

COMBINED EFFECT OF TEMPERATURE AND WATER ACTIVITY ON THE GROWTH DYNAMICS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN MODEL ENVIRONMENT

Adriana Studeničová, Alžbeta Medved'ová, Ľubomír Valík

ABSTRACT

The effect of water activity values and incubation temperature on the *Staphylococcus aureus* 2064 growth dynamic was described in model media. The values of water activity of the tested media were adjusted by sodium chloride, using values from $a_w = 1.0$ up to 0.85. Experiments were carried out at temperature 25 °C in PCA broth. Based on cultivation experiments the growth curves were obtained and related growth parameters were calculated. On their basis, by use of the mathematical equations, the effect of water activity on the growth dynamics of *S. aureus* 2064 at observed incubation temperature was described. Based on obtained results it can be concluded, that during the incubation at 25 °C the NaCl concentration up to 18.17 % was tolerated by *S. aureus* 2064 and the inhibition was observed at a_w higher than 19 % in PCA medium. The effect of water activity on the *S. aureus* 2064 lag-phase duration was described by modified model according to Davey with discrepancy 22.8 %. The growth rate was precisely described by Gibson model with validation indices of $B_f = 0.999$ and $D_f = 11.9$ %.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, temperature, water activity, predictive microbiology

ÚVOD

Staphylococcus aureus, predovšetkým jeho rast a produkcia enterotoxínov, predstavuje v potravinách, vzhľadom na podmienky vnútorného a vonkajšieho prostredia, potenciálne až reálne riziko ohrozenia verejného zdravia, ktoré spočíva vo vzniku stafylokokových enterotoxikóz. Podľa **Aspergera a Zangerla (2003)** a **Kérouantona a kol. (2007)**, je *S. aureus* po rode *Salmonella*, druhým najčastejším agens potravinových otráv vo svete. Rastie dobre v živnom médiu bez obsahu NaCl, ale jeho charakteristickým znakom, ktorý ho odlišuje od ostatných patogénnych baktérií, je jeho vysoká tolerancia voči nízkym hodnotám aktivity vody a koncentráciám chloridu sodného až do 20 % (**Sutherland a kol., 1994; Jay, 2000**). V potravinách so zníženou hodnotou aktivity vody a za aeróbnych podmienok sa pozoruje produkcia termostabilných enterotoxínov v rozsahu hodnôt 0,89 až 0,86 a_w (**Ewald a Notermans, 1998**).

S. aureus patrí do skupiny mezofilných baktérií. **Bremer (2004), Asperger a Zangerl (2003) a Jay (2000)** uvádzajú ako minimálnu teplotu pre rast *S. aureus* $T_{min} = 6,5$ až 7 °C. Minimálna teplota 7 °C bola potvrdená aj v prácach **Medved'ovej (2009), Burdovej a Laukovej (2001) a Tatini (1973)**. Na druhej strane, ako uvádza **Dengremont a Membré (1995)** a **Notermans a Heuvelman (1983)**, *S. aureus* nebol schopný množenia ani po mesačnej inkubácii pri teplote 8 °C. Optimálna teplota pre rast *S. aureus* je v rozmedzí teplôt 35 až 40 °C (**Görner a Valík, 2004**). A nakoniec, **Asperger a Zangerl (2003), Jay (2000) a Baird-Parker (2000)** uvádzajú ako rastové maximum teplotu 48 °C, **Halpin-Dohnalek a Marth (1989)** dokonca uvádza ako maximálnu teplotu pre rast *S. aureus* až teplotu 50 °C.

Vyššia koncentrácia stafylokokov sa môže objaviť v mlieku pri stafylokokových mastitídach kráv, a preto sú dojnice pravdepodobne hlavným zdrojom

kontaminácie surového mlieka (**Bergdoll, 1990**), obzvlášť tie so subklinickou mastitídou. Ak je kontaminované vemenom zvierat'a, *S. aureus* sa dojením dostáva do mlieka a jeho počty v ňom sa môžu pohybovať od $10^1 - 10^8$ KTJ.ml⁻¹, zvyčajne však okolo 10^4 KTJ.ml⁻¹ (**Asperger a Zangerl, 2003**). Počas výroby je možná kontaminácia surového mlieka a surových mliečnych produktov z ľudskej manipulácie alebo z prostredia. Často sa bunky do potravín dostávajú prostredníctvom rúk (infikované rany, kožné poranenia) alebo kašľaním a kýchaním (**Boynukara a kol., 2008**).

Neexistuje snáď úspešnejší ľudský patogén než *S. aureus*. Približne u tretiny ľudí žije vo vzťahu blízkom komensalizmu na koži alebo na slizniciach a nevyvoláva žiadne ťažkosti. Stačí však sebe menšia porucha prirodzenej odolnosti, aby o sebe dal vedieť tým, že sa prejaví ako patogén a spôsobí tak buď alimentárne infekcie, kožné ochorenia a mnoho ďalších (**Votava a kol., 2003**).

Cieľom tejto práce bolo experimentálne popísať vplyv aktivity vody v intervale a_w 1 až 0,86, nastavenej prídavkami NaCl pre rast izolátu *S. aureus* 2064 počas inkubácie v GTK bujóne pri inkubačnej teplote 25 °C a následne pomocou princípov prediktívnej mikrobiológie podrobiť výsledky sekundárneho modelovania matematickej validácii.

MATERIÁL A METÓDY

Mikroorganizmus. Izolát *S. aureus* 2064 pochádza z ovčieho hrudkového syra a bol izolovaný na Štátnom veterinárnom a potravinovom ústave v Prešove MVDr. A. Hanzélyovou. Jeho totožnosť bola potvrdená pomocou Gramovho farbenia, katalázového testu, API systému (BioMérieux, Marcy l'Étoile, Francúzsko), fluorescenčného farbenia VIT-Staphylococcus (Vermicon, Mnichov, Nemecko) a PCR analýzy v súlade s prácami **Akinedena a kol. (2007), Boynukara a kol. (2008) a Pereiru a kol. (2009)**.

Inokulácia a inkubácia. Do predtemperovaného GTK bujónu (IMUNA, Šarišské Michaľany, Slovensko) s nastavenou hodnotou aktivity vody sme inokulovali čistú 18 h kultúru *S. aureus* 2064 vyrastenú na GTK agare (IMUNA, Šarišské Michaľany, Slovensko) pri 37 °C, tak aby sme v každej paralelke dosiahli počiatočnú denzitu mikroorganizmu približne 10^3 KTJ.ml⁻¹. Paralelne inokulované vzorky živných médií boli staticky aeróbne kultivované pri teplote 25 °C ± 1 °C, za účelom popísania dynamiky rastu *S. aureus* 2064 v závislosti od meniacej sa hodnoty aktivity vody. Hodnota aktivity vody bola nastavená prídavkom NaCl (Sigma-Aldrich, Buchs, Švajčiarsko) podľa **Rödela a kol. (1979)** a kontrolovaná použitím a_v-metra (Nowasina, Lachen, Švajčiarsko).

Stanovenie počtu *S. aureus* 2064 v GTK bujóne. V príslušne stanovených časových intervaloch sme odoberali príslušné množstvá na stanovenie denzity *S. aureus* 2064 na GTK agare podľa STN ISO 4833, pričom sme pri každom vyhodnocovaní sledovali charakteristické kolónie, ktorých morfológia bola overená aj mikroskopicky. Zo zistených počtov mikroorganizmov sme zostrojili rastové čiary v závislosti od času a teploty inkubácie podľa Baranyiho D-modelu (**Baranyi a kol., 1993**).

Sekundárne modelovanie. Sekundárne modely sú konštruované tak, aby popísali závislosť faktorov a podmienok životného prostredia na parameter rastu. Maximálna rastová rýchlosť a lag-fáza, ktoré odhadujú výšku krivky boli modelované ako funkcia hodnoty aktivity vody. Na tento typ modelovania bola použitá užitočná transformácia aktivity vody $b_v = \sqrt{1 - a_v}$,

zavedená **Gibsonovou a kol. (1994)**, ktorá predpokladá, že optimálna hodnota aktivity vody je menšia ako $a_v = 1$ (**Valík a Piecková, 2001**). Následne je prirodzený logaritmus špecifickej rastovej rýchlosti modelovaný podľa nasledovnej kvadratickej funkcie:

$$\ln \mu = C_0 + C_1 b_v + C_2 b_v^2 \quad (1)$$

Na popísanie závislosti lag-fázy od inkubačnej teploty a aktivity vody bol použitý Davey-ov model, ktorý rozšíril Arrheniov typ modelu o vplyv teploty a vodnej aktivity. Tento model má nasledovnú formu:

$$\ln k = C_0 + \frac{C_1}{T} + \frac{C_2}{T^2} + C_3 a_v + C_4 a_v^2 \quad (2)$$

kde k je rastová rýchlosť, a_v je hodnota aktivity vody, T je teplota a C_0, \dots, C_4 sú neznáme koeficienty (**Ross a McMeekin, 1994; Daughtry a kol., 1997**).

Validácia rastových parametrov. Na validáciu matematických modelov popisujúcich ich presnosť a správnosť v porovnaní s experimentálnymi výsledkami boli využité dva indexy a to index presnosti A_f a index spoľahlivosti B_f , na základe ktorých môžeme jednotlivé modely medzi sebou porovnávať (**Baranyi a kol., 1999**). Taktiež sa využíva index percenta diskrepancie označovaný ako D_f .

$$A_f = \exp \left(\sqrt{\frac{\sum_{k=1}^m [\ln f(x^k) - \ln(\mu^k)]^2}{m}} \right) \quad (3)$$

$$B_f = \exp \left(\sqrt{\frac{\sum_{k=1}^m [\ln f(x^k) - \ln(\mu^k)]}{m}} \right) \quad (4)$$

$$D_f = (A_f - 1) \times 100 \quad (5)$$

kde μ je maximálna špecifická rýchlosť ako funkcia faktorov prostredia, $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)$ je vektor faktorov prostredia a m je počet meraní.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dynamika rastu *Staphylococcus aureus* 2064 v závislosti od aktivity vody pri 25 °C

Vzhľadom na častý výskyt *S. aureus* u ľudí a v potravinách, dobrý rast v potravinových matriciach a následnej možnej produkcii termostabilných enterotoxínov je dôležité poznať a definovať podmienky, ktoré vedú k jeho inhibícii. Nakoľko je soľ bežne používané aditívum pri výrobe potravín a v nadväznosti na prácu **Medved'ovej (2009)**, v ktorej bol popísaný vplyv teploty na sledovaný izolát, sme sa v našej práci zamerali na vplyv prídavku NaCl do živného média na dynamiku rastu *S. aureus* 2064 v modelovom prostredí GTK bujónu pri teplote 25 °C.

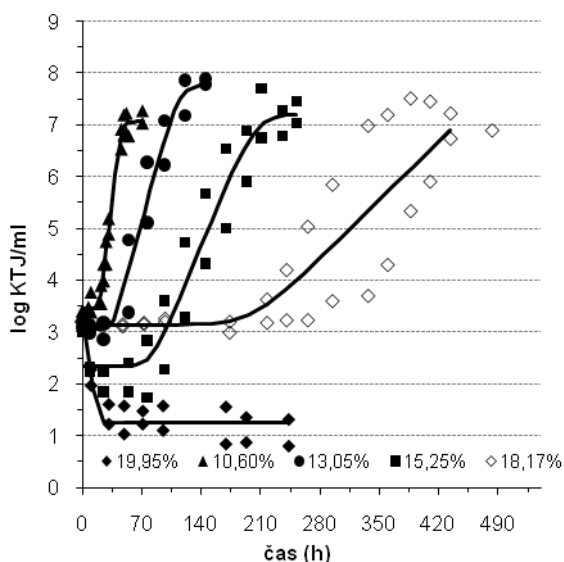
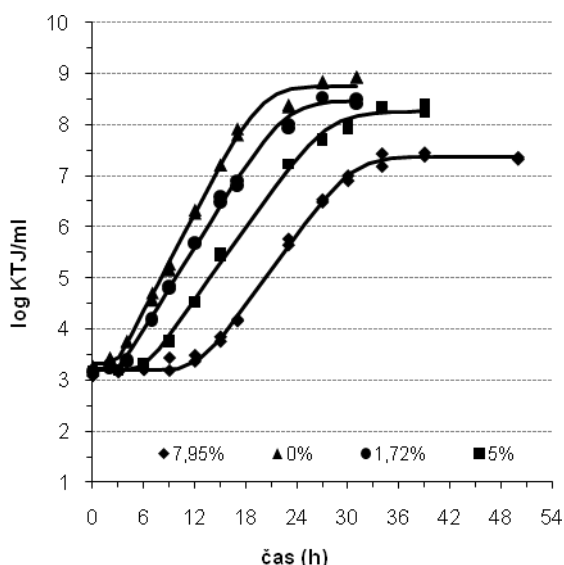
Pri pohľade na rastové čiary pri 25 °C v GTK bujóne zobrazené na obr. 1 je zrejme, že zvyšujúca sa koncentrácia inhibičnej pôsobiackej látky (NaCl) mala negatívny dopad na nárast sledovaného mikroorganizmu *S. aureus* 2064. Po 3 h lag-fáze, pri hodnote aktivity vody $a_v = 0,988$ znásoboval svoje počty po 56 minútach ($G_{R,0} = 0,320 \log$ KTJ.ml⁻¹.h⁻¹). Na proti tomu, **Charlier a kol. (2008)** uvádzajú pri teplote 27 °C 3 hodinovú lag-fázu. **Dengremont a Membré (1995)** uvádzajú, že *S. aureus* sa pri 25 °C, pH 7,6 a nulovom prídavku soli rozmnožoval rastovou rýchlosťou $G_R = 0,456 \log$ KTJ.ml⁻¹.h⁻¹, čo je približne 1,5-násobne vyššia hodnota rastovej rýchlosti ako pri 25 °C. V našom prípade, pri takto vysokej hodnote a_v bol počet buniek na začiatku pokusu $1,8 \cdot 10^3$ KTJ.ml⁻¹ a po približne 31 h inkubácie vzrástol ich počet o 5 logaritmickej poriadkov, na hodnotu $8,4 \cdot 10^8$ KTJ.ml⁻¹.

Ak sa koncentrácia NaCl zvýšila na 5,0 % ($a_v = 0,995$), prišlo k prirodzenému predĺženiu lag-fázy na 6 hodín a k 1,4-násobnému poklesu rastovej rýchlosti na $G_{R,5,0} = 0,237 \log$ KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ oproti rastovej rýchlosti pri nulovom prídavku soli, pričom **Sutherland a kol. (1994)** uvádzajú pri 25 °C, pH = 5,9 a 6,5 % prídavku NaCl podobnú hodnotu rastovej rýchlosti $G_R = 0,320 \log$ KTJ.ml⁻¹.h⁻¹.

Pri poklese hodnoty aktivity vody na $a_v = 0,894$ (13,05 % NaCl) sa bunky stafylokoka množili z počiatočnej denzity $N_0 = 1,3 \cdot 10^3$ KTJ.ml⁻¹ po 35 h lag-fáze 6-násobne pomalšou rastovou rýchlosťou, v porovnaní s pokusom bez navýšenia koncentrácie soli. Počas tohto 6 dní trvajúceho

experimentu, dosiahli svoje maximálne počty na úrovni 7 log poriadkov.

Priblížením sa k minimálnej hodnote aktivity vody (18,17 %, $a_w = 0,865$) sme napriek očakávaniám stále pozorovali rast izolátu *S. aureus* 2064. Z počiatočnej denzity $N_0 = 1,6 \cdot 10^3$ KTJ.ml⁻¹ sa dokázal pomnožiť dokonca až o 4 logaritmicke poriadky na $N_{max} = 1,9 \cdot 10^7$ KTJ.ml⁻¹. V tomto prípade bola lag-fáza prirodzene najdlhšia a dosiahla hodnotu $\lambda_{18,17} = 200$ hodín (8 dní). Rastová rýchlosť poklesla na $G_R 18,17 = 0,0016$ log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ ($t_d = 188$ h).



Obr. 1: Dynamika rastu *S. aureus* 2064 v GTK bujónne pri teplote 25 °C v závislosti od hodnoty aktivity vody

Za účelom definovania hraničnej koncentrácie NaCl v prostredí sme do bujónu pridali 19,95 % NaCl ($a_w = 0,859$). Za takýchto nepriaznivých podmienok daný organizmus už nebol schopný prispôsobiť sa a dochádzalo k úbytku buniek stafylokoka, čo sa prejavilo aj na jeho zápornej rastovej rýchlosti. Tieto údaje tiež potvrdili skutočnosť, že minimálnou hodnotou pre rast *S. aureus* je hodnota aktivity vody $a_w = 0,860$, aj keď táto hodnota je do značnej miery determinovaná

održaním ostatných faktorov prostrediam, okrem iného aj inkubačnej teploty.

Schopnosť baktérií rásť pri vysokých koncentráciách soli súvisí s ich schopnosťou prispôsobiť sa osmotickému stresu intracelulárnou akumuláciou kompatibilných rozpustných látok vrátane K⁺, glutamátu, betaínu, trehalózy, prolinu, karnitínu atď., ktoré sa môžu vyskytovať prostredníctvom *de novo* syntézy alebo prostredníctvom transportu z rastového média (Wood et al., 2001). Tieto zlúčeniny pôsobia ako osmolyty, ktoré znižujú straty intracelulárnej vody osmózou a ich koncentrácia v bunke je jedným z hlavných faktorov určujúcich začatie rastu v prostredí s vysokým obsahom soli (Koutsoumanis, 2008).

Tab. 1: Rastové parametre *S. aureus* 2064 v GTK bujónne pri teplote 25 °C

% NaCl	a_w	lag [h]	G_r [log KTJ.ml ⁻¹ .h ⁻¹]
0	0,988	3	0,320
1,72	0,977	3	0,270
5,0	0,955	6	0,237
7,95	0,941	13	0,232
10,6	0,917	20	0,138
13,05	0,894	35	0,060
15,25	0,879	81	0,040
18,17	0,865	200	0,0016
19,0	0,859	-	-0,113

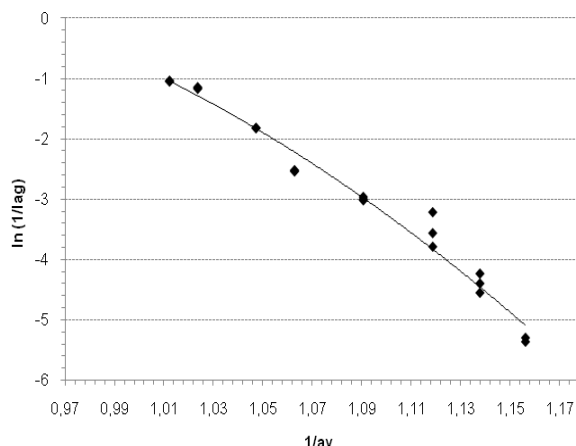
Vplyv aktivity vody a inkubačnej teploty na lag-fázu *Staphylococcus aureus* 2064

Vplyv vonkajších faktorov prostredia na dĺžku trvania lag-fázy bol predmetom sekundárneho modelovania. Daughtry a kol. (1997) prispôsobili Davey-ov model na popisovanie vplyvu inkubačnej teploty na trvanie lag-fázy. V tomto modeli sme nahradili parameter teploty aktivitou vody a následne aplikovali na získané výsledky.

Vyššie popísané rastové čiary a grafické znázornenie na obr. 2 potvrdili, že so zvyšujúcou sa hodnotou aktivity vody sa postupne skracovala dĺžka trvania lag-fázy izolátu *S. aureus* 2064 v GTK bujónne. Z obr. 2 vyplýva, že čím bola hodnota aktivity vody vyššia, tým sa dĺžka lag-fázy postupne skracovala. Najkratšia lag-fáza, $\lambda_0 = 3$ hodiny, bola zaznamenaná pri nulovom prídavku soli. Medved'ová a kol. (2009) uvádzajú hodnotu trvania lag-fázy pre izolát 2064 v mlieku pri 25 °C $\lambda_{25} = 3,4$ h, čo je porovnateľná hodnota s dĺžkou trvania lag-fázy pri nulovom prídavku soli. Táto doba sa zdvojnásobila pri 5 %-nom prídavku chloridu sodného a svoj 6-násobok dosiahla, ak koncentrácia NaCl v prostredí bola 10,6 %. Fáza prispôbovania sa dokonca predĺžila až na 3 (81 h) resp. 8 dní (200 h), ak koncentrácia soli v rastovom médiu bola vyššia ako 15 % a 18 %, v poradí.

Trvanie lag-fázy *S. aureus* 2064 v GTK bujónne pri inkubačnej teplote 25 °C je popísané kvadratickou rovnicou 6 a mieru nepresnosti daného modelu sme vyjadrili definovaním príslušných validačných koeficientov, $A_f = 1,228$, B_f % = 0,993, $D_f = 22,8$ % a aj pomocou korelačného koeficienta $R^2 = 0,977$.

$$\ln\left(\frac{1}{lag}\right)_{25} = -51,973a_v^2 + 84,570a_v - 33,394 \quad (6)$$

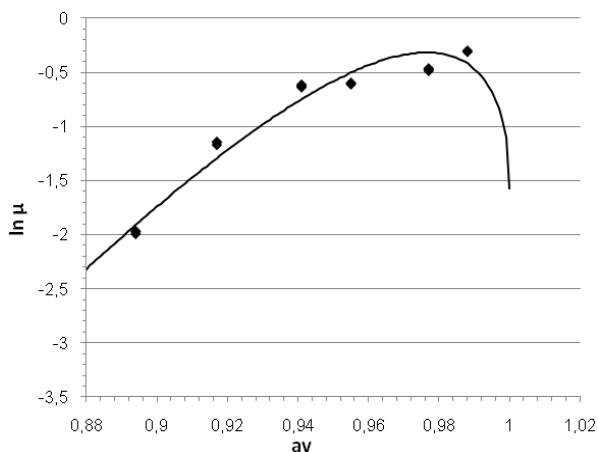


Obr. 2: Grafické znázornenie závislosti trvania lag-fázy *S. aureus* v GTK bujóně od hodnoty vodnej aktivity pri 25 °C

Vplyv aktivity vody a inkubačnej teploty na rastovú rýchlosť *S. aureus* 2064

Na popisanie vplyvu aktivity vody na rastovú rýchlosť *S. aureus* 2064 pri inkubačnej teplote 25 °C bol použitý Gibsonovej transformovaný model (Gibson a kol., 1994), pričom pre GTK bujón je grafické znázornenie závislosti vplyvu aktivity vody pri danej inkubačnej teplote na špecifickú rýchlosť zobrazené na obr. 3. Body na grafe predstavujú pozorované hodnoty rastovej rýchlosti *S. aureus* 2064 pri teplote 25 °C a čiara predstavuje modelový priebeh závislosti vplyvu aktivity vody na rastovú rýchlosť, popísaný rovnicou 7, s príslušnými validačnými koeficientami, $A_f = 1,119$, $B_f \% = 0,999$, $D_f = 11,9 \%$ a $R^2 = 0,977$. Z uvedeného obr. 3 vyplýva, že so zvyšujúcou sa hodnotou aktivity vody bude rastová rýchlosť vyššia, pričom svoje maximum dosiahne v rozmedzí hodnôt $a_v = 0,98$ až $0,99$.

$$\ln \mu_{25} = -53,522a_v^2 + 16,387a_v - 1,5691 \quad (7)$$



Obr. 3: Závislosť vplyvu aktivity vody na rastovú rýchlosť *S. aureus* 2064 v GTK bujóně podľa Gibsonovej modelu pri 25 °C

ZÁVER

Výsledky inkubačných pokusov potvrdili, že rast študovaného izolátu pri teplote 25 °C bol pozitívne determinovaný klesajúcou koncentráciou chloridu sodného v GTK bujóně, čo sa odzrkadlilo na skracovaní trvania lag-fázy a intenzívnejšom raste v exponenciálnej fáze. Po dosiahnutí maximálnej prípustnej koncentrácie chloridu sodného v rastovom médiu sme pozorovali zastavenie rastu mikroorganizmu a v ďalšej fáze dochádzalo dokonca k úbytkom buniek. Na základe kultivačných pokusov možno konštatovať, že kompletná redukcia počtov *S. aureus* 2064 pri 25 °C bola pozorovaná v GTK bujóně pri 19,0 %-nom prídavku NaCl. V ďalšej časti boli experimentálne získané údaje vyhodnocované pomocou primárneho Baranyiho D-modelu (Baranyi a kol., 1993). Rastové parametre boli v sekundárnej fáze matematického modelovania popísané vhodnými modelmi. Jednotlivé závislosti boli podrobené vnútornej validácii za účelom zistenia vhodnosti použitých modelov na predpovedanie rastu *S. aureus*. Na základe vysokých korelačných koeficientov a pomerne nízkych indexov diskrepancie sú na popisanie vplyvu aktivity vody na dynamiku rastu nežiaduceho mikroorganizmu vhodné modely prezentované v tejto práci.

LITERATÚRA

- AKINEDEN, Ö., HASSAN, A.A., SCHNEIDER, E., USLEBER, E. 2007. Enterotoxinogenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats' milk cheese. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 124, 2007, p. 211-216.
- ASPERGER, H., ZANGERL, P. 2003. *Staphylococcus aureus*. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press, 2003, p. 2563-2569.
- BAIRD-PARKER, T. C. 2000. *Staphylococcus aureus*. LUND, B. M., BAIRD-PARKER, T. C., GOULD, G. W. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., vol. 1, 2000, ISBN 0-8342-1323-0. p. 1317-1330.
- BARANYI, J., PIN, C., ROSS, T. 1999. Validating and comparing predictive models. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 48, 1999, p. 159-166.
- BARANYI, J., ROBERTS, T.A., McCLURE, P. 1993. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. In *Food Microbiology*, vol. 10, 1993, p. 43-59.
- BERGDOLL, M. 1990. Analytical methods for *Staphylococcus aureus*. In *Journal of Food Microbiology*, vol. 10, 1990, p. 91-100.
- BOYNUKARA, B., GULHAN, T., ALISARLI, M. et al. 2008. Classical enterotoxinogenic characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine subclinical mastitis in Van, Turkey. In *International Journal of Food Microbiology*, vol 125, 2008, p. 209-211.
- BREMER, P.J., FLETCHER, G.C., OSBORNE, C. 2004. *Staphylococcus aureus*. Christchurch: New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited, 2004, 6p.
- BURDOVÁ, O., LAUKOVÁ, A. 2001. Zdravotná neškodnosť mlieka a mliečnych výrobkov. In *Mliekarstvo*, roč. 32, 2001, č. 1, p. 22-24.
- CHARLIER, C., CRETENET, M., EVEN, S., Le LOIR Y. 2008. Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 18, 2008, p. 197-203.
- DAUGHTRY, B.J., DAVEY, K.R., KING, K.D. 1997.

Temperature dependence of growth kinetics of food bacteria. In *Food Microbiology*. ISSN 0740-0020, vol. 14, 1997, p. 21-30.

DENGREMONTE, E., MEMBRÉ, J.M. 1995. Statistical approach for comparison of the growth rates of five strains of *Staphylococcus aureus*. In *Applied and Environmental Microbiology*. ISSN 0099-2240, vol. 61, 1995, no. 12, p. 4839-4395.

EWALD, S., NOTERMANS, S. 1998. Effects of water activity on growth and enterotoxin D production of *Staphylococcus aureus*. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 6, 1998, p. 25-30.

GIBSON, A., BARANYI, J., PITT, J.I. et al. 1994. Predicting fungal growth: the effect of water activity on *Aspergillus flavus* and related species. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 23, 1994, p. 419-431.

GÖRNER, F., VALÍK, E. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívateľin. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528s. ISBN 80-967064-9-7.

HALPIN-DOHNALEK, M.J., MARTH, E.H. 1989. *Staphylococcus aureus*: Production of extracellular compounds and behaviour in foods - a review. In *Journal of Food Protection*. ISSN 0362-028X, vol. 52, 1989, no. 4, p. 267-282.

JAY, J.M. 2000. Staphylococcal Gastroenteritis. In JAY, J.M. *Modern Food Microbiology*. 6th ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., vol. 23. 2000. ISBN 0-8342-1671-X, p. 441-459.

KÉROUANTON, A., HENNEKINNE, J.A., LETERTRE, C. et al. 2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 115, 2007, p. 369-375.

KOUTSOUMANIS, K. 2008. A study of the variability in the growth limits of individual cells and its effect on the behavior of microbial populations. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 128, 2008, p. 116-121.

MEDVEĎOVÁ, A. 2009. Aplikácia kvantitatívnej a prediktívnej mikrobiológie pri zvyšovaní hygienickej bezchybnosti potravín. Dizertačná práca. Bratislava, 2009, 179 p.

MEDVEĎOVÁ, A., VALÍK, E., SIROTNÁ Z., LIPTÁKOVÁ, D. 2009. Growth Characterisation of *Staphylococcus aureus* in Milk: a Quantitative Approach. In *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 27, 2009, p. 443-453.

MEDVEĎOVÁ, A., VALÍK, E., STUDENIČOVÁ, A. 2009. The effect of temperature and water activity on the growth of *Staphylococcus aureus*. In *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 27, 2009, p. 28-35.

NOTERMANS, S., HEUVELMAN, C.J. 1983. Combined effect of water activity, pH and sub-optimal temperature on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. In *Journal of Food Science*. vol. 48, 1983, p. 1832-1840.

PEREIRA, V., LOPES, C., CASTRO, A. et al. 2009. Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from foods in Portugal. In *Food Microbiology*, vol. 26, 2009, p. 278-282.

RÖDEL, W., KRISPEN, K., LEISTNER, L. 1979. Measuring the water activity (aw-value) of meat and meat products. In *Fleischwirtschcaft*. vol. 59, 1979, p. 849-851.

ROSS, T., McMEEKIN, T.A. 1994. Predictive

microbiology, review paper. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 23, 1994, p. 241-264.

STN ISO 4833. Mikrobiológia: Všeobecné pokyny na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 1997, 9 s.

SUTHERLAND, J.P., BAYLISS, A.J., ROBERTS, T.A. 1994. Predictive modelling of growth of *Staphylococcus aureus*: the effects of temperature, pH and sodium chloride. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 21, 1994, p. 217-236.

TATINI, S.R. 1973. Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. In *Journal of Milk and Food Technology*. ISSN 0095-9766, vol. 36, 1973, p. 559-563.

VALÍK, E., PIECKOVÁ, E. 2001. Growth modelling of heat-resistant fungi: the effect of water activity. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, vol. 63, 2001, p. 11-17.

VOTAVA, M. 2003. Stafylokoky koagulasopozitívni. In VOTAVA, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902898-6-5, p. 100-106.

WOOD, J.M., BREMER, E., CSONKA, L.N. et al. 2001. Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation by bacteria. In *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology*. vol. 130, 2001, p. 437-460.

PodĎakovanie:

Táto práca bola podporená z grantu MŠ SR VEGA č. 1/0094/10 a z grantu STU č. 6409/PM.

Contact:

Adriana Studeničová, Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava Slovakia, Email: adriana.studenicova@stuba.sk.

Alžbeta Medveďová, Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava Slovakia, Email: alzbeta.medvedova@stuba.sk.

Lubomír Valík, Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava Slovakia, Email: lubomir.valik@stuba.sk.