

EFFECT OF DIFFERENT ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE GROWTH DYNAMICS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN MODEL MEDIUM

Adriana Studeničová, Alžbeta Medved'ová, Lubomír Valík

ABSTRACT

As the strains of *S. aureus* growing during fermentation of raw milk cheeses are exposed to the competitive growth of lactic acid bacteria and their metabolites, in this work, we characterized the growth of the strain *S. aureus* 2064 isolated from such environment against of water activity values and incubation temperature. Water activity of the tested media was adjusted by NaCl in the range from 0 % to 20.72 % and the experiments were carried out at 37 °C. It was found that the strain under study showed growth until NaCl concentration of 19.95 % in PCA broth. The complete growth cessation of *S. aureus* 2064 was observed at NaCl concentration higher than 20.72 %. The effect of water activity on the *S. aureus* 2064 lag-phase duration was described by the modified Davey model with discrepancy of 24.6 %. The growth rate dependence on water activity was described more precisely and reliably by Gibson model that provided the following validation indices: bias factor 0.999 and discrepancy factor 9.6 %. Based on the results we can conclude that secondary models used in this work were suitable to predict growth of *S. aureus* 2064, originally the ewes' cheese isolate.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, temperature, water activity

ÚVOD

Hygienická bezchybnosť surovín a následne aj potravín je jedným zo základných ukazovateľov kvality potravín a významne určuje zdravotnú neškodnosť finálnych potravinárskych výrobkov. Na aktuálnosť tejto problematiky poukazuje aj skutočnosť, že napriek všeobecne klesajúcej tendencii alimentárnych ochorení, spoločnosť ešte stále zaskakujú hromadné ochorenia, s ktorými sa nedokáže k vlastnej spokojnosti vysporiadať. V ostatnom období sa objavujú značné počty kamylobaktérioz i salmonelóz ako aj stafylokokových enterotoxikóz. Výskyt listérioz síce nie je tak častý, ale toto infekčné ochorenie sa vyznačuje vysokou závažnosťou a úmrtnosťou (Normanno et al. 2005, Valík a Prachar, 2009).

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 Kéroutona et al. (2007), je *S. aureus* po rode *Salmonella*, druhým najčastejším agens potravinových otráv vo svete. 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 et al., 1994; Jay, 2000). Z hľadiska produkcie termostabilných enterotoxínov, sa požiadavky na hodnoty aktivity vody pohybujú približne v tom istom rozpätí, ako hodnoty povolujúce rast ich producenta. V potravinách so zníženou hodnotou aktivity vody a za aeróbnych podmienok, sa produkcia enterotoxínov

pozoruje v rozsahu hodnôt 0,89 až 0,86 a_w (Ewald a Notermans, 1998).

S. aureus existuje s človekom vo vzťahu blízkom komenzálnemu, napr. na koži alebo na slizniciach nespôsobuje ťažkosti približne u tretiny ľudí. Stačí však seba menšia porucha prirodzenej odolnosti a prejaví sa ako patogén (Votava et al., 2003) spôsobujú ochorenia gastrointestinálneho, urogenitálneho alebo kardiovaskulárneho systému.

Cieľom tejto práce bolo popísať dynamiku rastu *Staphylococcus aureus* 2064, izolátu z ovčieho hrudkového syra v závislosti od koncentrácie NaCl, vyjadrenej prostredníctvom hodnoty aktivity vody ($a_w = 0,99$ až $0,83$) v GTK bujone pri optimálnej teplote 37 °C. Ďalším zámerom bolo aplikovať na získané rastové parametre vhodné sekundárne modely a matematicko-štatisticky ich validovať.

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 (BioMériux, Marcy l'Étoile, Francúzsko), fluorescenčného farbenia VIT-Staphylococcus (Vermicon, Mnichov, Nemecko) a PCR analýzy v súlade s prácami Akinedena et al. (2007), Boynukara et al. (2008) a Pereiru et al. (2009).

Inokulácia a inkubácia. Do predtemperovaného GTK bujónu (IMUNA, Šarišské Michaľany, Slovensko) s nastavenou hodnotou aktivity vody sme inokulovali čisté 18 h kultúru *S. aureus* 2064 vyrastenu 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 $25 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$, 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 et al. (1979)** a kontrolovaná použitím a_w -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 et al., 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 $b_w = \sqrt{1 - a_w}$,

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

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

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:

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

kde k je rastová rýchlosť, a_w je hodnota aktivity vody, T je teplota a C_0, \dots, C_4 sú neznáme koeficienty (**Ross a McMeekin, 1994; Daughtry et al., 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 et al., 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.

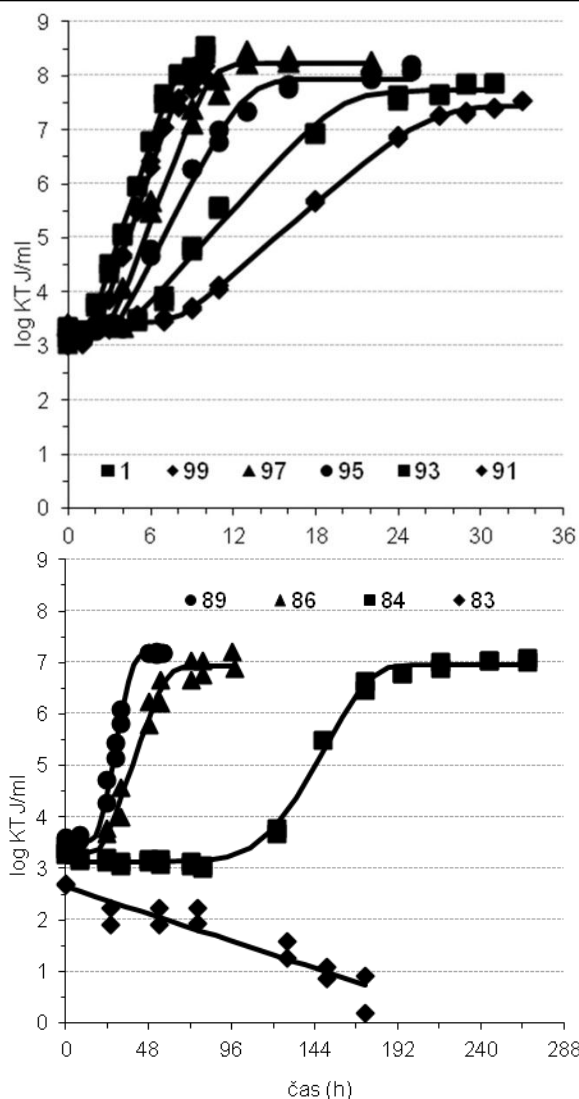
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dynamika rastu *Staphylococcus aureus* 2064 v závislosti od aktivity vody pri 37 °C

Staphylococcus aureus môže rásť v širokom rozmedzí podmienok prostredia a následne kontaminovať potraviny. Pri príprave potravín a pri manipulácii s nimi môže kontaminácia *S. aureus* pochádzať z rôznych surovín (napr. mastitídne mlieko), z prostredia spracovateľského závodu alebo z ľudskej činnosti (**Le Loir et al., 2003**). V tejto súvislosti je vhodné poznať a definovať podmienky, ktoré vedú k inhibícii *S. aureus* a teda aj prípadnej produkcii termostabilných enterotoxínov. Nakoľko soľ je pri výrobe potravín nevyhnutná a v nadväznosti na prácu **Medved'ovej (2009)**, v ktorej bol popísaný vplyv teploty na sledovaný izolát, sme sa v našej práci zamerali na sledovanie dynamiky rastu *S. aureus* 2064 v závislosti od aktivity vody v modelovom prostredí GTK bujónu pri jeho optimálnej rastovej teplote 37 °C.

Grafické znázornenie rastových čiar *S. aureus* 2064 v závislosti od meniacich sa hodnôt aktivity vody pri teplote 37 °C v GTK bujóne je uvedené na **obr. 1**. V médiu bez prídavku soli, t.j. pri a_w 0,993 sledovaný mikroorganizmus sa množil za daných podmienok rýchlosťou 0,780 log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ s odpovedajúcim časom zdvojenia 23 minút a v stacionárnej fáze sa oproti počiatočným počtom pomnožil až o 5 log poriadkov. **Sutherland et al. (1994)** uvádzajú, že *S. aureus* sa pri 37 °C a bez NaCl rozmnožoval s časom zdvojenia 23 minút, čo je identická hodnota, aká bola vypočítaná pre náš kmeň 2064. Tento pri teplote 35 °C v mlieku dosahoval rastovú rýchlosť 0,722 log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹, čo bola porovnateľná hodnota s rastovou rýchlosťou bez prídavku soli (**Medved'ová et al., 2009**).

Postupným zvýšením koncentrácie NaCl na 8 % ($a_w = 0,947$) sme pozorovali nárast počtov buniek *S. aureus* 2064 v stacionárnej fáze oproti počiatočným počtom o 5 logaritmickej poriadkov, pričom rastová rýchlosť klesla oproti predchádzajúcej hodnote 1,6-násobne na $G_{R,8} = 0,485$ log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ (čas zdvojenia $t_d = 0,62$ h). **Charlier et al. (2009)** uviedli, že *S. aureus* sa pri 37 °C, pH 7,5 a 8 % prídavku NaCl v tryptón-kazeín-sójovom bujóne rozmnožoval rastovou rýchlosťou 0,740 log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ ($t_d = 0,41$ h). Pri tých istých environmentálnych podmienkach, ale v tryptón-sójovom bujóne zaznamenal **Sutherland et al. (1994)** rastovú rýchlosť 0,188 log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ ($t_d = 1,6$ h), čo je porovnateľná hodnota, akou sa množil izolát 2064 pri 13 % prídavku NaCl do GTK bujónu ($a_w = 0,913$). Pri tejto koncentrácii chloridu sodného sa daný stafylokok dokázal pomnožiť už len o 4 log poriadky a po približne 1,5 dňoch



Obr. 1: Dynamika rastu *S. aureus* 2064 v GTK bujóne pri teplote 37 °C v závislosti od hodnoty aktivity vody

(33 h) trvajúcim experimente dosiahol svoje maximálne počty na úrovni $N_{max} = 3,5 \cdot 10^7$ KTJ.ml⁻¹.

Ako výsledok postupne zhoršujúcich sa kultivačných podmienok sme zaznamenávali aj znižovanie maximálnych nárastov buniek *S. aureus* 2064 v stacionárnej fáze oproti počiatočným počtom. A tak pri 20 % prídavku NaCl, čomu odpovedá $a_w = 0,840$, sme po 11 dňoch zaznamenali nárast izolátu 2064 len o 3 log poriadky, na konečné počty $N_{max} = 1,1 \cdot 10^7$ KTJ.ml⁻¹. Prirodzene sa aj znížila rastová rýchlosť a dosiahla hodnotu $G_{R,20} = 0,066$ log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ ($t_d = 4,6$ h), čím bola 3,3-násobne menšia ako pri predchádzajúcom prídavku soli.

Prídavok NaCl 21 % ($a_w = 0,830$) predstavoval neprekonateľnú bariéru pre rast *S. aureus* 2064 a preto sme po 173 h (7 d) od začiatku trvania pokusu pozorovali postupné odumieranie buniek študovaného izolátu, čo sa prejavilo aj na záporných hodnotách rastových rýchlostí.

Schopnosť baktérií rásť pri vysokých koncentráciách soli súvisí s ich schopnosťou prispôbiť sa osmotickému stresu intracelulárnou akumuláciou betainu, trehalózy, prolínu, 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 začiatok rastu v prostredí s vysokým obsahom soli (Koutsoumanis, 2008).

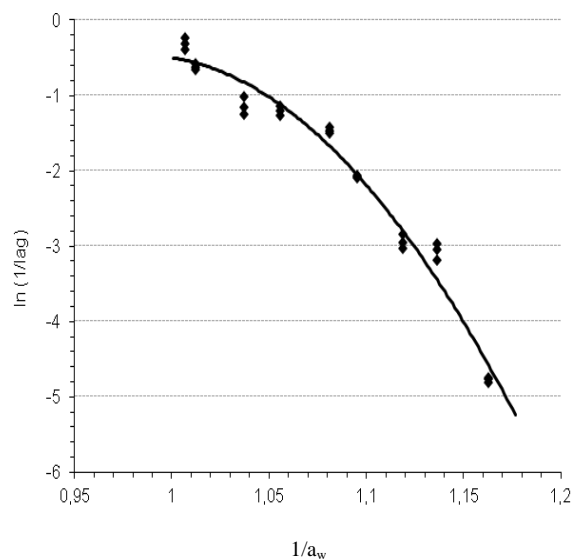
Tab. 1 Rastové parametre *S. aureus* 2064 v GTK bujóne pri teplote 37 °C

% NaCl	a_w	lag-fáza [h]	G_r [log KTJ.ml ⁻¹ .h ⁻¹]
0	0,993	1,4	0,780
1,72	0,988	1,9	0,774
5,0	0,964	3,2	0,677
7,95	0,947	3,3	0,485
10,6	0,925	4,3	0,284
13,05	0,913	8,0	0,221
15,25	0,894	19,0	0,185
18,17	0,869	21,0	0,097
19,95	0,840	117,5	0,066
20,72	0,830	-	-0,011

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 et al. (1997) prispôbili Davey-ov model na popisovanie vplyvu inkubačnej teploty na trvanie lag-fázy. V tomto modeli sme nahradili teplotu parametrom aktivity vody a následne aplikovali na získané výsledky.

Pri pohľade na vyššie popísané rastové čiary a ich grafické znázornenie na obr. 2 je zrejmé, že čím bola hodnota aktivity vody vyššia, tým sa dĺžka trvania lag-fázy daného izolátu *S. aureus* 2064 v GTK bujóne pri teplote 37 °C postupne skracovala. Prirodzene najkratšia lag-fáza bola pozorovaná bez prídavku soli a trvala len 1,4 h.



Obr. 2 Závislosť vplyvu aktivity vody na trvanie lag fázy *S. aureus* 2064 v GTK bujóne pri 37 °C

Charlier et al. (2009) uvádzajú hodnotu trvania lag-fázy pre *S. aureus* v tryptón-kazeín-sójovom bujóne pri teplote 37 °C a 0,5 % prídavku NaCl dĺžku trvania lag-fázy 1 h, čo je porovnateľná hodnota. Ak sme zvýšili prídavok soli na 5 %, trvanie lag-fázy sa predĺžilo 2-násobne na 3 h, pri 13 % prídavku NaCl sa lag-fáza predĺžila na 8 h, pri 18 % koncentrácii soli dosahovala až 21 h. Prirodzene najdlhšia lag-fáza bola sledovaná pri 20 % prídavku soli, kedy daný kmeň 2064 začal rásť po približne 5 dňoch trvajúcej lag-fáze.

Vplyv aktivity vody na trvanie lag-fázy izolátu 2064 pri 37 °C bol popísaný pomocou nasledovnej kvadratickej rovnice a mieru nepresnosti daného modelu sme vyjadrili definovaním príslušných validačných koeficientov $A_f = 1,246$, $B_f = 0,999$, $D_f = 24,6$ % a aj pomocou korelačného koeficientu $R^2 = 0,973$.

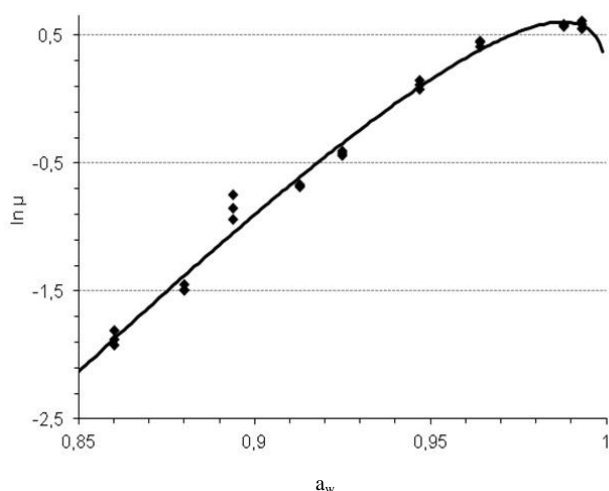
$$\ln(1/\text{lag})_{37} = 129,9a_w^2 + 255,9a_w - 126,6$$

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

Vplyv aktivity vody na rastovú rýchlosť *S. aureus* pri inkubačnej teplote 37 °C v GTK bujóne bol popísaný prostredníctvom Gibsonovej transformovaného modelu (Gibson et al., 1994), pričom jeho grafické znázornenie je zobrazené na obr. 3. Z uvedeného obrázku vyplýva, že so zvyšujúcou sa hodnotou aktivity vody je rastová rýchlosť vyššia, pričom svoje maximum dosiahne pri nulovom prídavku NaCl. Postupným zvyšovaním prídavkov NaCl dochádzalo k spomaľovaniu rastu *S. aureus* 2064, teda pri 8 % prídavku soli sa rastová rýchlosť spomalila 1,6-násobne, pri 13 % koncentrácii 3,5-násobne a pri 18 % prídavku 8-násobne oproti rastovej rýchlosti v médiu bez prídavku soli. Najpomalší rast daného mikroorganizmu sme pozorovali pri 20 % prídavku soli, pričom spomalenie jeho rastu bolo až 12-násobné.

Vplyv aktivity vody na rastovú rýchlosť *S. aureus* 2064 pri 37 °C bol popísaný prostredníctvom nasledovnej rovnice s pomerne vysokým korelačným koeficientom $R^2 = 0,988$, indexom presnosti $A_f = 1,096$, indexom spoľahlivosti $B_f = 0,999$ a chybou stanovenia $D_f = 9,6$ %.

$$\ln(\mu)_{37} = -35,936a_w^2 + 8,01a_w + 0,159$$



Obr. 3 Závislosť vplyvu aktivity vody na rastovú rýchlosť *S. aureus* 2064 v GTK bujóne pri 37 °C

ZÁVER

V práci sa potvrdila skutočnosť, že *S. aureus* 2064 pri teplote 37 °C rástol v GTK bujóne v širokej oblasti a_w . Jeho rast sa prirodzene so zvyšujúcou koncentráciou NaCl významne ovplyvňoval, čo sa prejavilo aj na predĺžovaní trvania lag-fázy a znižovaním rastovej rýchlosti v exponenciálnej fáze. Po dosiahnutí maximálnej koncentrácie soli v rastovom médiu sme pozorovali zastavenie rastu mikroorganizmu a v ďalšej fáze dochádzalo k úbytku životaschopných buniek, čo sa prejavilo v záporných hodnotách rastových rýchlostí. Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že ku kompletnej redukcii počtov *S. aureus* 2064 dochádzalo pri teplote 37 °C v GTK bujóne až pri 21 % koncentrácii chloridu sodného. Rastové parametre boli v poradí rastovej rýchlosti a lag-fázy popísané Gibsonovej a Davey-ovým modelom. Za účelom zistenia vhodnosti použitých modelov na predpovedanie rastu *S. aureus* boli jednotlivé závislosti podrobené vnútornej validácii. Z uvedených skutočností možno konštatovať, že sekundárne modely použité v našej práci sú vhodné na predpovedanie dynamiky rastu *S. aureus* v modelovom prostredí. Ich použitím sa získajú presné a spoľahlivé výsledky v rámci intervalu validačných koeficientov.

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.
- 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.
- BOYNUKARA, B., GULHAN, T., ALISARLI, M., GURTURK, K., SOLMAZ, H. 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.
- CHARLIER, C., CRETENET, M., EVEN, S., Le LOIR Y. 2009. Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. In *International Journal of Food Microbiology*. vol. 18, 2009, p. 197-203.
- DAUGHTRY, B. J., DAVEY, K. R., KING, K. D. 1997. Temperature dependence of growth kinetics of food bacteria. In *Food Microbiology*, vol. 14, 1997, p. 21-30.
- EWALD, S., NOTERMANS, S. 1998. Effects of water activity on growth and enterotoxin D production of *Staphylococcus aureus*. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 6, 1998, p. 25-30.
- GIBSON, A., BARANYI, J., PITT, J. I., EYLES, M. J., ROBERTS, T. A. 1994. Predicting fungal growth the effect of water activity on *Aspergillus flavus* and related species. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 23, 1994, p. 419-431.

- 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., PETIT, L., CHESNEAU, O., BRISABOIS, A., DE BUYSER, M. L. 2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. In *International Journal of Food Microbiology*, 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*, vol. 128, 2008, p. 116-121.
- LE LOIR, Y., BARON, F., GAUTIER, M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. In *Genetics and Molecular Research*, vol. 2, 2003, no. 1, p. 63-76.
- MEDVEĎOVÁ, A. 2009. Aplikácia kvantitatívnej a prediktívnej mikrobiológie pri zvyšovaní hygienickej bezchybnosti potravín. Dizertačná práca. Bratislava, 2009, 179 p.
- MEDVEĎOVÁ, A., VALÍK, L., 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.
- NORMANNO, G., FIRINU, A., VIRGILIO, S., MULA, G., DAMBROSIO, A., POGGIU, A., DECASTELLI, L., MIONI, R., SCUOTA, S., BOLZONI, G., DI GIANNATALE, E., SALINETTI, A. P., LA SALANDRA, G., BARTOLI, M., ZUCCON, F., PIRINO, T., SIAS, S., PARISI, A., QUAGLIA, N. C., CELANO, G. V. Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marked in Italy. In *International Journal of Food Microbiology*, 2005, vol. 98, p. 73-79.
- PEREIRA, V., LOPES, C., CASTRO, A. SILVA, J., GIBBS, P., TEIXEIRA, P. 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.
- PINTO, B., CHENOLL, E., AZNAR, R. 2005. Identification and typing of food-borne *Staphylococcus aureus* by PCR-based techniques. In *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 28, 2005, p. 340-352.
- RÖDEL, W., KRISPEN, K., LEISTNER, L. 1979. Measuring the water activity (a_w -value) of meat and meat products. In *Fleischwirtschaft*, vol. 59, 1979, p. 849-851.
- ROSS, T., McMEEKIN, T. A. 1994. Predictive microbiology, review paper. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 23, 1994, p. 241-264.
- STN ISO 4833. Mikrobiológia: Všeobecné pokyny na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónii kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 1997, 9 p.
- 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*, vol. 21, 1994, p. 217-236.
- VALÍK, L., PIECKOVÁ, E. 2001. Growth modelling of heat-resistant fungi: the effect of water activity. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 63, 2001, p. 11-17.
- VALÍK, L., PRACHAR, V. 2009. *Pôvodcovia ochorení z požívatin a minimalizácia ich rizika*. 1. vyd. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2009. 167 p. ISBN 978-80-227-3200-0.
- VOTAVA, M. 2003. Stafylokoky koagulasopozitívni. In VOTAVA, M. et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902898-6-5, p. 100-106.
- WOOD, J. M., BREMER, E., CSONKA, L. N., KRAEMER, R., POOLMAN, B., VAN DER HEIDE, T., SMITH, L. T. 2001. Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation by bacteria. In *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 130, 2001, p. 437-460.

Acknowledgments:

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-0590-10 and by the Ministry of Education of the Slovak Republic Project No. VEGA 1/0094/10.

Contact address:

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, E-mail: 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.