농산물 오염 식중독세균 전사체 연구동향 및 미생물 위해성평가 도구로서의 활용

Trend in Transcriptomics for Enteric Pathogens Associated with Fresh Produce Outbreaks and Their Use in Microbial Risk Assessment

한상현*, 박진우, 류재기

Sanghyun Han*, Jin-Woo Park, Jae-Gee Ryu

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀

Microbial Safety Team, Department of Agri-Food Safety, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

서 론

건강에 대한 소비자의 관심이 증대되면서 신선한 과일과 채소의 섭취가 권장되는 식생활이 보편화되고 있다. 이에 따라 농산물에 오염될 수 있는 각종 위해요소로 인해 안전성에 대한 우려도 같이 존재하고 있다. 특히, 가열과 같이 식중독세균을 포함한 유해미생물을 제거할 수 있는 조리과정을 거치지 않고 직접 신선 상태로 섭취되는 농산물 품목의 경우에는 안전성에 대한 우려가 극대화될 수 있다. 일례로 미국에서는 농산물에 오염된 식중독세균이 원인이 되어 발생한 식중독사고로 인해 신선섭취 농산물이 가장 위험한 식품군으로 인식되는 결과를 초래한 바 있다 (DeWaal and Bhuiya, 2007; Batz et al., 2011; Painter et al., 2013). 식중독세균에 의한 농산물 오염은 그 빈도가 매우 낮고 발생패턴도 극히 불규칙하기 때문에 생산되는 농산물을 조사하여 오염여부를 판단하고 이에 대응하기 보다는 식중독세균 오염원이 될 가능성이 있는 생산현장의 요소들을 사전에 배제하는 방식으로 안전성을 관리하는 것이 일반적인 추세이다.

미국에서는 Food and Drug Administration (FDA)가 1998년에 'Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables'를 발간하여 신선 농산물의 유해미생물 오염을 사전방지하는 방안을 권장한 것을 시작으로 농산물의 생산단계부터 수확후처리, 저장, 포장, 출하에 이르기까지 전 단계에 걸쳐 생물학적 위해요소를 포함한 각종 위해요소가 개입되지 않도록 관리하는 제도인 Good Agricultural Practices (GAP)와 Good Hygienic Practices (GHP)를 보편화시키고 있다. 유럽연합에서도 민간이 주축이 되어 농산물 생산과정의 각종 위해요소를 사전방지하는 절차와 기준에 맞게 생산된 품목을 인증해주는 GlobalGAP 프로그램이 도입되었고, 현재는 세계 100여개 이상의 국가에서 활용되고 있다 (http://www.globalgap.org/uk_en/who-we-are/about-us/history/).

* Correspondence to: Sanghyun Han
Microbial Safety Team, Department of Agri-Food Safety,
National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea
Tel: 82-63-238-3404 (office) Fax: 82-63-238-3840 E-mail: Sanghyun.han@korea.kr

사람에게 해를 입힐 수 있는 특성을 지닌 것을 위해요소 (hazard)라 하고, 이 위해요소가 실제로 해를 입힐 수 있는 가능성을 위험 (risk)이라고 한다. 즉, 위해요소가 있다고 하더라도 이것이 관리되고 있으면 위험은 낮아지고, 반대로 관리되지 못하면 위험은 높아질 수 있다. 관리가 요구되는 위험인지를 알기 위해서는 위험을 정량화할 필요가 있는데, 이렇게 위험을 정량화하는 과정을 위해성평가(risk assessment)라고 정의하고 있다 (주: risk assessment를 위험평가로 번역하는 것이 더 올바를 것이나 현재 많은 문헌자료에서 위해성평가를 이에 해당하는 용어로 사용하고 있으므로 혼란을 방지하기 위해 본 자료에서도 위해성평가로 정의함). 안심하고 먹을 수 있는 안전한 농산물의 지속적 공급기반을 구축하기 위해서는 농산물로 매개될 수 있는 식중독세균에 의한 위험을 평가하여야 한다는 논의가 점차 활발해지고 있다. 그러나 미생물은 비교적 오랫동안 잔류하여 해를 입히는 유해 화학물질과는 달리 생존이 적합한 환경에서는 단시간 내에 증식을 하고 반대로 불리한 환경에서는 개체수가 급격히 줄어들기 때문에 정량적인 위험도 이에 따라 변화될 수 있다. 따라서 미생물 위해성평가 (microbial risk assessment)를 실시할 때는 특정 미생물의 개체수가 처해진 환경에서 증가를 할 것인지 아니면 감소를 할 것인지를 예측하여 위험을 정량화하는 것이 필요하다. 이에 미생물이 개체로서 또는 개체군으로서 증가할 것인지 아니면 감소할 것인지 예측하는 것을 연구대상으로 하는 학문인 predictive microbiology (Buchanan and Whiting, 1996)를 미생물 위해성평가의 한 기법으로 포함시키는 것이 일반적이다.

농산물 오염 식중독세균에 대한 위해성평가를 수행하기 위해서는 전제 조건으로 농산물은 식중독세균의 기주가 아니라는 점을 염두에 두어야 한다. 비록 식중독세균이 어떻게 농산물에 오염되는지, 그리고 어떻게 식물체와 상호작용하면서 생존하고 결국 식중독사고를 일으킬 수 있는지에 대한 고찰이 지속적으로 이루어져있기는 하였지만 (Brandl, 2006; Teplitski et al., 2009; Berger et al., 2010; Barak and Schroeder, 2012), 식물체는 식중독세균의 기주가 아니기 때문에 미생물의 생존과 증식이 제한적일 수 밖에 없다. 따라서, 신선 농산물에 대한 정확한 미생물 위해성평가를 실시하기 위해서는 앞서 말한 predictive microbiology에 기반하여 미생물의 생존율과 증식율을 예측하는 것이 필수적이다. 게다가, 미생물은 생존에 불리한 환경에 처하게 되면 외부의 자극에 대응하여 생존에 최적화 된 대사를 시작하게 되는데 이는 평상시의 대사 패턴과는 매우 다를 수 있다. 특히, 기주가 아닌 환경에서는 병원성과 관련된 유전자를 발현하지 않는 것이 생체내 에너지를 효율적으로 사용하여 생존 확률을 높이는데 도움이 될 것으로 보여지지만 (Groisman and Mouslim, 2006), 농산물에 오염된 식중독세균의 병원성이 여전히 인체에 해를 입힐 수 있는 수준일지에 대한 연구는 아직 수행된 바 없다.

미생물이 어떠한 환경에 처해져서 외부 자극에 반응하고 있는지, 어떠한 유전자를 발현시켜 생존을 하고 있는지, 그리고 병원성에 관련된 유전자들은 어떠한 패턴으로 발현되고 있는지를 종합적으로 파악하기 위해서는 미생물의 유전자 발현량, 즉, 전사체 (transcriptome)를 측정하는 것이 유용하다. RNA-seq (RNA-sequencing)은 전사체를 측정하는 기술로서 활용이 급속히 증가하고 있다. 이러한 최신의 기술을 이용하여 신선 농산물에 오염된 식중독세균의 병원성 유전자 등 전체 유전자의 발현 양상을 이해하면 좀 더 정확한 미생물 위해성을 구명할 것으로 기대하고 있다. 이에 본 보에서는 농산물에 오염된 식중독세균의 전사체 연구동향을 살펴보고, 미생물 위해성평가의 한 도구로서 활용이 가능한지를 고찰해 보고자 하였다.

본 론

식중독세균의 전사체 (transcriptome) 연구방법

전사체 연구를 위한 RNA-seq 기법은 연구대상 생물체에서 추출한 전체 mRNA의 염기서열, 즉, transcriptome을 분석하는 방법이다 (그림 1). 각각의 유전자는 발현시 전사의 과정을 거쳐 mRNA로 이루어진 transcript를 만

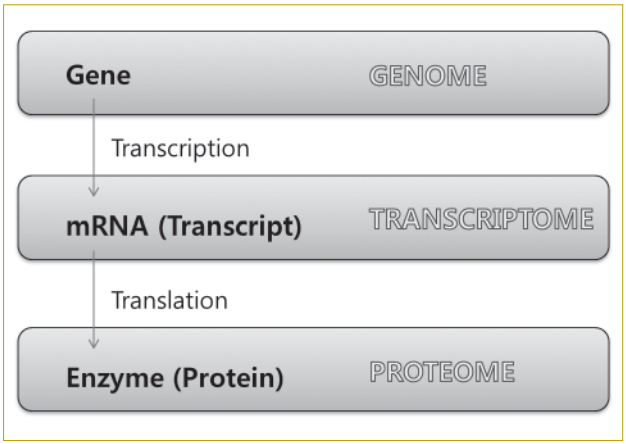

그림 1. 생체내 mRNA 전사 과정 및 전사체 실험대상

드는데 하나의 유전자 당 전사된 transcripts의 개수를 측정함으로써 특정 유전자의 발현 정도를 정량화 할 수 있게 된다. 연구대상 생물체의 전체 유전자가 만들어낸 모든 transcripts를 집합적으로 transcriptome이라 하며, 이를 분석하면 생체내 대사 패턴의 변화, 활용하는 생체내 기능, 생리적 반응 등을 예측할 수 있다.

대략적인 RNA-seq 실험과정을 살펴보면, 추출된 mRNA를 일정한 길이로 자르고 이를 cDNA로 역전사한 후 Illumina HiSeq/MiSeq, SOLiD, 또는 Roche 454 염기서열 분석기기에 올려 염기서열을 분석하게 된다 (Shendure and Ji, 2008). 이러한 과정을 거치면 몇 백만개의 cDNA 단편조각들에 대한 염기서열 정보를 얻게 되는데 대부분의 경우 이를 이미 알려진 표준 유전체 (reference genome)나 또는 전사체 (reference transcriptome)의 염기서열이 일치하는 부위에 맞추어서 유전자 발현 양상을 파악하게 된다. 각각의 유전자가 수행하는 기능에 대한 정보를 알고 있으면 유전자 발현 양상에 따른 기능적 반응을 예측하는 functional genomics를 실시할 수 있게 된다. 예외적으로 표준 유전체나 전사체에 대한 정보가 없이 *de novo* 상태에서 진행하는 경우도 있다. 최근에는 RNA-seq을 포함한 high-throughput sequencing 비용이 빠르게 낮아지고 있어서 많은 연구분야에서 활용이 늘어나고 있다. 또한, 미국 FDA와 University of California-Davis가 공동으로 주요 식중독세균에 대한 reference genome 데이터베이스를 구축하는 100K Foodborne Pathogen Genome Project를 수행하고 있어서 앞으로의 활용가치는 더욱 높아질 것으로 전망된다.

신선 농산물 오염 식중독세균에 대한 전사체 연구동향

신선 농산물에 오염된 식중독세균의 전사체에 대한 최근의 연구는 오염이 우려되는 대장균과 살모넬라균이 상추 잎에서 생존하는 시나리오를 가상하여 이루어졌는데, 연구결과 신선 농산물에 오염 되어있을 때 식중독세균의 유전자 발현 양상은 매우 달라질 수 있는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 대장균 O157:H7이 상추 잎에 접종된 상태에서 대장균의 유전자 발현 양상을 조사한 결과, 세포벽 합성 관련 유전자, 황과 인산염의 부족을 조절하는 유전자, 그리고 스트레스에 대응하여 다양한 생체내 기작에 관여되어 있는 *rpoS* 유전자의 발현이 유도되는 것을 관찰하였고, 이는 대장균이 취할 수 있는 영양분이 부족하여 나타나는 스트레스 반응으로 보인다고 하였다 (Fink et al., 2012). 그리고, 영양분 부족으로 인해 결과적으로 에너지 대사와 수송에 관련된 유전자들의 발현도 저하되는 양상이 나타났다고 하였다. 대장균 O157:H7이 상추 잎에 있을 때 나타나는 다른 반응으로는 생물막 (biofilm) 형성에 관여하는 *ycfR*과 *ybiM* 유전자와 섬유질 (curli fiber) 형성에 관여하는 *csgA* 및 *csgB* 유전자가 높은 수준으로 발현이 유도되는 것을 관찰 할 수 있었는데, *ycfR*과 *csgA*이 발현하지 못하도록 조작된 돌연변이 균주는 상추잎에 부착능이 저하되는 것으로 조사되었다. 따라서, 대장균 O157:H7이 상추잎에 부착하여 생존하기 위해서는 세균의 표면적 구조와 생물막 형성이 매우 중요한 기능임을 유추할 수 있다. 상추가 가공되는 시설내 조건에서 식중독균의 유전자 발현 양상을 조사하기 위해 상추잎 대신 상추잎을 갈아서 만든 즙액에 대장균 O157:H7을 접종한 후 대장균의 유전자 발현 양상을 보았을 때는 탄수화물의 이용과 수송에 관여하는 유전자의 발현이 유도되는 것으로 나

타났다 (Kyle et al., 2010). 이는 대장균이 증식을 위해 상추의 즙액에 있는 당 화합물을 이용하여 탄소를 동화하기 때문인 것으로 보여진다. 또한, 상추 즙액에 접종된 대장균 O157:H7에서 산화적 스트레스 (oxidative stress)에 관여된 유전자가 매우 높은 수준으로 발현이 유도되었는데, 이는 상추 즙액에 많은 양의 활성산소 (reactive oxygen species)가 포함되어 있기 때문으로 식중독세균이 식물체 상처 조직 등 활성산소가 많이 존재하는 환경에서 적응해야 할 때 필요한 생존전략이라고 볼 수 있다. 대장균 O157:H7과 함께 신선 농산물로 인한 식중독사고의 주요 원인균인 살모넬라균의 상추잎 접종시 유전자 발현 양상을 조사한 결과, 대장균 O157:H7의 실험결과와 마찬가지로 스트레스 반응에 관여된 유전자의 발현이 유도되는 것으로 나타났고, 이외에도 병원성과 생물막 형성에 관여된 유전자의 발현도 유도되어 이들 기능이 살모넬라균이 상추잎에 부착하고 생존하는데 필요한 것임을 유추할 수 있었다 (Kroupitski et al., 2013). 살모넬라균의 병원성과 생물막에 관여된 유전자 중 세포 표면의 섬모나 부착 단백질 관련 유전자 (*stfC*및 *milL*), 또는 생물막 형성에 관련된 유전자 (*bscA*)가 발현되지 못하도록 조작된 돌연변이 균주는 상추잎에서의 생존능이 저하되는 것을 관찰함으로써 이들 유전자가 살모넬라균의 상추잎 부착과 생존에 매우 중요한 기능을 하고 있음을 확인할 수 있었다. 살모넬라균을 무름병에 감염된 상추잎과 실란트로잎에 접종하였을 때도 동일한 양상의 유전자 발현 결과를 확인할 수 있었다 (Goudeau et al., 2013).

Brankatschk et al. (2014)는 알팔파 새싹채소에 살모넬라균을 접종한 후 배양하였을 때 세균의 이동성과 생물막 형성에 관여된 유전자의 발현은 유도되었으나, 스트레스에 대응하는 유전자의 발현은 감소되었다고 보고하였다. 다른 실험결과와는 다르게 스트레스 대응 유전자의 발현이 감소된 것은 살모넬라균을 알팔파 새싹채소와 함께 M9 배지에서 액체 상태로 배양하였기 때문에 상대적으로 영양분이 풍부하고 건조에 의한 스트레스도 받지 않는 조건이었기 때문인 것으로 보인다. Hou et al. (2013)은 대장균 O157:H7이 상추의 뿌리에 접종되어 있을 때의 유전자 발현 양상을 조사하였는데, 에너지 대사와 생물막 형성에 관여된 유전자의 발현이 유도되었다고 하였다. 그러나, 비교분석을 위해 수행된 실험에서 비병원성인 대장균 K-12에서는 단백질 생합성에 관여된 유전자의 발현이 유도된 반면, 병원성인 대장균 O157:H7에서는 같은 종류의 유전자들의 발현이 감소하였는데 이는 대장균 O157:H7 균주가 대장균 K-12 균주에 비해 상추의 뿌리에 정착되는 비율이 낮았기 때문인 것으로 보인다고 하였다.

현재까지 신선농산물에 오염된 식중독세균의 전사체 연구는 분석에 충분한 양의 오염되지 않은 미생물 mRNA를 추출하는 것이 어렵기 때문에 연구수행이 제한적이었다. 이러한 문제점을 극복하게 되면 앞으로 많은 수의 연구가 진행될 수 있을 것으로 기대된다.

미생물 위해성평가 (Microbiological Risk Assessment, MRA)

식품에 오염된 유해미생물은 매우 우려되는 위해요소 중 하나로 소비자 보건에 상당한 위험 (risk)이 된다. 미생물 위해성 평가, 즉 MRA는 이러한 위험이 어디에 있는지를 판별하고 관리를 위해 정량화 하는 과정이라고 할 수 있다. UN산하 식량농업기구 (Food and Agriculture Organization)과 세계보건기구 (World Health Organization)가 공동으로 운영하는 국제식품규격위원회 (Codex Alimentarius Commission)는 MRA에 대한 기본적인 체계를 제시하면서 Hazard Identification, Hazard Characterization, Exposure Assessment, Risk Characterization의 구성요소로 되어 있다고 하였다 (Codex, 1999). 위해성평가는 위험분석 (Risk Analysis)의 한 요소인데 위험분석과 위해성평가, 그리고 위해성평가의 구성요소를 모식도로 나타내면 그림 2와 같다.

Hazard Identification은 위해요소가 어디에 있는지 그리고 종류가 무엇인지를 파악하는 단계이다. 그리고 이 위해요소와 연관되어 있는 식품의 종류를 조사하는 것도 이

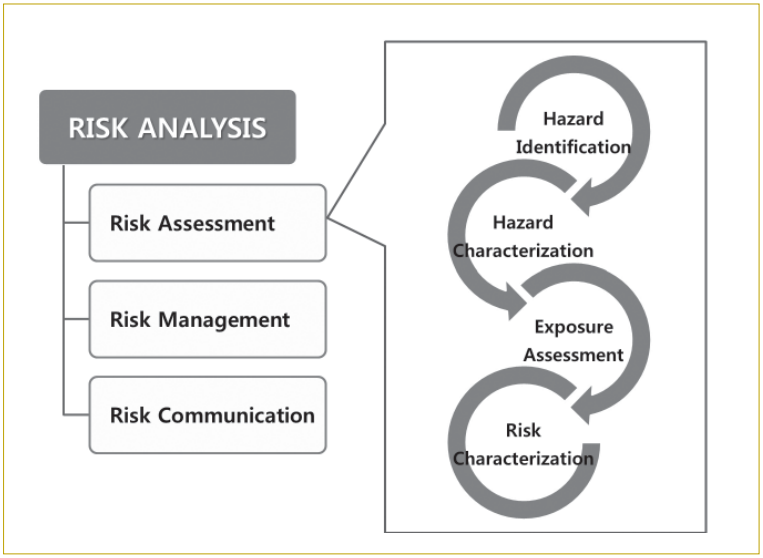

그림 2. 위험분석 (Risk Analysis)의 구성요소 및 위해성평가 (Risk Assessment)와의 관계 모식도

단계에서 이루어진다.

Hazard Characterization의 단계에서는 앞서 Hazard Identification 단계에서 파악한 위해요소에 취약한 소비자층은 누구인지를 밝히고, 이 위해요소가 어떤 기작으로 병을 유발하는지, 그리고 섭취 등을 통해 어느 정도의 양에 노출이 되었을 때 인체감염이 되거나 사망할 수 있는지를 구명하는 용량-반응평가 (Dose-Response Relationship)가 이루어진다.

Exposure Assessment의 단계에서는 앞서 파악된 위해요소와 이에 연관되어 있는 식품에 어느 수준의 위해요소가 분포할 수 있는지, 해당 식품이 얼마만큼 그리고 얼마나 자주 섭취되고 있는지를 평가하게 된다.

Risk Characterization은 Hazard Identification, Hazard Characterization, Exposure Assessment의 결과를 종합하여 해당 위해요소가 소비자에게 얼마만큼의 위험 (risk)이 될 수 있는지를 결정하고, 적용될 수 있는 위험 저감법이 있다면 어느 정도의 영향을 미치는지 평가한다. 또한 위해성평가는 예측치를 가지고 실시하게 되므로 이로 인한 불확실성 (uncertainty)을 Risk Characterization 단계에서 반영하여 최종적인 위험 (risk) 수준을 정량하게 된다.

미생물 위해성평가의 한 도구로서 식중독세균 전사체 정보 활용가능성

미생물 위해성평가에 대한 논의와 omics 기반 식품안전 분석기술의 발전은 최근에 매우 활발히 이루어져 왔다 (McMeekin et al., 2010). 더욱이 omics 기술분야는 비용이 급속히 낮아지면서 더욱 활용가능성이 높아지고 있다. 예를 들어, 유전체학 (genomics)을 이용하면 역학조사시 병원체에 대한 정확한 동정과 병원성 유전자의 유무를 동시에 판별함으로써 오염원인을 구명함과 동시에 어느 정도의 위험을 가지고 있는 위해요소인지를 평가하는 것이 가능해졌다. 그러나, 좀 더 정확하고 신뢰성 있는 미생물 위해성평가를 위해서는 평가 대상 식중독세균이 오염식품에서 어떠한 상태로 존재하고 있는지에 대한 명확한 이해가 선행되어야 한다. 특히, 신선 농산물은 가공된 식품과는 달리 식중독세균의 생존에 중대한 영향을 미칠 수 있는 식물체와의 상호작용, 식물체 토착미생물과의 상호작용 등 예측하기 어려운 여러 요인이 있기 때문에 이에 대한 이해를 가지고 미생물 위해성평가를 수행하는 것이 바람직하다. 다른 omics기법인 전사체학 (transcriptomics)이나 단백질체학 (proteomics), 또는 대사체학 (metabolomics)은 식중독세균이 외부 자극에 어떻게 반응하고 상호작용하는지를 *in situ* 상태에서 알 수 있게 해주는 유용한 도구로 사용될 수 있다. 전사체학의 예를 들면, 신선농산물에 오염되어 있는 식중독세균의 전사체를 분석함으로써 어떤 유전자를 이용하여 생존하고 있는지, 어떤 스트레스가 식중독세균에게 가해지고 있는지, 그리고 병원성 유전자 발현의 유도 여부는 어떠한지 등 미생물의 생리학적 상태에 대한 다양한 정보를 알 수 있게 된다. 또한, 식중독세균의 기주가 아닌 신선농산물과는 어떠한 상호작용을 하는지에 대한 정보도 획득이 가능하여 좀 더 정확한 Hazard

Characterization이 가능해질 수 있다.

결 론

미생물 위해성평가를 실시할 때 Hazard Identification이나 Exposure Assessment에 비해 상대적으로 Hazard Characterization이 수행하기 어렵다. 그 이유는 미생물의 감염기작과 용량-반응평가에 대한 상당히 많은 지식과 정보가 축적되어야 정확한 수행이 가능해지기 때문이다. 그러나 이를 위한 실험지원자를 찾기가 어려워 실험 자체가 이루어지기 어려운 경우가 대부분이다. 미생물의 전사체 정보는 이러한 문제점을 보완할 수 있는 유용한 도구로 활용될 수 있다. 신선농산물 오염 식중독세균의 전사체 연구결과를 살펴보면 식중독세균은 신선농산물에서 영양분 부족, 산화적 환경 등 여러 스트레스 요인에 노출되어 있으면서 개체수 증식보다는 생물막을 형성하여 생존확률을 높이는 전략인 것으로 보인다. 즉, 식중독세균이 증식하기에 적합한 환경조건이 아닐 가능성이 크다고 볼 수 있으나 현재까지의 연구결과를 가지고 결론을 도출하기는 이르다. 본 보에서 소개한 신선농산물 오염 식중독세균의 전사체 연구는 과학적인 미생물 위해성평가 체계를 수립하기 위한 기반 구축단계로서 향후 자료의 축적량이 확대되고 데이터 분석방법이 정착되면 신선농산물의 미생물학적 안전성 구현에 상당한 기여를 할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ010145)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Barak, J.D., and Schroeder, B.K. 2012. Interrelationships of Food Safety and Plant Pathology: The Life Cycle of Human Pathogens on Plants. Ann Rev Phytopathol 50:241-266.

2. Batz, M.B., Hoffman, S., and Morris, J.G. 2011.Ranking the Risks: The 10 Pathogen-Food Combinations with the Greatest Burden on Public Health. University of Florida, Emerging Pathogens Institute, Gainsville, FL.

3. Berger, C.N., Sodha, S.V., Shaw, R.K., Griffin, P.M., Pink, D., Hand, P., and Frankel, G. 2010. Fresh Fruit and Vegetables as Vehicles for the Transmission of Human Pathogens. Environ Microbiol 12:2385-2397.

4. Brandl, M.T. 2006. Fitness of Human Enteric Pathogens on Plants and Implications for Food Safety. Ann Rev Phytopathol 44:367-392.

5. Brankatschk, K., Kamber, T., Pothier, J.F., Duffy, B., and Smits, T.H. 2014. Transcriptional Profile of Salmonella enterica subsp. enterica serovar Weltevreden during Alfalfa Sprout Colonization. Microbial Biotechnol 7:528-544.

6. Codex. 1999. Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment. CAC/GL-30.

7. DeWaal, C., and Bhuiya, F. 2007. Outbreaks by the Numbers: Fruits and Vegetables 1990-2005. Center for Science and the Public Interest.

8. FDA. 1998. Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition.

9. Fink, R.C., Black, E.P., Hou, Z., Sugawara, M., Sadowsky, M.J., and Diez-Gonzalez, F. 2012. Transcriptional Responses of Escherichia coli K-12 and O157:H7 Associated with Lettuce Leaves. Appl Environ Microbiol 78:1752-1764.

10. Goudeau, D.M., Parker, C.T., Zhou, Y., Sela, S., Kroupitski, Y., and Brandl, M.T. 2013. The Salmonella Transcriptome in Lettuce and Cilantro Soft Rot Reveals A Niche Overlap with The Animal Host Intestine. Appl Environ Microbiol 79:250-262.

11. Groisman, E.A., and Mouslim, C. 2006. Sensing by Bacterial Regulatory Systems in Host and Non-Host Environments. Nat Rev Microbiol 4:705-709.

12. Hou, Z., Fink, R.C., Sugawara, M., Diez-Gonzalez, F., and Sadowsky, M.J. 2013. Transcriptional and Functional Responses of Escherichia coli O157:H7 Growing in The Lettuce Rhizoplane. Food Microbiol 35:136-142.

13. Kroupitski, Y., Brandl, M.T., Pinto, R., Belausov, E., Tamir-Ariel, D., Burdman, S., and Sela Saldinger, S. 2013. Identification of Salmonella enterica Genes with A Role in Persistence on Lettuce Leaves during Cold Storage by Recombinase-Based in vivo Expression Technology. Phytopathol 103:362-372.

14. Kyle, J.L., Parker, C.T., Goudeau, D., and Brandl, M.T. 2010. Transcriptome Analysis of *Escherichiacoli* O157:H7 Exposed to Lysates of Lettuce Leaves. Appl Environ Microbiol 76:1375-1387.

15. McMeekin, T.A., Hill, C., Wagner, M., Dahl, A., and Ross, T. 2010. Ecophysiology of Foodborne Pathogens: Essential Knowledge to Improve Food Safety. Int J Food Microbiol 139 Suppl 1:S64-78.

16. Painter, J.A., Hoekstra, R.M., Ayers, T., Tauxe, R.V., Braden, C.R., Angulo, F.J., and Griffin, P.M. 2013. Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by Using Outbreak Data, United States, 1998-2008. Emerg Infect Dis 19:407-415.

17. Shendure, J., and Ji, H. 2008. Next-Generation DNA Sequencing. Nat Biotechnol 26:1135-1145.

18. Teplitski, M., Barak, J.D., and Schneider, K.R. 2009. Human Enteric Pathogens in Produce: Unanswered Ecological Questions with Drect Implications for Food Safety. Curr Opin Biotechnol 20:166-171.