

ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA EM SALADAS DE RESTAURANTES *SELF-SERVICE* DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO

Coagulase-positive staphylococci in salads commercialized in self-service restaurants of Rio de Janeiro City

**Ana Ribeiro Junqueira,
Luana Rocha Fleming,
Luana da Silva Sampaio,
Janáina dos Santos Nascimento*** ✉ E-mail: jnascimento@cefeteq.br

Laboratório de Microbiologia, Centro Federal de Educação Tecnológica de Química de Nilópolis – Unidade Maracanã, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
Rua Senador Furtado, 121 Maracanã CEP 20.270-021 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

RESUMO

A salada é um dos alimentos mais consumidos em restaurantes "self-service". O manuseio e falta de atenção com a higiene desses alimentos fazem deles uma importante fonte de contaminação, já que os manipuladores são veículos de transmissão de patógenos como os *Staphylococcus*, que podem causar intoxicação alimentar. Neste trabalho, foi realizada a quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva presentes em saladas comercializadas em restaurantes do tipo "self-service" da cidade do Rio de Janeiro. Dentre as 31 amostras analisadas, 10 (32,2%) apresentaram contagens de SCP superiores às permitidas pela legislação vigente. Três estirpes identificadas como *S. aureus*, isoladas de diferentes amostras de saladas, foram analisadas quanto ao perfil de sensibilidade a antibióticos, e todas foram resistentes à penicilina, ampicilina e canamicina. Nossos resultados apontam deficiência nas práticas de higiene no manuseio e/ou acondicionamento das saladas analisadas, tornando esse alimento um possível risco à saúde dos consumidores, inclusive pelo potencial de transmissão de estirpes resistentes a drogas.

Palavras-chave: *Staphylococcus*; saladas; resistência a antibióticos.

ABSTRACT

Salad is one of the most consumed foods in self-service restaurants. Handling and absence of hygiene practices of these foods make them an important source of contamination, since handlers are vehicles of transmission of many pathogens, as Staphylococcus, that can cause food intoxication. In this work, the quantification of coagulase positive Staphylococcus was evaluated in salads commercialized in self-service restaurants of Rio de Janeiro City. Amongst 31 analyzed samples, 10 (32.2%) presented counting of coagulase-positive Staphylococcus higher than the values allowed by the legislation. Three strains

identified as S. aureus, isolated from different salads samples, had their antibiotic sensitivity profile analyzed and all of them were resistant to penicillin, ampicillin and kanamycin. Our results indicate deficiency in the hygiene practices on the handling and/or storage of the analyzed salads, becoming these foods a risk to consumers' health, especially due to the potential of transmission of drug-resistant strains.

Key-words: *Staphylococcus; salads; antibiotic resistance.*

INTRODUÇÃO

Os alimentos são susceptíveis à contaminação por diferentes agentes etiológicos, que por sua vez, podem levar ao desenvolvimento de doenças que afetam a saúde humana. Essas doenças tanto podem ser causadas pela multiplicação dos microorganismos patogênicos quanto por suas toxinas (CUNHA NETO *et al.*, 2002; WARMINSKA-RADYK, ŁANIEWSKA-TROKENHEIM & MIKS, 2007).

Nos últimos anos, tem aumentado cada vez mais o número de estabelecimentos comerciais de alimentação, em especial, os do tipo "self-service", onde a salada é um dos alimentos mais consumidos. Entretanto, a contaminação microbiana desses produtos apresenta uma destacada importância para a saúde pública pelo risco de transmissão de doenças de origem alimentar, uma vez que as saladas são preparadas a partir de vegetais que podem conter, na sua superfície, microrganismos potencialmente patogênicos provenientes da água, do solo, de adubos e do ar.

Manipuladores também estão entre as principais fontes de contaminação desse alimento, podendo veicular inclusive *Staphylococcus aureus*, já que o habitat mais comum dessas bactérias é o trato respiratório superior, especialmente a narina anterior, bem como a superfície da pele (MADIGAN, MARTINKO & PARKER, 2004). Na maioria dos casos, essas estirpes não causam doença alguma, entretanto, infecções estafilocócicas podem ocorrer quando a resistência dos hospedeiros é baixa, decorrente de mudanças hormonais, doenças debilitantes, feridas na pele ou tratamento com esteróides ou outras drogas anti-inflamatórias (FEITOSA *et al.*, 2003; YOUNIS *et al.*, 2003; LÓPEZ-PEDEMONTE *et al.*, 2006; CREMONESI *et al.*, 2007).

Muitas estirpes de *Staphylococcus* podem ainda carrear genes de resistência a antibióticos, levando a um quadro de infecção ainda mais grave, uma vez que o tratamento torna-se mais difícil (WOLFSON, 2006; VERMELHO, BASTOS & BRANQUINHA, 2008). As estirpes de *S. aureus* que geralmente causam doenças em humanos produzem um grande número de enzimas extracelulares ou toxinas. No mínimo, quatro hemolisinas diferentes têm sido reconhecidas, e a produção dessa proteína é responsável pela hemólise vista ao redor das colônias em placas contendo ágar-sangue. O *S. aureus* também é capaz de produzir enterotoxinas, comumente associadas com intoxicação alimentar (MADIGAN, MARTINKO & PARKER, 2004; LÓPEZ-PEDEMONTE *et al.*, 2006).

As enterotoxinas estafilocócicas são caracterizadas como sendo proteínas que apresentam resistência à ação de enzimas proteolíticas, como tripsina, renina, papaína, pepsina e quimiotripsina. Atualmente são descritos sete tipos e três subtipos sorologicamente distintos de enterotoxinas, entretanto, a enterotoxina A é a mais freqüente e atua como um superantígeno, envolvendo a estimulação sistêmica de um grande número de células T (SCHLIEVERT *et al.*, 2000; YOUNIS *et al.*, 2003).

A intoxicação alimentar estafilocócica tem início abrupto e violento, com náusea, vômitos e cólicas, prostração, pressão baixa e temperatura subnormal. A morte é rara, contudo, pode ocorrer em crianças, idosos e indivíduos debilitados. O diagnóstico é fácil, especialmente quando há um grupo de casos, com predominância de sintomas gastrintestinais superiores e com intervalo curto entre o início dos sintomas e a ingestão de um alimento comum (APHA, 1995; FDA/CFSAN; 2003).

De acordo com Stamford *et al.* (2006), a notificação da intoxicação causada por *Staphylococcus* não é realizada com freqüência no Brasil, assim, a verdadeira incidência da doença é desconhecida, devido aos sintomas brandos e, em geral, autolimitantes. Somente grandes surtos chegam ao conhecimento das autoridades sanitárias.

Uma vez que há poucos estudos sobre a contaminação de saladas por *Staphylococcus* coagulase positiva, este trabalho tem por objetivo a detecção, a quantificação e a avaliação do perfil de resistência a antibióticos desse grupo de bactérias isoladas de saladas comercializadas na Cidade do Rio de Janeiro. Esses microrganismos presentes em contagens superiores às permitidas pela legislação vigente sugerem que as práticas de higiene no manuseio e/ou armazenamento dos alimentos analisados não foram adequadas, indicando, assim, que estes representam um risco à saúde dos consumidores.

MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de saladas foram obtidas em 31 restaurantes do tipo *self-service*, distribuídos em dez bairros da Cidade do Rio de Janeiro, no período de fevereiro de 2007 a fevereiro de 2008. A coleta foi efetuada durante o período de serviço de refeições, no horário entre 11 e 13 horas, utilizando os talheres disponibilizados para a distribuição e a embalagem original "para viagem" fornecida pelo estabelecimento. O tempo entre a aquisição das amostras e sua análise não ultrapassou 60 minutos.

PREPARO DAS AMOSTRAS

Para a realização das análises microbiológicas, pesou-se, asépticamente, 25 gramas de cada amostra, que foram então acrescidos de 225 mL de solução peptonada 0,1% (p/v). A mistura foi homogeneizada em um aparelho Stomacher (Lab-Blender 400) por 2 minutos, constituindo-se, então, a diluição

10⁻¹. Foram realizadas, em seguida, diluições seriadas das amostras em água peptonada 0,1% (p/v) até 10⁻³.

ISOLAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA*

Os métodos empregados no isolamento e identificação das bactérias foram realizados conforme descrito pela Instrução Normativa 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

Alíquotas de 0,1 mL das diluições realizadas foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Baird-Parker (MERCK), adicionado de telurito de potássio a 0,01% (p/v) e emulsão de gema de ovo a 5 % (v/v), que foram então incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, realizou-se a contagem do número de colônias típicas sugestivas de *Staphylococcus aureus* (com coloração negra brilhante, zona de precipitação branca ao seu redor e circundada por um halo transparente) e atípicas (sugestivas de outras espécies), obtendo-se assim o valor da contagem presuntiva de unidades formadoras de colônias de *Staphylococcus* sp. por grama. Colônias típicas e atípicas de cada amostra foram semeadas na superfície de ágar BHI inclinado distribuído em tubos de ensaio e incubadas a 36°C por 24 horas.

A morfologia microscópica das células isoladas foi realizada através de coloração Gram a partir das culturas crescidas nos tubos com ágar BHI inclinado. As culturas que se apresentaram como cocos Gram positivos e agrupados em forma de cacho foram submetidas às provas de identificação bioquímica (catalase, DNase, e coagulase), conforme descrito pela Instrução Normativa 62. O cálculo do número de *Staphylococcus* coagulase positiva por grama de alimento foi feito através da proporção do número de colônias selecionadas e confirmadas, nos testes bioquímicos, em relação à contagem presuntiva. Para a diferenciação das estirpes de *S. aureus* de outras estirpes de *S. coagulase* positiva, foram realizadas as provas de utilização de glicose e maltose, teste de Voges-Proskauer, utilização de manitol e crescimento em NaCl a 7,5%.

DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

O perfil de resistência a antibióticos das estirpes escolhidas foi realizado através da técnica de difusão de disco, conforme as recomendações do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003), empregando-se os seguintes agentes antimicrobianos fornecidos pela Cecon (São Paulo, Brasil): ampicilina (10µg), canamicina (30 µg), cefalotina (30 µg), cefotaxima (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), imipenem (10 µg), penicilina (10 U), oxacilina (1 µg), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De 31 amostras de saladas obtidas, 10 (32,2 %) apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva acima de 10^3 ufc/g, valor este estabelecido como sendo o limite máximo permitido pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), o que classificaria esses produtos como impróprios para o consumo. Em uma das amostras (amostra 5), isolada de um restaurante de Pilares, foram encontradas contagens superiores a 10^5 ufc/g. Esses resultados estão apresentados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de saladas coletadas em diferentes bairros da cidade do Rio de Janeiro

Número da amostra	Bairro de isolamento	<i>S. coagulase</i> positiva (ufc/g)*
1	Ilha do Fundão	ND
2	Ilha do Fundão	$1,0 \times 10^3$
3	Marechal Hermes	$2,5 \times 10^3$
4	Maracanã	$5,0 \times 10^2$
5	Pilares	$1,2 \times 10^5$
6	Centro	ND
7	Cascadura	ND
8	Cascadura	ND
9	Marechal Hermes	$2,5 \times 10^3$
10	Centro	ND
11	Centro	ND
12	Centro	ND
13	Centro	ND
14	Praça da Bandeira	ND
15	Praça da Bandeira	ND
16	Tijuca	ND
17	Vila Isabel	ND
18	Vila Isabel	ND
19	Centro	ND
20	Centro	ND
21	Tijuca	ND
22	Triagem	ND
23	Maracanã	ND
24	Tijuca	$2,0 \times 10^4$
25	Tijuca	$1,5 \times 10^3$
26	Tijuca	ND
27	Centro	$1,1 \times 10^4$
28	Centro	$>2,4 \times 10^4$
29	Centro	$1,1 \times 10^4$
30	Centro	$1,1 \times 10^4$
31	Centro	$>2,4 \times 10^4$

* Os valores apresentados em negrito indicam contagens de *S. coagulase* positiva acima dos limites permitidos pela legislação vigente no País para saladas; ufc/g, unidades formadoras de

colônias por grama. A sigla ND indica que não foram detectados *S. coagulase positiva* nas amostras analisadas, entretanto, não é possível afirmar sua ausência, uma vez que a técnica utilizada detecta um mínimo de 100 ufc/g.

Em um dos raros trabalhos relatando a presença de *Staphylococcus* em saladas, Furlanetto, Lacerda & Cerqueira-Campos (1982) verificaram que, das 20 amostras coletadas na cidade de São Paulo, uma delas apresentava contagem de *S. aureus* acima de 10^5 ufc/g.

Neste trabalho, nosso grupo também constatou que, em algumas amostras, a contagem de *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) variou entre 10^5 e $3,0 \times 10^6$ ufc/g (dados não mostrados). Embora na legislação vigente no país não haja limites estabelecidos para contagem de SCN em saladas ou em outros alimentos, vários trabalhos já descritos identificam algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativos como sendo enterotoxigênicas. Em geral, a contagem de células requeridas para produção de enterotoxinas por essas estirpes varia entre 10^5 a 10^9 ufc/g, e é suficiente para a ocorrência de intoxicação alimentar estafilocócica (BECKER *et al.*, 2001; CUNHA *et al.*, 2006; PICOLI *et al.*, 2006; STAMFORD *et al.*, 2006).

Acredita-se que as diferentes contagens observadas neste trabalho sejam atribuídas a deficiências no preparo, e também ao tempo e à temperatura de conservação dos produtos durante sua comercialização. Alguns autores, no entanto, relatam que *S. aureus* podem ser introduzidos em um determinado alimento sob várias formas, dentre as quais podemos destacar a contaminação através do manipulador, que, por ventura, pode levar a mão à boca ou ao nariz e, também, por meio de lesões infectadas presentes na pele (GONÇALO, 1998; PICOLI *et al.*, 2006).

Três estirpes de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas de diferentes amostras e identificadas como *S. aureus* foram analisadas quanto ao perfil de resistência a antibióticos (**Tabela 2**). As três estirpes apresentaram perfil de multirresistência sendo resistentes a pelo menos dois antibióticos do grupo das penicilinas (penicilina e ampicilina) e um do grupo dos aminoglicosídeos (canamicina). A estirpe ST9 apresentou ainda resistência à vancomicina. Essa estirpe será estudada posteriormente, testando-se a concentração mínima inibitória, como estabelecido pelo NCCLS para amostras resistentes à vancomicina detectadas nos testes de difusão de disco.

Esses perfis apresentados pelas estirpes isoladas de saladas não eram esperados, sendo mais característicos de amostras clínicas. Segundo dados da *Food and Drug Association*, aproximadamente 70% das bactérias que causam infecção hospitalar são resistentes a pelo menos uma das drogas comumente utilizadas para o tratamento das infecções (BREN, 2003; WOLFSON, 2006; DONNIO *et al.*, 2007).

A alta incidência de doenças transmitidas por alimentos está geralmente associada aos procedimentos incorretos, relacionados aos hábitos de funcionários e à utilização de matérias-primas de má qualidade. Muitos casos, no entanto, estão relacionados à falta de um controle mais efetivo da temperatura de conservação dos alimentos (GERMANO & GERMANO, 2001). Isso corre principalmente naqueles estabelecimentos que fornecem aos seus

clientes produtos em balcões, através do sistema "self-service", sem observância às temperaturas de conservação.

Tabela 2: Perfil de resistência a antibióticos apresentado por estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de saladas

	ST7	ST8	ST9
Ampicilina	R	R	R
Canamicina	R	R	R
Cefalotina	S	S	S
Cefotaxima	S	S	S
Ciprofloxacina	S	S	S
Clindamicina	S	S	S
Cloranfenicol	S	S	S
Eritromicina	S	S	S
Gentamicina	S	S	S
Imipenem	S	S	S
Penicilina	R	R	R
Oxacilina	S	S	S
Tetraciclina	S	S	S
Vancomicina	S	S	R

R - resistente; S - sensível.

A exposição dos alimentos a um grande número de pessoas também propicia a ocorrência de contaminação provocada pelos próprios consumidores, uma vez que nesses ambientes não há condições para o procedimento adequado de higiene pessoal, incluindo lavatórios que muitas vezes, quando existem, não são devidamente utilizados (SILVA JUNIOR, 2002; ZANDONADI *et al.*, 2007).

Nossos resultados podem contribuir para alertar às pessoas que saladas comercializadas em restaurantes "self-service" não são alimentos inócuos, uma vez que podem representar risco para a saúde dos consumidores ao veicularem patógenos como *S. aureus*, em especial, estirpes resistentes a antibióticos, mostrando assim a necessidade da adoção de medidas mais incisivas que permitam a melhor inspeção ou fiscalização desses produtos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Control of Communicable Diseases Manual*, Abram S. Benenson, Ed., Washington DC, 16th Edition; p. 184-187. 1985.

BECKER, K.; KELLER, B; VON EIFF, C.; BRÜCK, M.; LUBRITZ, G.; ETIENNE, J.; PETERS G. Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus intermedius*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, p. 5551-5557, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução RDC nº 12*: Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. *Instrução normativa nº 62*: Oficializar os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água, Brasília, 26 de Agosto de 2003.

BREN L. Battle of the bugs: fighting antibiotic resistance. Disponível em: <http://www.fda.gov/fdac/features/2002/402_bugshtml> Acesso em: 12 jun. 2008.

CREMONESI, P.; PEREZ, G.; PISONI, G.; MORONI, P.; MORANDI, S.; LUZZANA, M.; BRASCA, M.; CASTIGLIONI, B. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese. *Letters in Applied Microbiology*, v. 45, p. 586-591, 2007.

CUNHA, M. L. R. S.; PERESI, E.; CALSOLARI, R. A. O.; ARAÚJO JUNIOR, J. P. Detection of enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from foods. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 70-74. 2006.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. Enterotoxigenic *Staphylococcus* in nature and processed foods in state of Pernambuco, Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 22, p. 263-271. 2002.

DONNIO, P.Y.; FÉVRIER, F.; BIFANI, P.; DEHEM, M.; KERVÉGANT, C.; WILHELM, N.; GAUTIER-LERESTIF, A. L.; LAFFORGUE, N.; CORMIER, M. Molecular and epidemiological evidence for spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 51, p. 4342-4350, 2007.

FDA/CFSAN. Bad Bug Book *Staphylococcus aureus*. 2008. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap3html>> Acesso em 22 mai 2008.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; AZEVEDO, E. H. F.; MUNIZ, C. R. Pesquisa de *Salmonella* sp, *Listeria* sp e microrganismos indicadores higiênico-

sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, p. 162-165. 2003.

FURLANETTO, S. M. P.; LACERDA, A. A.; CERQUEIRA-CAMPOS, M. L. Pesquisa de alguns microrganismos em saladas com maionese adquiridas em restaurantes, lanchonetes e "rotisseries". *Revista de Saúde Pública*, v. 16, p. 307-316, 1982.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

GONÇALVES, P. M. R. Toxinfecções alimentares: uma revisão. *Higiene Alimentar*, v. 12, p. 38-43, 1998.

LÓPEZ-PEDEMONTE, T.; BRINEZ, W. J.; ROIG-SAGUÉS, A. X.; GUAMIS, B. Fate of *Staphylococcus aureus* in cheese treated by ultrahigh pressure homogenization and high hydrostatic pressure. *Journal of Dairy Sciences*, v. 89, p. 4536-4544, 2006.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Brock: *Biology of Microorganisms*, 10th ed. Prentice-Hall, New Jersey, 608 p. 2004.

NCCLS - National Committee For Clinical Laboratory Standards. *Approved Standard M2-A8 Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 31p. 2003.

PICOLI, S. U.; BESSA, M. C.; CASTAGNA, S. M. F.; GOTTARDI, C. P. T.; SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo fresco de leite de cabra em laticínios. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, p. 64-69, 2006.

SCHLIEVERT, P. M.; JABLONSKI, L. M.; ROGGIANI, M.; SADLER, I.; CALLANTINE, S.; MITCHELL, D. T.; OHLENDORF, D. H; BOHACH, G. H. Pyrogenic toxin superantigen site specificity in toxic shock syndrome and food poisoning in animals. *Infection and Immunity*, v. 68, p. 3630-3634. 2000.

SILVA JUNIOR, E. A. *Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos*. 5 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002.

STAMFORD, T. L. M.; SILVA, C. G. M.; MOTA, R. A.; CUNHA-NETO, A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus* spp isolated of milk in natura. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, p.41-45, 2006.

VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C F.; BRANQUINHA, M. *Bacteriologia Geral*. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 582 p. 2008.

Estafilococos coagulase positiva em saladas....

WARMINSKA-RADYK, I.; ŁANIEWSKA-TROKENHEIM, L. MIKS, M. Microbiological contamination of vegetable salads. *Polish Journal of Natural Sciences*, v. 22, p. 733-741, 2007.

WOLFSON, W. Holding Back the Tide of Antibiotic Resistance. *Chemistry and Biology*, v. 13, p. 1-3, 2006.

YOUNIS, A.; KRIFUCKS, O.; HELLER, E. D.; SAMRA, Z.; GLICKMAN, A.; SARAN, A.; LEITNER, G. *Staphylococcus aureus* exosecretions and bovine mastitis. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 50, p. 1-7. 2003.

ZANDONADI, R. P.; BOTELHO, R. B. A.; SÁVIO, K. E. O; AKUTSU, R. C.; ARAÚJO, W. M. C. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. *Revista de Nutrição*, v. 20, p. 19-26, 2007.