

EVALUACIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE *ESCHERICHIA COLI*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *BACILLUS CEREUS* EN UNA SOPA UTILIZANDO LA DISTRIBUCIÓN DE WEIBULL

Weibull's distribution application on Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Bacillus cereus survival evaluation

¹Raúl Ávila-Sosa, ¹Patricia Aguilar-Alonso, ¹Juan Carlos Cigarroa-Zárate,
²Gabriela Gastélum-Reynoso, ¹Obdulia Vera-López y
¹Addí Rhode Navarro-Cruz*.

¹Departamento de Bioquímica-Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, Edificio 105E, Puebla, Puebla, México, C.P. 72570.

²Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Iberoamericana de Puebla, Blvd. del Niño Poblano 2901, Unidad Territorial Atlixáyotl, Puebla, Puebla, México, C.P. 72197.

*Autor de Correspondencia: addi.navarro@correo.buap.mx

Fecha de Recepción: 25 de marzo de 2013.

Fecha de Aceptación: 21 de junio de 2013.

RESUMEN

El control microbiológico en la producción de alimentos tiene como finalidad suministrar productos inocuos para el consumidor. El factor primordial para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos es un adecuado calentamiento, enfriamiento o recalentamiento del alimento. El objetivo general de este trabajo fue evaluar mediante la distribución de Weibull la supervivencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* en una sopa industrializada sometida a diferentes temperaturas. Diver-

sas muestras de la sopa se inocularon con cada uno de estos microorganismos y fueron incubadas a tres diferentes temperaturas ubicadas en la zona de peligro (40, 50 y 60 °C). Se analizaron y se incubaron muestras a diferentes intervalos de tiempo. Con los datos obtenidos se realizaron curvas de crecimiento o muerte que se ajustaron a la distribución de Weibull. Las cinéticas mostraron que las tres bacterias se desarrollan y reproducen satisfactoriamente a 40 °C, sin embargo, al incubarse a 50 °C, la carga bacteriana se mantuvo por un periodo de tiempo corto y posteriormente comenzó a disminuir sin llegar

a la muerte. Finalmente, a 60 °C la carga microbiana disminuyó considerablemente hasta alcanzar la muerte. El análisis con la distribución de Weibull determinó que al final de cada experimento permanecieron bacterias sobrevivientes, corroborando que poseen mecanismos de defensa que son activados cuando se someten a condiciones de estrés. La temperatura ideal para mantener un alimento cocinado en condiciones de inocuidad es por arriba de los 60 °C, ya que temperaturas por debajo de estas permiten la supervivencia de algunos microorganismos resistentes.

PALABRAS CLAVE: Modelización, supervivencia microbiana, distribución de Weibull.

ABSTRACT

Microbiological control in food production aims to provide consumer safe products by preventing the development of foodborne pathogens with a suitable process of heating, cooling, or reheating food. The aim of this work was to evaluate the survival of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in soup using the Weibull's distribution at different temperatures. Samples of Soup were inoculated with each of these microorganisms, incubated at three different temperatures (40, 50, and 60 °C) and analyzed at different time intervals. With the data obtained, growth curves were obtained and adjusted to the Weibull's distribution. Growth kinetic studies showed that all microorganisms can develop and reproduce satisfactorily at 40 °C, however, at 50 °C the bacterial load was maintained for a short time and then began to drop without reaching death. Finally, at 60 °C bacteria decreased sharply until reaching death. The Weibull's distribution analysis indicates that, at the end of each experiment, surviving bacteria remain, thus corroborating that they possess adaptive mechanisms that are activated when they undergo stressful conditions. The ideal temperature to keep cooked food in microbiological safe conditions is above 60 °C. Below this temperature some microorganisms remain viable.

KEYWORDS: Modeling, microbial survival, Weibull's distribution.

INTRODUCCIÓN

El control microbiológico en la producción de alimentos tiene como finalidad última suministrar productos inocuos, nutritivos y apetitosos, con una vida de anaquel adecuada y a un costo razonable para el consumidor. Por lo tanto, se define la inocuidad alimentaria como el conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la adquisición de las materias primas, producción, almacenamiento, distribución, producción y elaboración de los

alimentos para asegurar que una vez ingeridos no representen un riesgo para la salud (Cerna y col., 2012; Olaimat and Holley, 2012).

Generalmente, la mayor parte de los riesgos a la salud por la ingesta de alimentos es provocada por diversos microorganismos que pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), las cuales en su mayoría se adquieren en establecimientos donde se preparan y se venden alimentos (cafeterías, cocinas, y restaurantes), siendo un factor importante para el desarrollo de las ETA el calentamiento, enfriamiento o recalentamiento inadecuado del alimento (Soon y col., 2011; Xue y Zhang, 2013). Por esta razón, se debe de llevar un estricto control de la temperatura de los alimentos para evitar el desarrollo de microorganismos. Se recomienda verificar que los alimentos se mantengan calientes a 60 °C o más, y los alimentos fríos a 4 °C o menos. Al recalentar un alimento, se sugiere hacerlo a una temperatura de 74 °C o más por 15 s como mínimo (Pires y col., 2012; Balzaretto y Marzano, 2013). Se define como zona de peligro de la temperatura (ZPT) al rango entre los 4 °C y los 60 °C en que la mayoría de los microorganismos crecen y se multiplican rápidamente (NMX-F-605-NORMEX-2004).

Por otro lado, una de las áreas de la microbiología de alimentos que más interés ha desarrollado en las últimas décadas ha sido la microbiología predictiva (MP), ya que permite anticipar el efecto del cambio en determinados factores medioambientales sobre el crecimiento o inactivación de los microorganismos o cuando se someten bajo condiciones controladas como lo son pH, actividad de agua y temperatura (Coroller y col., 2006). En la ciencia de los alimentos, la MP es de gran ayuda, ya que es útil para el estudio de la inocuidad microbiológica de los alimentos, tiempo de vida útil y en la optimización o desarrollo de los procesos de producción y comercialización, para obtener de esta manera alimentos inocuos, previniendo o disminuyendo el riesgo del crecimiento y/o producción de microorganismos patógenos y sus toxinas (Castro y col., 2008, Sant'Ana y col., 2012).

La MP está basada en el argumento de

que las respuestas de poblaciones de microorganismos a factores medioambientales son reproducibles, y que por lo tanto es posible, interpolando entre puntos, predecir el comportamiento de esos microorganismos para condiciones que no han sido ensayadas (McMeekin y col., 1997; Coroller y col., 2012). Los modelos matemáticos que se utilizan permiten tener una predicción de velocidad de crecimiento y/o inactivación de los microorganismos, algunos de los factores principales que afectan el crecimiento microbiano en los alimentos son la temperatura y el pH, por lo cual deben tenerse en cuenta para lograr una determinada predicción. En la investigación microbiológica, los datos obtenidos del modelado de datos proporciona gráficos donde se observa el crecimiento o la inactivación microbiana para varios niveles de uno o quizás dos factores (Chen y Campanella, 2012).

Finalmente, el modelo de Weibull ha sido utilizado en la mayoría de las ocasiones en estudios que involucran tratamientos térmicos y no térmicos. La hipótesis en la que se basa, se encuentra en la resistencia al estrés de una población y que las curvas de supervivencia microbianas y de esporas bacterianas siguen una distribución de tipo Weibull o primer orden. Este tipo de modelos pueden describir curvas lineales, cóncavas o convexas (Coroller y col., 2006; Huang y col., 2012). Es utilizado comúnmente para calcular la eficiencia de inactivación térmica de los tratamientos en las industrias de alimentos, consiste en una distribución de frecuencias que toma en cuenta a cada microorganismo como una población en general, donde cada uno posee una resistencia al tratamiento. Por lo tanto, las curvas de inactivación representan la distribución de la resistencia del conjunto de la población al tratamiento. Por esta razón, se puede decir que no existe una relación lineal entre el tiempo de tratamiento al que se someten los microorganismos y la muerte de cada uno de ellos. Aparte, este modelo posee una gran sencillez, ya que se puede interpretar con curvas, hombros y colas, y líneas rectas (Gougouli y Koutsoumanis, 2012; Huang y col., 2012). En la actualidad, la distribución de Weibull ha servido para la

descripción de varias formas de las curvas de inactivación (Coroller y col., 2012). Por lo que el objetivo general de este trabajo fue evaluar mediante la distribución de Weibull la supervivencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* en una sopa industrializada sometida a diferentes temperaturas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico

Las cepas control fueron proporcionadas por el Hospital Universitario (*E. coli* ATCC 35218) y el laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (*S. aureus* ATCC 29213 y *B. cereus* ATCC 11778); las cepas fueron inoculadas en tubos con caldo nutritivo (Merk, México, D.F.) para mantener viables a las bacterias, y para el caso de *B. cereus* se utilizaron tubos con agar nutritivo (Merk, México, D.F.).

Preparación del inóculo

E. coli, *S. aureus* y *B. cereus* fueron inoculados en caldos nutritivos (Merk, México, D.F.) e incubados a 37 °C por 24 h, después de ese lapso, se ajustó a la escala de McFarland a 0.5, que es el equivalente aproximadamente a 109 UFC mL⁻¹. Posteriormente, se hicieron diluciones seriadas hasta tener un inóculo para los diferentes experimentos de aproximadamente 104 UFC mL⁻¹.

Incubación a diferentes temperaturas, toma de muestra y conteo de microorganismos

Para la inoculación en el alimento, se esterilizaron 300 mL de agua destilada, una probeta graduada de 100 mL y un vaso de precipitado de 1000 mL. Se vertió el contenido de una sopa enlatada (crema de champiñones, Campbell's, México D.F.) de 300 g en un vaso de precipitado previamente estéril, y se homogenizó sin salir del área de esterilidad; con ayuda de la probeta se llenaron 3 matraces erlenmeyer con 100 mL cada uno. La sopa inoculada se mantuvo en baño maría (Thermo-Scientific 2874, Rochester, NY, USA.) a temperaturas constantes de 40, 50 y 60 °C. Se tomaron muestras a los 0, 5, 10, 20, 60, 120 y 240 minutos, después de inocular los microorganismos. El muestreo se hizo por triplicado y se tomó 1 mL de cada uno de los matraces

para hacer un vertido en placa (Agar Soya Trypticaseína, Merk, México), las cuales se incubaron a 37 °C por 24 hrs; a la par se llevaron dos controles, uno con sopa sin inocular y otro con agua destilada estéril. Finalmente, se hizo una tinción de Gram a cada prueba realizada (Santiesteban-López y col., 2007).

Análisis y modelización de resultados

Con los resultados obtenidos durante el desarrollo experimental se realizó la tabla tiempo vs temperatura; de donde se obtuvo el promedio del número de UFC mL⁻¹ contabilizadas para cada temperatura y posterior, a eso de los promedios obtenidos, se obtuvo N/NO (donde NO es el número de bacterias iniciales de UFC mL⁻¹ y N es el número de bacterias de UFC mL⁻¹ al tiempo t). Para homogenizar los datos se obtuvo el valor log₁₀. Los datos se ajustaron a la distribución de Weibull (Peleg, 1997), utilizando el programa Kaleida Graph (Versión 3.51, Synergy Software, Reading PA, USA) (Ec. 1).

(1)

$$\log_{10} S t = -b t^n$$

De donde se obtuvieron dos parámetros: b, que indica la velocidad de inactivación bacteriana, y n, indica la forma en que los microorganismos sobreviven, los parámetros n y b se utilizaron para calcular la distribución de frecuencias de resistencias. El modo de distribución representa el tiempo de tratamiento en el que la mayoría de la población muere o se inactiva. La media corresponde al tiempo de inactivación promedio con su variación. Por último, el coeficiente de asimetría (n) indica la forma de la distribución. Una vez obtenidos los valores de b y n se trazaron curvas de frecuencia de la resistencia con la siguiente ecuación (Ec. 2):

(2)

$$\frac{d\Phi}{dt_c} = b n t_c^{n-1} \exp(-b t_c^n)$$

Donde t_c es una medida de resistencia o sensibilidad del organismo y Φ es la fracción de organismos que comparten en cualquier tiempo dado (Peleg y Cole, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran las curvas de creci-

miento o inhibición de *E. coli*, *S. aureus* y *B. cereus* inoculados en la sopa a diferentes temperaturas. Para el caso de los controles, la sopa sin inocular presentó valores inferiores a 10 UFC mL⁻¹, mientras que para las cepas en agua destilada presentaron una disminución promedio de un ciclo logarítmico al final del tiempo de experimentación. Se puede observar el crecimiento óptimo de las tres cepas a 40 °C y el inicio de la fase logarítmica a partir de los 5 min, creciendo de 1.3 (*E. coli*, Figura 1A), 2.5 (*S. aureus*, Figura 1B) y hasta 3.5 ciclos logarítmicos (*B. cereus*, Figura 1C) al final del experimento. A 50 °C, se observan curvas de inhibición presentando una pequeña disminución de la carga bacteriana cercana a los 1.1 ciclos logarítmicos, sin embargo, las bacterias que van sobreviviendo, pueden tener diversos mecanismos de supervivencia generados por el alto estrés bacteriano que la temperatura provoca. La muerte celular se observa a 60 °C donde hay curvas pronunciadas de inhibición, al final del tiempo de experimentación hubo una reducción de la carga microbiana de hasta 4 ciclos logarítmicos.

Peng y col. (2011) y Velliou y col. (2012) afirman que *E. coli* posee en su superficie el antígeno "O", el cual es termoestable y le permite sobrevivir en un alto rango de temperaturas (50-60 °C). Cuando se superan los 70 °C, ciertos componentes comienzan a degradarse de forma irreversible como proteínas, ácidos nucleicos y el colapso de la membrana citoplasmática provocando la muerte celular. Rossi y col. (2010) reportan que *S. aureus* tiene como estrategia adaptativa de autoprotección, la producción de enterotoxinas y la formación de biopelículas entre 40 y 50 °C, a este rango de temperatura las pocas bacterias que logran sobrevivir pueden provocar intoxicación. Wijnands y col. (2009) mencionan que *B. cereus* es capaz de producir esporas y toxina hemética como mecanismo de supervivencia en el alimento durante la fase exponencial de crecimiento. La mayor concentración de toxina se tiene al llegar a la fase estacionaria, al ser termoestable puede sobrevivir hasta 30 minutos en agua hirviendo. Menz y col. (2011) observaron que las esporas de *B. cereus* poseen apéndices y/o pilis, los cuales le confieren facilidad

Figura 1.

Efecto de diferentes temperaturas (● 40 °C, ■ 50 °C, ◆ 60 °C) en A) E. coli; B) S.aureus; y C) B. cereus, por un periodo de 240 min en muestra de una sopa.

Figure 1. Effect of different temperatures (● 40 °C, ■ 50 °C, ◆ 60 °C) on A) E. coli; B) S.aureus; and C) B. cereus, during a 240 minute period of time in a sample of soup.

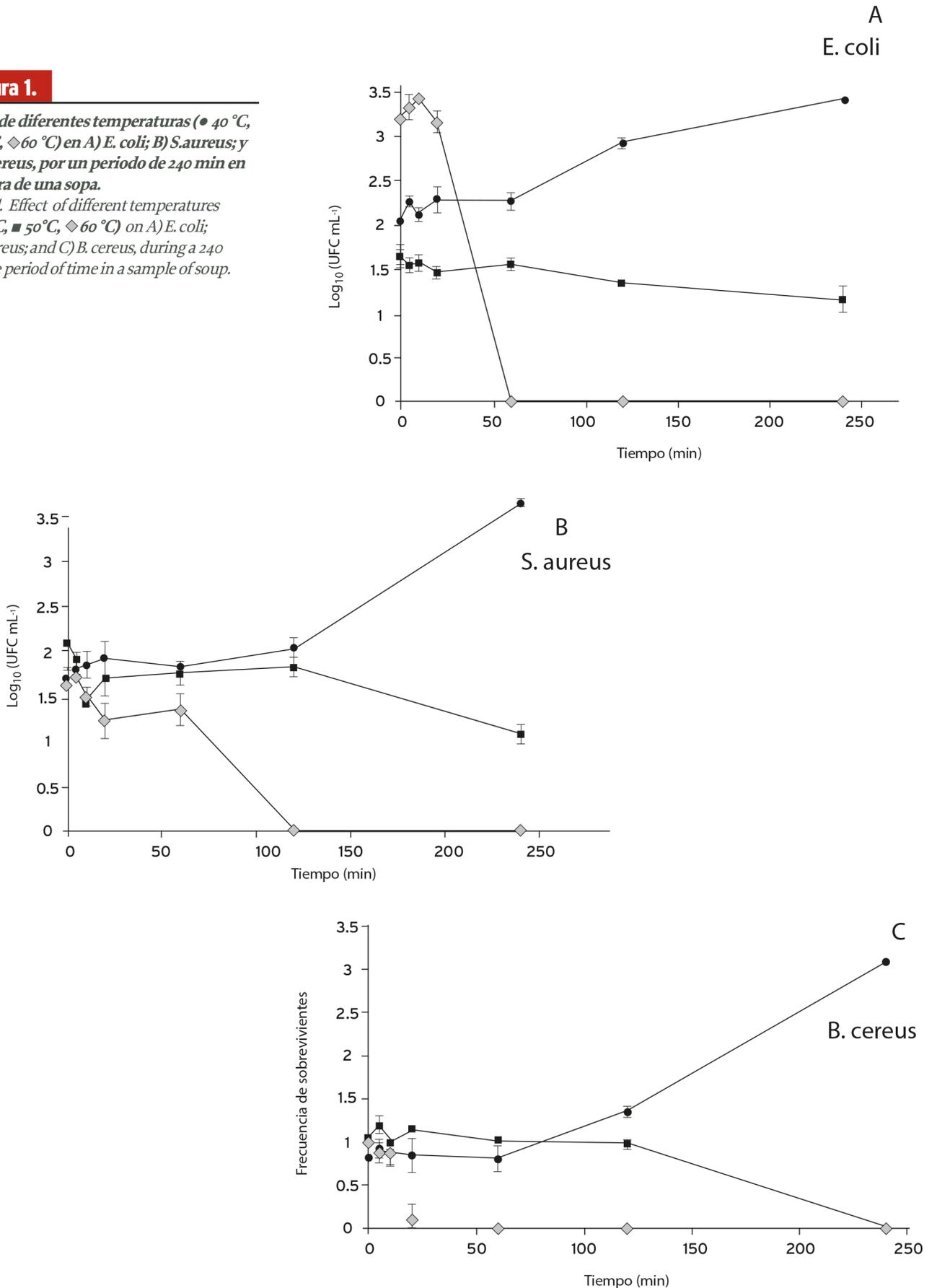


Figura 2.

Frecuencia de supervivencia a 40 °C(+), 50 °C(x) y 60 °C(-) para: A) E. coli; B) S. aureus; y C) B. cereus.

Figure 2. Survival frequency of A) E. coli; B) S. aureus; and C) B. cereus at 40 °C(+), 50 °C (x), and 60 °C (-).

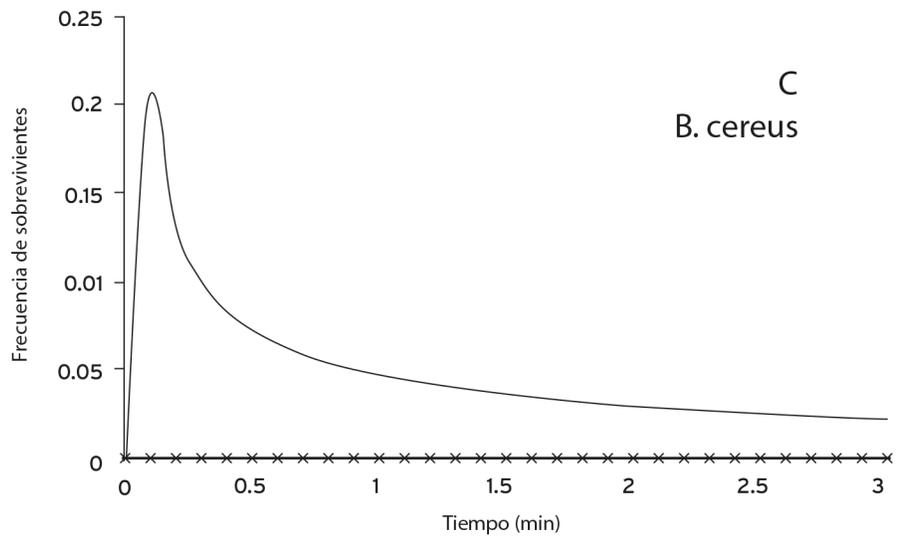
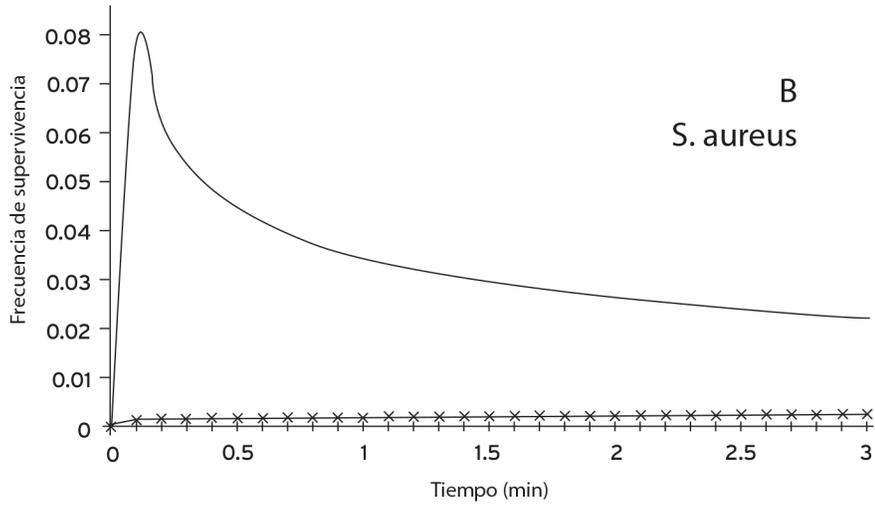
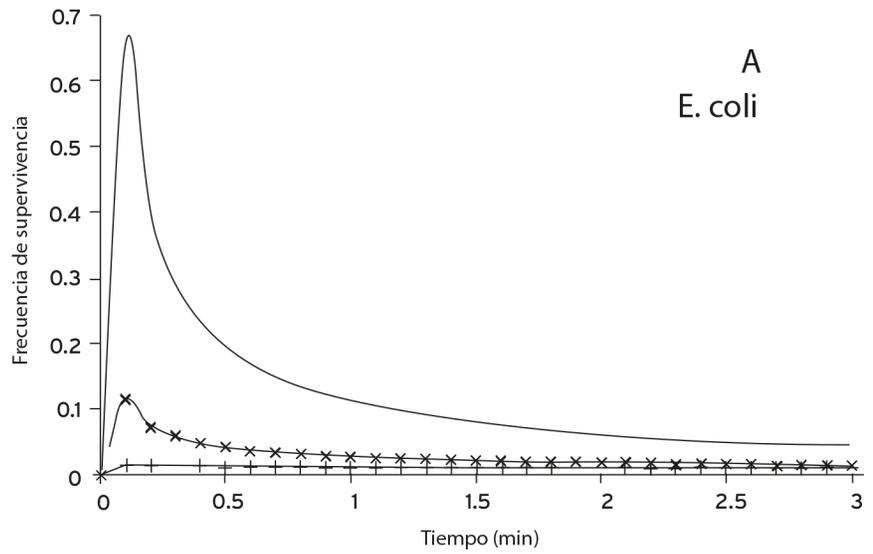


Tabla 1.

Parámetros de la distribución de Weibull (b, n) para *E. coli*, *S. aureus* y *B. cereus* incubadas en una sopa industrializada a diferentes temperaturas.

*Table 1. Parameters of Weibull's distribution (b, n) for growth curves of *E. coli*, *S. aureus*, and *B. cereus* at different temperatures in industrialized soup.*

Cepa	Temperatura °C	b	n	R ²
<i>E. coli</i>	40	0.00±0.09	0.87±0.09	0.97
	50	0.07±0.09	0.37±0.06	0.93
	60	0.54±0.09	0.35±0.13	0.87
<i>S. aureus</i>	40	0.00±0.09	2.41±0.27	0.98
	50	0.00±0.09	1.18±0.29	0.91
	60	0.05±0.09	0.65±0.14	0.91
<i>B. cereus</i>	40	0.00±0.09	2.02±0.24	0.98
	50	0.00±0.09	3.61±1.14	0.96
	60	0.14±0.09	0.39±0.08	0.89

para adherirse a múltiples superficies formando biopelículas, en estas condiciones es capaz de producir toxina hemética.

Evaluación mediante la distribución de Weibull

La Tabla 1 muestra los valores de los parámetros (b y n) de la distribución de Weibull; se observa que a 40 °C los tres microorganismos no tienen velocidad de inactivación ($b=0.00$), lo que concuerda con la Figura 2 donde la curva de frecuencia no muestra sobrevivientes debido a que no hay muerte bacteriana, este mismo fenómeno se repite para el caso de *S. aureus* y *B. cereus* a 50 °C (Figura 2B y 2C), sin embargo para *E. coli* le causa efectos letales, ya que el valor de velocidad de inactivación es cercano a 0.07, el área bajo de la curva (Figura 2A) muestra una ligera cantidad de población bacteriana sobreviviente. El parámetro n resultó ser > 1 (Tabla 1), lo que indica que las bacterias sobrevivientes pueden volverse termosensibles, y de esta manera no poder sobrevivir con el paso del tiempo (Coroller y col., 2006; Van Derlinden y Van Impe, 2012; Van Derlinden y Van Impe, 2013).

Para los tres microorganismos se observa la mayor frecuencia de sobrevivientes a 60 °C, siendo más elevada para *E. coli* (0.7)

que para *B. cereus* y *S. aureus* (0.2 y 0.1 respectivamente), donde la mayor tasa de muerte se registra durante los primeros minutos. A esta temperatura los resultados de la distribución de Weibull predicen que *E. coli*, *S. aureus* y *B. cereus* sobreviven durante el tiempo total del muestreo (240 min), con una carga bacteriana mínima. Con *S. aureus* ($b=0.05$ a 60 °C), se demuestra la resistencia al tipo de tratamiento térmico ($n < 1$), en este caso murieron la mayor cantidad posible de células en un corto periodo de tiempo y por lo tanto con el transcurso del mismo, estas sobrevivientes son las más resistentes o tal vez son las que se adaptaron al medio y a la temperatura elevada.

Coroller y col., (2012), afirman que las células sobrevivientes presentan una mayor resistencia al tratamiento aplicado y una probabilidad muy baja de morir. Posiblemente cuando comienzan a adaptarse al medio, la población superviviente se puede volver más sensible, y por lo tanto el daño acumulado provocado haría que las bacterias no sobrevivan (Van Derlinden y Van Impe, 2013).

Aparentemente, los microorganismos presentes en un alimento hacen todo lo posible para mantener su homeostasis y poder

superar el ambiente hostil utilizando por completo su energía, muriendo ya sea por un agotamiento metabólico y/o por la desnaturalización de proteínas generado por el efecto de la temperatura. Sin embargo, como cada bacteria expresa diferentes genes, no todas tienen la capacidad de actuar y sobrevivir al mismo tiempo (Ryu y col., 2012). Wilson y col. (2002) afirman que en la mayoría de los casos, las predicciones basadas en los datos obtenidos de sistemas que utilizan medios de cultivo puro son aplicables para el crecimiento de los microorganismos que crecen en los alimentos. Sin embargo, hay una serie de casos en los que la estructura del alimento, la actividad de agua, la disponibilidad de nutrientes (como fuentes de carbono y nitrógeno), el pH y la temperatura de tratamiento, parecen dar como resultado un comportamiento diferente. Esto puede explicar las diferencias que se observan en las curvas de crecimiento o inhibición con las obtenidas a partir de modelos predictivos y del control el cual mantuvo sus niveles de inoculación.

La distribución de Weibull es una función que toma en cuenta variaciones biológicas y se utiliza para describir el espectro de resistencias de la población al agente letal bajo distintas condiciones (Van Boekel, 2002). Las principales ventajas del modelo basado en la distribución de Weibull son su sencillez y su capacidad de modelar curvas de supervivencia que son lineales (Peleg, 1997; Peleg y Cole, 1998).

CONCLUSIONES

No es conveniente mantener alimentos a temperaturas inferiores a 60 °C, ya que para el caso de *E. coli*, *S. aureus* y *B. cereus* se observó que son resistentes. Por otro lado, la aplicación de la distribución de Weibull para determinar la velocidad de muerte de los microorganismos patógenos, puede ser de gran utilidad para el manejo y la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos. ||

REFERENCIAS

- Balzaretti, C. M. and Marzano, M. A. (2013). Prevention of travel-related foodborne diseases: Microbiological risk assessment of food handlers and ready-to-eat foods in northern Italy airport restaurants. *Food Control*. 29 (1): 202-207.
- Castro, G., Valbuena, E., and Sánchez, E. (2008). Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp *Lactis*. *Revista Científica de Maracaibo*. 18 (4): 582-588.
- Cerna, J. F., Gómez, C. A., Rangel, E., Torres, M. R., Villarruel, A., and Castro, J. (2012). Presence of some indicator bacteria and diarrheagenic *E. coli* pathotypes on jalapeño and serrano peppers from popular markets in Pachuca City, Mexico. *Food Microbiology*. 32 (2): 444-447.
- Chen, G. and Campanella, O. H. (2012). An optimization algorithm for estimation of microbial survival parameters during thermal processing. *International Journal of Food Microbiology*. 154 (1): 52-58.
- Coroller, L., Leguerinel, I., Mettler, E., Savy, N., and Mafart, P. (2006). General model, based on two mixed Weibull distributions of bacterial resistance, for describing various shapes of inactivation curves. *Applied and Environmental Microbiology*. 72 (5): 6943-6502.
- Coroller, L., Kan-King-Yu, D., Leguerinel, I., Mafart, P., and Membré, J. M. (2012). Modelling of growth, growth/no-growth interface and nonthermal inactivation areas of *Listeria* in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 152 (1): 139-152.
- Gougouli, M. and Koutsoumanis, K. P. (2012). Modeling germination of fungal spores at constant and fluctuating temperature conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 152 (1): 153-161.
- Huang, K., Tian, H., Gai, L., and Jianping, W. (2012). A review of kinetic models for inactivating microorganisms and enzymes by pulsed electric field processing. *Journal of Food Engineering*. 111 (2): 191-207.
- McMeekin, T. A., Brown, J., Krist, K., Miles, D., Neumeyer, K., Nichols, D. S., Olley, J., Presser, K., Ratkowsky, D. A., Ross, R., Salter, M., and Soontranon, S. (1997). Quantitative microbiology: A basic for food safety. *Emerging Infectious Diseases*. 3 (4): 541-549.
- Menz, G., Aldred, P., and Vriesekoop, F. (2011). Growth and survival of foodborne pathogens in beer. *Journal of Food Protection*. 74 (10): 1670-1675.
- NMX-F-605-NORMEX (2004). Manejo higiénico en el servicio de alimentos preparados para la obtención del Distintivo "H".
- Olaimat, A. N. and Holley, R. A. (2012). Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiology*. 32 (1): 1-19.
- Peleg, M. (1997). Modeling microbial populations with the original and modified versions of the continuous and discrete logistic equations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 37 (5): 471-490.
- Peleg, M. and Cole, M. (1998). Reinterpretation of microbial survival curves. *Critical Reviews in Food Science*. 38 (4): 353-380.
- Peng, S., Tasara, T., Hummerjohann, J., and Stephan, R. (2011). An overview of molecular stress response mechanisms in *Escherichia coli* contributing to survival of shiga toxin-producing *Escherichia coli* during raw milk cheese production. *Journal of Food Protection*. 74 (5): 849-864.
- Pires, S. M., Vieira, A. R., Perez, E., Wong, D. L. F., and Hald, T. (2012). Attributing human foodborne illness to food sources and water in Latin America and the Caribbean using data from outbreak investigations. *International Journal of Food Microbiology*. 152 (1): 129-138.
- Rossi, F., Gaio E., and Torriani, S. (2010). *Staphylococcus aureus* and *Zygosaccharomyces bailii* as primary microbial contaminants of a spoiled herbal food supplement and evaluation of their survival during shelf life. *Food Microbiology*. 27 (2):356-362.
- Ryu, S. H., Lee, J. H., Park, S. H., Song, M. O., Park, S. H., Jung, H. W., Park, G. Y., Choi, S. M., Kim, M. S., Chae, Y. Z., Park, S. G., and Lee, Y. K. (2012). Antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from commercial and cooked foods. *International Journal of Food Microbiology*. 159 (2): 263-266.
- Sant'Ana, A. S., Franco, B. D. G. M., and Schaffner, D. W. (2012). Modeling the growth rate and lag time of different strains of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat lettuce. *Food Microbiology*. 30 (2): 267-273.
- Santiesteban-López, A., Palou, E., and López-Malo, A. (2007). Susceptibility of food-borne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected aw and pH. *Journal of Applied Microbiology*. 102 (3): 486-497.
- Soon, J. M., Singh, H., and Baines, R. (2011). Foodborne diseases in Malaysia: A review. *Food Control*. 22 (7): 823-830.
- Van Boekel, M. A. J. S. (2002). On the use of Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. *International Journal of Food Microbiology*. 74 (1): 139-159.
- Van-Derlinden, E. and Van-Impe, J. F. (2012). Modeling microbial kinetics as a function of temperature: Evaluation of dynamic experiments to identify the growth/inactivation interface. *Journal of Food Engineering*. 108 (2): 201-210.
- Van-Derlinden, E. and Van-Impe, J. F. (2013). Modeling growth rates as a function of temperature: Model performance evaluation with focus on the suboptimal temperature range. *International Journal of Food Microbiology*. 158 (1): 73-78.
- Velliou, E. G., Van-Derlinden, E., Cappuyns, A. M., Geeraerd, A. H., Devlieghere F., and Van-Impe, J. F. (2012). Heat inactivation of *Escherichia coli* K12 MG1655: Effect of microbial metabolites and acids in spent medium. *Journal of Thermal Biology*. 37 (1): 72-78.
- Wilson, P. D. G., Brocklehurst, T. F., Arino, S., Thuault, D., Jakobsen, M., Lange, M., Farkas, J., Wimpenny, J. W. T., and Van-Impe (2002). Modeling microbial growth in structured foods: towards a unified approach. *International Journal of Food Microbiology*. 73 (3): 275-289.
- Wijnands, L. M., Pielaat, A., Dufrenne, J. B., Zwietering, M. H., and Van-Leusden, F. M. (2009). Modelling the number of viable vegetative cells of *Bacillus cereus* passing through the stomach. *Journal of Applied Microbiology*. 106 (2):258-267.
- Xue, J. and Zhang, W. (2013). Understanding China's food safety problem: An analysis of 2387 incidents of acute foodborne illness. *Food Control*. 30 (3): 311-317.