

## ***E. coli* O157: H7'nin Aside Tolerans Kazanması ve Asidik Gıdalarda Önemi**

**Halil Tosun<sup>1</sup>, Şahika Aktuğ Gönül<sup>2</sup>**

### **Giriş**

*Escherichia coli* hayvanların ve insanların bağırsak sistemlerinin normal florasında bulunan zararsız bir bakteridir. Ancak insanlarda hastalıklara neden olan patojen türleri de bulunmaktadır. Bu patojen türler virülans özellikleri, patojenite mekanizmaları, klinik sendromlar ve O: H serotiplerine göre sınıflandırıldığında başlıca; enteropatogenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvasiv (EIEC), enterohemorajik (EHEC), difuz- adhering (DAEC) ve entero- agregativ (EaggEC) olmak üzere altı grupta toplanmaktadır (1).

*E. coli* O157: H7 EHEC grubu içinde bulunan bir serotip olup 1982 yılında gıda kaynaklı bir patojen olduğu tanımlanmıştır (2).

*E. coli* O157: H7 gram negatif basil, fakültatif anaerob, 37°C'de pH 7,2'de optimum üreyen , hareketli, % 6,5 NaCl içeren ortamda gelişebilen, donma sıcaklığına dirençli, ışınlamaya ve ısıl uygulamalara dirençsiz bir bakteridir. 24 saatte sorbitolü fermente edememesi, β- glukuronidaz enzim aktivitesine sahip olmaması ve 44-45°C'de gelişmemesi veya çok zor gelişebilmesi özellikleri ile diğer *E. coli* suşlarından ayrılır (1, 3).

*E. coli* O157: H7 *Shigella dysenteriae* tip 1'in ürettiği "shiga toksin" ile homolog yapıda "shiga benzeri toksin 1 (stx 1)" ve "shiga benzeri toksin 2 (stx 2)" olarak adlandırılan iki ayrı toksin üretir. Bu toksinler HeLa ve Vero doku kültürü hücrelerine toksik etki yaparlar. Bundan dolayı verotoksin 1 ve 2 (VT- 1 ve VT-2 ) olarak da adlandırılırlar. Günümüzde verotoksin üreten 100'den fazla *E. coli* serotipinin olduğu bilinmektedir. Ancak *E. coli* O157: H7 verotoksin üreten en önemli suş olup, bilinen en tehlikeli gıda kaynaklı patojen bakteriler arasında değerlendirilmektedir. H7 dışındaki diğer H tipleride tanımlanmıştır. Ancak bunlar verotoksijenik değildir (3).

*E. coli* O157: H7'nin enfektif dozu 100 hücreden daha azdır. İnsanlarda, hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olarak adlandırılan ve ölümlerle sonuçlanabilen hastalıklara neden olur. HC,

<sup>1</sup> Arş. Grv., Ege Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bornova/ İzmir

<sup>2</sup> Doç. Dr., Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova/ İzmir.  
Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [sahikaesen@yahoo.com](mailto:sahikaesen@yahoo.com)

krampı karın ağrıları ile başlar, 24- 48 saat içinde sulu diyare ile devam eder, diyare sırasında görülen kan artar ve dışkı tümüyle kan olur. Hastaların yarısında kusma görülürken ateş pek görülmez. Hastalık 3- 9 gün sürer. HUS *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu enfeksiyonların içinde en tehlikeli olanıdır.

Böbrek yetmezliğine yol açar. Hastalara diyaliz ve kan nakli gerekebilir. Merkezi sinir sistemi etkilenir. Sarılık, yüksek tansiyon veya kalp yetmezliğine yola açabilir. HUS'a stx 1 toksini neden olur ve hastalık ölümlerle sonuçlanabilir. TTP ise beyinde kan pıhtısına neden olur. Genellikle ölümler ancak HUS ve HC'e göre daha az görülür (1, 3). *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu enfeksiyonlarda HUS veya TTP görülme oranı % 20'dir. HUS gelişen vakaların %5'i ölümlerle sonuçlanmaktadır. Bu oran okul öncesi çocuklarda veya 65 yaşın üzerindeki yaşlılarda % 50'ye kadar yükselmektedir (4).

*E. coli* O157: H7'nin başlıca kaynağı sığırlar olmakla birlikte koyun, geyik, domuz, kedi, köpek ve kuşlar gibi diğer sıcak kanlı hayvanlarda da bulunabilmektedir. İnsanlara, taşıyıcı veya hasta hayvanla temas sonucu, kişiden kişiye bulaşma veya kontamine gıdanın tüketilmesi sonucu bulaşır. Suyun veya toprağın fekal yollarla kirlenmesi ise ekili alanlarda ürünlere taşınmasına neden olur. Geçmiş yıllarda meydana gelen *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu hastalıklarda, yetersiz ısıl işlem görmüş et ürünleri, çiğ süt, taze sıkılmış meyve suları, elma cideri, yoğurt, peynir, sosis, mayonez ve beyaz turp filizi gibi gıdaların rol oynadığı belirlenmiştir (5).

*E. coli* O157: H7 dondurulmuş veya soğukta saklanan ürünlere, düşük su aktivitesine sahip ürünlere ve asidik gıdalarda uzun süre canlılığını sürdürebilir. Bu ortamlarda karşılaştığı olumsuz çevre koşullarına adapte olarak direnç kazanabilir. Yapılan çalışmalar *E. coli* O157: H7'nin, pH 4,5- 5,5 değerlerinde bir ortama maruz kalması durumunda aside adapte olarak direnç kazandığını göstermektedir. Bu işleme Aside Tolerans Kazanma (Acid Tolerance Response, ATR) denir. ATR *E. coli* O157: H7'nin hem asidik gıdalarda hem de fermente gıdalarda aside direnç kazanarak canlılığını sürdürmesini sağlar. Ayrıca ATR *E. coli* O157: H7'nin enfektif dozunun çok düşük olmasına neden olan bir faktör olarak değerlendirilmektedir (6, 7).

## ***E. coli* O157: H7'de Aside Tolerans Kazanma**

*E. coli* O157: H7, yüksek asitli ortamlarda canlılığını devam ettirmesine olanak sağlayan üç farklı direnç mekanizmasına sahiptir. Bunlar asitle indüklenen arjinin dekarboksilaz, asitle indüklenen glutamat dekarboksilaz ve asitle indüklenen oksidatif sistemlerdir. İlk iki sistemin çalışması için ortamda arjinin veya glutamatın bulunması gereklidir. Bazı koşullarda her iki sistem de aynı anda aktif olabilir. Üçüncü sistem duraklama fazı döneminde aktiftir ve karbondihidrata gerek duymadan çalışabilir. Bu sistemler bir yandan bakterinin asidik gıdalarda yaşamını sürdürmesine olanak tanırken diğer taraftan sindirim sisteminde karşılaştığı asidik ortama direnç göstererek hastalık yapma gücünü artırır (8, 9). Bu sistemler *E. coli* O157: H7'de doğal olarak bulunur ve nötral pH'larda bulunan bakterinin pH 3,0 veya daha altındaki bir ortama maruz kalması durumunda indüklenir. Bu sırada asit şok proteinleri sentezlenmez.

*E. coli* O157: H7 bir başka aside direnç mekanizmasında, eğer pH 4,5- 5,5 değerlerine sahip bir ortamda uzun süre (18 saat) kalırsa aside direnç kazanabilir. Bu hücreler pH 3,0- 3,5 değerleri arasındaki ortamlara, pH 7,0'de üreyen hücrelere göre daha fazla direnç kazanırlar. Bu işleme aside alıştırma (acid habituation) denir (8, 10).

Bir başka aside adapte olma şekli *E. coli* O157: H7'nin aside tolerans kazanmasıdır (ATR). ATR ilk defa *Salmonella typhimurium*'da keşfedilmiş bir sistemdir. Bu sistem bakterinin hafif asidik bir ortama kısa bir süre maruz kalması durumunda indüklenir ve letal pH değerlerinde yaşamını sürdürmesine olanak sağlar (11). ATR iki basamaktan oluşur, önce bakteri pH 4,5- 5,5 değerleri arasındaki bir ortama kısa süre maruz kalır. Bu olaya asit şoku denir. Asit şoku sırasında bakteri asit şoku proteinlerini sentezler. Daha sonra bakteri letal pH değerlerine sahip kalması durumunda aside direnç kazanarak yaşamını sürdürür (12). ATR'de asit şoku proteinlerinin sentezlenmesini özel genler sağlar. Bu proteinler bakteriyi asidin zararlı etkisinden korur.

Heyde and Portalier (13), *E. coli* O157: H7'nin bulunduğu ortam pH'sının 6,9'dan 4,3'e düşmesi durumunda en az 16 polipeptitin sentezlendiğini bulmuştur. Bunlardan 7 tanesi asit şoku proteini olarak tanımlanmıştır. Bu proteinlerin indüksiyonunu rpo-sigma faktörü düzenler.

Bir hipoteze göre ineğin sindirim sistemi bahsedilen bu aside tolerans kazanma mekanizmalarından bir veya daha fazlasının indüklenmesine olanak sağlamaktadır. Kontamine olmuş gıdanın yenmesiyle daha önceden aside adapte olan bakteri, konakçının midesinden geçerek bağırsaklarda kolonize olmakta ve enfeksiyona neden olmaktadır. Aside direnç sistemleri soğukta depolama boyunca da etkinliğini devam ettirmektedir. *E. coli* O157: H7, et ürünlerine veya diğer gıdalara bulaştığında gıda uygun koşullarda depolansa bile aside direnç özelliğini korumaktadır (9). Ancak *E. coli* O157: H7'nin aside tolerans kazanmasına, bakterinin üreme dönemi, ortamın pH'sı, ortamda bulunan asidin cinsi, ortamın içeriği gibi faktörlerin etki ettiği de unutulmamalıdır (10, 14).

## **Çapraz Direnç**

Çapraz direnç (cross protection) bakterinin karşılaştığı strese adapte olurken aynı anda diğer streslere de adapte olarak direnç kazanması olarak tanımlanır. *E. coli* O157: H7'de çevresel streslere direnç sağlayan en önemli gen rpoS genidir. Birçok araştırmacı rpoS geninin regule ettiği proteinlerin açlıkla (starvation) indüklendiğini, sıcaklık ve asitde dahil olmak üzere farklı streslere karşı çapraz koruma sağladığını belirtmiştir (15, 16).

Bazı dondurulmuş ürünlerde, soğuk şokuna maruz kalan *E. coli* O157: H7'nin soğuk şokuna maruz kalmayan hücrelere göre daha uzun süre canlı kaldığı görülmüştür. Ancak önceden pH 5,0'te aside adapte edilen hücrelerde bu etki oluşmamaktadır (17). Ayrıca soğuk stresi *E. coli* O157: H7'nin sıcaklığa olan direncini düşürürken donma çözünme direncini artırmaktadır. Donma çözünme direnci ise *E. coli* O157: H7'nin aside adapte olması durumunda artmaktadır. Açlık stresi de *E. coli* O157: H7'nin donma çözünme direncini artırmaktadır (15, 16, 18).

*E. coli* O157: H7'de subletal ısıl uygulamaların, bakterinin aside olan toleransını artırdığı bilinmektedir. Bu çapraz koruma sıcaklık ve asit şoku proteinlerinin sentezlenmesi ile meydana gelir. Bu özellik hafif ısıtma işlemi uygulandıktan sonra asidik koruyucu kullanılan gıdalarda *E. coli* O157: H7'nin uzun süre canlı kalmasını sağlayabilir (19).

## Kaynağı Ve Enfeksiyonda Rol Oynayan Gıdalar

*E. coli* O157: H7'nin kaynağı sığırlar olarak kabul edilmekle birlikte, sıcak kanlı hayvanlarda ve insanda da görüldüğü bildirilmektedir. Bu bakteri dışkı ile ete, süte, toprağa, suya ve dolayısıyla tüm çevreye yayılmaktadır (1).

*E. coli* O157: H7 birçok yolla insanlara bulaşarak hastalıklara yol açabilir. Mezbahanelerde derinin yüzülmesi veya iç organların çıkarılması sırasında ete bulaşabilir veya *E. coli* O157: H7 ile enfekte olmuş hayvanla temas sonucu çalışanlara geçebilir. Bazı durumlarda gıda çalışanları da bu bakterinin yayılmasına neden olabilir. *E. coli* O157: H7 ile kontamine olmuş gübreler, kullanıldıkları tarımsal alanlara bu bakteriyi taşır ve bu alanlarda yetişen ürünlere bulaşmasına neden olur. Ayrıca *E. coli* O157: H7 ile kontamine olmuş suların ekili alanlarda kullanılması da bakterinin gıdalara bulaşmasına neden olur (5).

Et ürünleri, çeşitli peynirler, çiğ süt, patojen bakteriler açısından güvenilir gıdalar grubuna giren yoğurt, meyve suları, salatalar, salata sosları, sandviç, turp filizi, pastörize edilmemiş elma şarabı, taze sıkılmış meyve suyu *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu zehirlenmelerde rol oynayan gıdalara örnek olarak verilebilir (1). Amerika'da 1982- 1997 yılları arasında *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu hastalık vakalarının %52'si sığır etinden yapılan ürünler, %16'sı kişiden kişiye bulaşmalar, %14'ü meyve ve sebze tüketimi, %12'si su ve %5'i diğer gıdaların tüketimi sonucu meydana gelmiştir. Amerika Hastalık Önleme Merkezinin (US Center for Disease Control) raporuna göre Amerika'da yılda 20.000 EHEC vakası meydana gelmekte, bu vakalarda 250 kişi ölmekte ve 250- 500 milyon dolar zarar meydana gelmektedir. Amerika, Arjantin, Avusturya, Belçika, Danimarka, Almanya, İtalya, İsrail, İsviçre ve Güney Afrika *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu gıda kaynaklı hastalıkların görüldüğü ülkelere örnek olarak verilebilir (20). Bugüne kadar görülen *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu en önemli hastalık salgını, 1996 yılında Japonya'nın Sakai şehrinde okullarda yemekte verilen beyaz turpun yenmesi sonucu meydana gelmiştir. Bu vakada 5727 kişi hastalanmıştır. Bu rakam şehir nüfusunun %0,5'ini meydana getirmektedir (20). Tablo 1'de *E. coli* O157: H7'den kaynaklanan hastalıklarda rol oynayan gıdalar ve olası bulaşma nedenleri gösterilmiştir.

Amerika'da pastörize edilmeden yapılan elma cideri ve taze sıkılarak tüketilen elma suyunun tüketilmesi sonucu *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu bir çok hastalık vakaları meydana gelmiştir. Bu vakaların birçoğunda ishal ve HUS' un geliştiği görülmüştür. Elma bahçelerinde yere düşen ve toprakla veya gübreyle temas eden elmalara *E. coli* O157: H7'nin bulaştığı sanılmaktadır. Bu vakalardan sonra araştırmacılar elma ciderinde *E. coli* O157: H7'nin canlılığını araştırmışlar ve 4°C'de soğukta depolama süresince elma ciderinde bakterinin haftalarca canlı kalabileceğini tespit etmişlerdir (21, 22, 23, 24).

Tablo 1. *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu gıda kaynaklı hastalıklar ve olası bulaşma nedenleri (5).

Yıl ve Ülke	Organizma ve Toksin	Ürün	Olası bulaşma nedeni
1992-1993 ABD	<i>E. coli</i> O157: H7 Stx 1 ve Stx 2	Köfte (beefburger)	Kontamine etin yetersiz pişirilmesi, <i>E. coli</i> O157: H7'nin tüketime kadar üründe canlı kalması
1994-1995 Avusturya	VTEC O111: NM	Çiğ fermente et ürünü	Çiğ etin kontaminasyonu, yetersiz işlem kontrolü, son ürüne çapraz bulaşma
1991 ve 1996 ABD	<i>E. coli</i> O157: H7	Taze sıkılmış elma suyu	Elmaların yere düşmesi ve kontamine gübre ile teması, yetersiz yıkama işlemi, <i>E. coli</i> O157:H7'nin düşük pH ve soğukta meyve suyunda canlı kalması
1996 ABD	<i>E. coli</i> O157: H7	Salata	Tarım alanlarının kontamine su ile sulanması, bu alanlara hayvanların girmesi, yıkama suyunun kontamine olması, hijyenik koşulların yetersizliği
1996 Japonya	<i>E. coli</i> O157: H7 Stx 1 ve Stx 2	Beyaz turp filizi içeren okul yemeği	Filizlenmeden önce kontaminasyon, yıkama sırasında canlı kalması çimlenme sırasında üreme

*E. coli* O157: H7 sucuğun fermentasyonu, kurutulması ve depolanması aşamalarında canlı kalabilir. Coşansu ve Ayhan (25), *E. coli* O157: H7'nin vakumla paketlenmiş sucuklarda 2 ay, vakumla paketlenmemiş sucuklarda 1 ay canlı kalabileceğini tespit etmiştir. Sosis üretiminde de *E. coli* O157: H7 fermentasyon, kurutma ve depolama aşamalarında canlılığını sürdürebilmektedir (26).

Cutter and Siragusa (27), sığır karkaslarına bulaşan *E. coli* O157: H7'nin organik asitlerle karkasa yapılan duşlama işlemi ile tamamen yok edilemeyeceğini göstermiştir. Asidik gıdalarda yapılan çalışmalar, bakterinin aside tolerans kazanması durumunda, mayonez, ketçap ve bazı meyve sularında aside olan direncini artırabileceğini göstermiştir (7, 28, 29).

## Kontrolü ve Önlenmesi

*E. coli* O157: H7'nin temel kaynağının sığırlar olduğu düşünüldüğünde öncelikli önlemlerin besi çiftliklerinde ve mezbahalarda alınması gerekir. Ahırların temizliğine özen gösterilmelidir. Süt sağımı sırasında inek mümkün olduğu kadar temiz olmalı ve süte *E. coli* O157: H7'nin kontaminasyonu engellenmelidir. Hayvanlara verilen yemlerde *E. coli* O157: H7 kontaminasyonu olmamalıdır. Hayvan gübrelerinden veya diğer kaynaklardan suya fekal kontaminasyon engellenmeli, atık sular mutlaka arıtılmalıdır.

Kesimden önce hayvan iyice temizlenmeli, kasaplar kesim sırasında karkasa fekal bulaşmayı engelleyecek iyi kesim teknikleri kullanılmalıdır. Ayrıca karkaslar arasında kontaminasyonun engellenmesi için temiz kesim malzemeleri kullanılmalıdır.

Tarım alanlarında eğer mahsul çiğ olarak tüketiliyor veya yeterli ısıl işlem uygulanmadan tüketiliyorsa bu alanlarda kesinlikle hayvan dışkısından elde edilen gübreler kullanılmamalıdır. Ayrıca fekal kontaminasyon tehlikesi varsa dalından toprağa düşen meyveler toplanmamalıdır.

Üretilen mamule uygulanan muhafaza yöntemleri gıdanın güvenliğini sağlamıyorsa, gıdaya *E. coli* O157: H7'nin yok edilmesini sağlayan bir işlem mutlaka uygulanmalıdır. Örneğin Amerika da fermente et ürünlerinde ete uygulanan işlemlerin *E. coli* O157: H7 sayısını 5 log birim azaltacak nitelikte olması istenmektedir. Isıl işlem basamağı olmayan ürünlerde fermentasyon sonunda gıdanın pH'sı 4,6'ya ulaştığında 32,2°C' de 6 veya daha fazla gün, 43,3°C' de ise 4 veya daha fazla gün depolanmasının *E. coli* O157: H7 açısından güvenliği sağlayacağı bildirilmektedir (5).

## Sonuç

*E. coli* O157: H7 belirli koşullar altında aside tolerans kazanabilir. Bu durumda fermente gıdalar ve asidik gıdalarda canlılığını uzun süre devam ettirebileceği gibi diğer çevresel streslere karşı da direnç kazanabilir. *E. coli* O157: H7'nin aside tolerans kazanması mide ve bağırsaklarda aside direnç kazanmasını sağlayacağından enfektif dozunun düşmesine ve hastalık yapma etkisinin artmasına neden olmaktadır. *E. coli* O157: H7'nin bu özellikleri düşünüldüğünde gıdalara bulaşmasının engellenmesi temel hedef olmalıdır. *E. coli* O157: H7 sıcaklığa dirençli değildir. Uygun koşullarda yapılan pastörizasyon koşullarında ölür ancak ısıl işlem uygulanmadan tüketilen ürünlere *E. coli* O157: H7'yi uzaklaştırılacak bir işlem mutlaka uygulanmalıdır.

Taze et, süt ürünleri, çiğ tüketilen ürünler ve fermente ürünlerde *E. coli* O157: H7'yi elimine edecek yöntemler geliştirilmelidir. Ayrıca tüm EHEC türlerinin tespitini sağlayan rutin yöntemler geliştirilmeli ve O157: H7 olmayan ve verotoksin üretmeyen diğer suşların da gıda kaynaklı zehirlenmelerdeki rolleri belirlenmelidir. *E. coli* O157: H7'nin bulaşması muhtemel olan gıdalar için hazırlanan standartlarda bu olasılık dikkate alınarak yeniden değerlendirilmelidir.

## Kaynaklar

- 1.Halkman, A. K., Noveir, M. R. ve Doğan, H. B., 2001, *Escherichia coli* O157: H7 Serotipi, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 43s.
2. Padhye, N. V., and Doyle, M. P., 1992, *Escherichia coli* O157: H7: Epidemiology, Pathogenesis and Methods for Detection in Food, Journal of Food Protection, 55: 555- 565.
3. Coia, J. E., 1998, Clinical, Microbiological and Epidemiological Aspects of *Escherichia coli* O157: H7 Infections, FEMS Immunology and Medical Microbiology, 20: 1-9.

4. Todd, W. T. A., and Dundas, S., 2001, The Management of VTEC O157 Infection, *International Journal of Food Microbiology*, 66: 103- 110.
- 5 . Bell, C., 2002, Approach to the Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), *International Journal of Food Microbiology*, 78: 197- 216.
6. Leenanon, B., and Drake, M. A., 2001, Acid Stress, Starvation and Cold Stress Affect Post stress Behavior of *Escherichia coli* O157: H7 and Non-pathogenic *Escherichia coli*, *Journal of Food Protection*, 64 (7): 970- 974.
7. Hsin- Yi, C., and Chou, C., 2001, Acid Adaptation and Temperature Effect on the Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in Acidic Fruit Juice and Lactic Fermented Milk Product, *International Journal of Food Microbiology*, 70: 189- 195.
8. Bearson, S., Bearson, B., and Foster J. W., 1997, Acid Stress Responses in Enterobacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 147: 173- 180.
9. Lin, J., Smith, M. P., Chopin, K. C., Baik, H. S., Bennett, G. N., and Foster, J. W., 1996, Mechanisms of Acid Resistance in Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (9): 3094- 3100.
10. Buchanan, R. L., and Edelson, R. L., 1999, pH- Dependent Stationary- Phase Acid Resistance Response of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in the Presence of Various Acidulants, *Journal of Food Protection*, 62 (3): 211- 218.
11. Foster, J. W., and Hall. H. K., 1990, Adaptive Acidification Tolerance Response of *Salmonella typhimurium*, *Journal of Bacteriology*, 172 (2): 771- 778.
12. Brudzinski, L., and Harrison, M. A., 1998, Influence of Incubation Conditions on Survival and Acid Tolerance Response of *Escherichia coli* O157: H7 and Non- O157: H7 Isolates Exposed to Acetic Acid, *Journal of Food Protection*, 61 (5): 542- 546.
13. Heyde, M., and Portalier, R., 1990, Acid Shock Proteins of *Escherichia coli*, *FEMS Microbiology Letters*, 69: 19- 26.
14. Hsin- Yi, C., Chui- Yu, R., and Chou, C., 2002, Increased Acid Tolerance of *Escherichia coli* O157: H7 as Affected by Acid Adaptation Time and Conditions of Acid Challenge, *Food Research International*, (In press).
15. Arnold, K. V., and Kaspar, C. W., 1995, Starvation- and Stationary- Phase- Induced Acid Tolerance in *Escherichia coli* O157: H7, *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (5): 2037- 2039.
16. Cheville, A. M., Arnold, K. V., Buchrieser, C., Cheng, C. M., and Kaspar, C. W., 1996, rpoS Regulation of Acid, Heat, and Salt Tolerance in *Escherichia coli* O157: H7, *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (5): 1822- 1824.
17. Bollman, J., Ismond, A., and Blank, G., 2001, Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in Frozen Foods: Impact of the Cold Shock Response, *International Journal of Food Microbiology*, 64: 127- 138.
18. Goldstain, J., Pollitt, N. S., and Inouye, M., 1990, Major Cold Shock Protein of *Escherichia coli*, *Proceedings of the National Academy Science*, 87: 283- 287.
19. Wang, G., and Doyle, M. P., 1998, Heat Shock Response Enhances Acid Tolerance of *Escherichia coli* O157: H7, *Letters in Applied Microbiology*, 26: 31- 34.

20. Anonymous. 1997, Report of WHO Consultation on Prevention and Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Infections, WHO/ FSF/ FOS/ 97.6 WHO Report, Geneva, Switzerland.
21. Miller, L. G., and Kaspar, C. W., 1994, *Escherichia coli* O157: H7 Acid Tolerance and Survival in Apple Cider, *Journal of Food Protection*, 57 (6): 460- 464.
22. Leyer, G. J., Wang, L., and Johnson, E. A., 1995, Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157: H7 Increases Survival in Acidic Foods, *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (10): 3752- 3755.
23. Ryu, J., and Beuchat, L. R., 1998, Influence of Acid Tolerance Responses on Survival, Growth, and Thermal Cross- Protection of *Escherichia coli* O157: H7 in Acidified Media and Fruit Juices, *International Journal of Food Microbiology*, 45 (3): 185- 193.
24. Zhao, T., Doyle, M. P., and Besser, R. E., 1993, Fate of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in Apple Cider With and Without Preservatives, *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 2526- 2530.
25. Coşansu, S., and Ayhan, K., 2000, Survival of enterohaemorrhagic *E. coli* O157: H7 strain in Turkish soudjouck during fermentation, drying and storage periods, *Meat Science*, 54(4): 407-411.
26. Glass, K. A., Loeffelholz, J. M., Ford, J. P., and Doyle, M. P., 1992, Fate of *Escherichia coli* O157: H7, as Affected by pH or Sodium Chloride and in Fermented, Dry Sausage, *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (8): 2513- 2516.
27. Cutter, C. N., and Siragusa, G. R., 1994, Efficacy of Organic Acids Against *Escherichia coli* O157: H7 Attached to Beef Carcass Tissue Using a Pilot Scale Model Carcass Washer, *Journal of Food Protection*, 57 (2): 97- 103.
28. Tsai, Y., and Ingham, S. C., 1997, Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella spp.* in Acidic Condiments, *Journal of Food Protection*, 60 (7): 751- 755.
29. Weagant, S. D., Bryant, J. L., and Bark D. H., 1994, Survival of *Escherichia coli* O157 H7 in Mayonnaise and Mayonnaise- Based Sauces at Room and Refrigerated Temperatures, *Journal of Food Protection*, 57 (7): 629- 631.