenamento e/ou manipulação. O produto submetido ao processo de infusão torna-se mais seguro para ingestão devido ao número de microrganismos presentes serem diminuído.

Segundo Silva Jr. e colaboradores (1995), a presença de *Salmonella* nos alimentos é considerada um dos enteropatógenos de maior risco para a saúde pública, sendo constatados surtos alimentares inclusive no Brasil. A fonte de abrigo dessa bactéria é o intestino de animais e humanos, gemas de ovo, rações animais e vegetais plantados em ambientes com esterco animal ou humano.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi satisfatória em todas as amostras (100%), constatando-se a ausência desta bactéria, estando de acordo com especificações farmacopeias.

A presença deste microrganismo nos alimentos de forma em geral, pode causar infecção intestinal e até morte, principalmente em crianças, idosos, gestantes e pessoas imunossuprimidas (SILVA JR. et al., 1995).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contaminação de espécies vegetais é facilitada pelo não desenvolvimento de boas práticas de colheita, armazenamento, secagem e manipulação. Atualmente não existem meios de fiscalização que garantam um controle da qualidade das ervas comercializadas em nossa região, e o grande uso popular pela *Pimpinella anisum* L., comercializadas em lojas de produtos naturais e feiras populares, não garantem a qualidade microbiológica e a utilização correta, fazendo com que a população acredite que, por ser um produto natural, é inteiramente seguro. Os dados desta pesquisa sugerem que

as amostras analisadas podem ser consideradas satisfatórias, pois apresentam valores de contaminação dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente e a planta medicinal, quando utilizada após infusão, diminui ainda mais os índices de contaminação. Estes resultados não desconsideram as drogas vegetais como produtos sem risco para a saúde, sendo necessárias medidas adequadas de controle higiênico-sanitárias desde a coleta, armazenamento e manipulação para garantir a segurança e o consumo final.

REFERÊNCIAS

- ABOU-ARAB, A. A. K. et al.. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. **Food Chem.**, v. 67, p. 357-363, 1999.
- ARAÚJO, A. L. A.; OHARA, M. T.. Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas em feira de São Paulo e de infusos derivados. **Rev. Bras.Cienc. Farm.**, v. 36, p. 129-137, 2000.
- BRANDÃO, M. G. L.; FREIRE, N.; SOARES, C. D. V.. Vigilância de fitoterápicos de Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. **Cad. Saúde Pública**, v. 14, p. 613-616, 1998.
- BRANDÃO, M. G. L. et al.. Qualidade de amostras comerciais e produtos fitoterápicos: Drogas inscritas na farmacopéia brasileira. **Infarma**, v. 13, p. 60-61, 2001.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2004.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Farmacopéia Brasileira**. 4. ed.. São Paulo, SP: Atheneu, 1988.
- BUGNO, A.; MATOS, D.; PINTO, T. J. A.. Contaminação fúngica em plantas medicinais. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 38, supl. 1, p. 87, 2002.
- CALIXTO, J. B.. Efficacy, safety, quality control, marketing and guidelines for herbal medicines (phytotherapeutics agents). **Braz J Med Biol Res.**, v. 33, p. 179-189, 2000.
- DE SMET, P. A. G. M.. Health risks of herbal remedies: na update. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v. 76, p. 1-17, 2004.
- FENNELL, C. W. et al.. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: agricultural and storage practices. **J. Ethnopharmacol.**, Clare, v. 95, p. 113-121, 2004.
- FISCHER, D. C. H.; OHARA, M. T.; SAITO, T. Contaminação microbiana em medicamentos fitoterápicos sob a forma sólida. **Rev. Farm. Bioquim.**, São Paulo, v. 29, p. 81-88, 1993.
- FRANCO, B. et al.. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, SP: Atheneu, 2005.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O.. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Rev Bras Farmacogn.**, v. 15, p. 178-182, 2005.
- MANDEEL, Q. A.. Fungal contamination of some imported spices. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 159, p. 291-298, 2005.
- MELO, J. G. de et al.. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata-de-vaca (*Bauhinia* spp.) e ginko (*Ginkgo biloba* L.). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 14, n. 2, p. 111-120, 2004.
- NASCIMENTO, V. T. et al.. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthusspp.*), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). **Rev. bras. Pl. Med.**, v. 7, n. 3, p. 56-64, 2005.
- RAHMAN, S. Z.; SINGHAL, K. C. Problems in pharmacovigilance of medicinal products of herbal origin and means to minimize them. **Uppsalla Reports**, v. 17, n. 1-4, 2002.
- ROCHA, L. O.; SOARES, M. M. S. R.; CORREA, C. L.. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 40, n. 4, p. 521-527, 2005.
- SANTOS, P. R. V.; OLIVEIRA, A. C. X.; TOMASSINI, T. C. B.. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. **Rev. Farm. Bioquim.**, São Paulo, v. 31, p. 35-38, 1995.
- SILVA JR., E. A. et al.. **Manual de Controle Higiênico - Sanitário de Alimentações**. 6 ed.. São Paulo, SP: Livraria Varela, 1995.
- SILVA, N. et al.. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo, SP: Varela, 2007.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA - USP. 28. ed.. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2005.
- TORTORA, G. J. et al.. **Microbiologia**. 6 ed.. Porto Alegre, RS: Artmed, 2003.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: WHO, 1998.
- YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento

da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quím Nova**, v. 24, p. 147-152, 2001.

Recebido em: 25 Setembro 2010

Aceito em: 18 Maio 2011