

계육에 오염된 *Campylobacter* 균의 불활성화 평가

장금일* · 정현상 · 김정호¹ · 김광엽
충북대학교 식품공학과, ¹서원대학교 식품영양학과

Assessment of Inactivation for *Campylobacter* spp. Attached on Chicken Meat. Jang, Keum-II*, Heon-Sang Jeong, Chung-Ho Kim¹, and Kwang-Yup Kim. Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea, ¹Department of Food and Nutrition, Seowon University, Cheongju, 361-742, Korea – The inactivation efficiency of *Campylobacter jejuni* were assessed *in vitro* and *in vivo* using confocal laser microscopy and flow cytometry. *C. jejuni* cells were inactivated with 1% (w/v) trisodium phosphate (TSP) and the live cells and inactivated cells were distinguished by staining with LIVE/DEAD BacLight Bacteria Viability fluorescent probe. After treatment of TSP for 5 min, most of *C. jejuni* cells turned to coccoid form from original spiral shape. *C. jejuni* cells lost total cell viability in the absence of organic nutrients but did not lost total cell viability in the presence of organic nutrients. *In vivo* test, *C. jejuni* cells turned to viable but non-culturable (VBNC) form after TSP treatment and remained alive on chicken skin. *C. jejuni* cells attached on chicken meat would transform to coccoid form by sanitizer treatment, but could possibly be alive by the benefits of organic nutrients present in chicken meat.

Key words: *Campylobacter jejuni*, confocal microscopy, flow cytometry, sanitizer, trisodium phosphate

Campylobacter 균에 의한 식중독은 전세계적으로 *Salmonella* 균과 함께 가장 빈번하게 발생하고 있는 식중독 중 하나로 알려져 있으며, 식중독을 일으키는 *Campylobacter* 균 중 약 90%는 *Campylobacter jejuni*로 보고되었다[1, 2].

Campylobacter 균은 만곡형의 S자 또는 나선형의 간균으로 너비 0.2~0.5 μm , 길이 0.5~5 μm 이며, 그람 음성, 무포자형성균이다. 그리고 *Campylobacter* 균의 모든 균들은 미호기성균으로 산소에 매우 민감하여 생장에 낮은 산소압만을 요구하는데, 종에 따라 미호기 혹은 혐기에 가까운 조건에서 증식할 수 있는 것도 있지만, 보통 3%~15%의 O_2 와 3~5%의 CO_2 를 포함한 공기 중에서 가장 잘 자란다[3]. 그리고 *Campylobacter* 감염증(Campylobacteriosis)을 일으키는 감염량은 매우 소량으로 약 500~800개 정도의 균수로도 감염을 일으킬 수 있는데, 유아, 어린이 및 면역이 저하된 사람들의 감염율이 높다. 또한 이러한 Campylobacteriosis의 감염 후유증으로 Guillain Barre syndrome(GBS)과 Reiter syndrome이 알려져 있다[4, 5]. 또한 Person-to-person에 의한 전이가 알려져 있지만 서구 사회에서는 거의 드문 경우이며 닭, 칠면조 및 원유 등이 감염증의 주요 원인식품으로 알려져 있다. 이 밖에도 미국의 Food and Drug Administration(FDA)에서는 *Campylobacter* 균 전파의 매개가 되는 식품으로 버섯, 날생선 혹은 덜 익힌 생선, 조개 및 굴류 등을 제시하고

있다[6, 7].

생장에 불리한 조건하에서 *Campylobacter* 균은 viable morphology에서 coccoid form으로 변화하는데, 이러한 변화는 생장 중 정지기에서 정상적인 일로써, 다른 curved 또는 vibrioid bacteria(*Helicobacter pylori*, *Vibrio vulnificus*)에서도 보고되어 왔으며, rounded cell shape으로의 전환은 정지기에 있는 *Escherichia coli*에서도 나타나는 것으로 보고되었다[8-11]. 이와 같이 coccoid cells로 변형된 균은 viable하지만 배지상에서 정상적으로 생장을 유지시킬 수 없다는 의미에서 viable but non-culturable(VBNC) 형태라고 불리우는데 [8, 12, 13], VBNC *Campylobacter* 균으로 오염된 것을 섭취 시 장내에서 다시 나선형으로 바뀌어 활성을 가짐으로써 감염을 일으킨다고 보고된 바 있다[14, 15]. 그러므로 VBNC *Campylobacter*의 잠재적인 전염병학적 중요성의 관점에서 볼 때 매우 중요한 문제라고 볼 수 있다. 따라서 *Campylobacter* 균에 의한 식중독을 예방하기 위해서는 식품 중에 오염되어 있는 *Campylobacter* 균을 불활성화시킬 수 있는 방법 개발이 필요하다고 볼 수 있다. 이와 같은 방법을 개발하기 위해 유기산, nisin, cetylpyridinium chloride(CPC) 및 trisodium phosphate(TSP)와 같은 다양한 위생제를 이용하여 *Campylobacter* 균을 불활성화시키기 위한 다양한 연구가 진행되고 있는데, 일반적으로 위생제 처리에 의한 *Campylobacter* 균의 불활성화 평가는 기존의 plate count 방법과 같은 *in vitro* 방법에 의한 평가에 의존하고 있는 실정이다[16-20]. 이와 같은 *in vitro* 방법으로는 *Campylobacter* 균의 특성 및 VBNC 형태로의 존재 등과 같은 요인 때문에 식품 중에 존재하는

*Corresponding author
Tel: 82-43-261-2568, Fax: 82-43-271-4412
E-mail: jangki@hanmail.net

Campylobacter 균에 대한 불활성화 효과를 정확하게 분석하기에는 매우 미흡한 실정이다. 그러므로 다양한 위생제 처리에 의한 식품 중 *Campylobacter* 균의 불활성화 효과에 대한 보다 정확한 평가 방법의 개발이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 식품 중 식중독균의 불활성화를 평가하기 위한 방법 개발의 일환으로 TSP 처리에 의한 식품 중 *Campylobacter* 균의 불활성화에 대하여 *in vivo* 상태에서 직접적으로 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 계육

미국 American Type Culture Collection(ATCC)에서 분양받은 *Campylobacter jejuni* ATCC 33291를 FBP(ferrous sulfate, sodium metabisulfite 및 sodium pyruvate)가 첨가된 Brucella broth(Difco, Maryland, USA)에 접종하여, 5% oxygen, 10% carbondioxide의 조성을 만드는 *Campylobacter* Microaerophilic System(Difco, Maryland, USA)을 넣어둔 3.5L Anaerobic Jar(Difco, Maryland, USA)에 넣고 42°C에서 48시간 동안 배양하여 사용하였으며, 균체의 보관은 고체배지에 도말한 후 4°C에 보관하여 7일마다 계대 배양하였다. 그리고 계육은 시중에서 판매되고 있는 닭을 구입하여 사용하였다.

사용배지

C. jejuni ATCC 33291를 배양하고자 사용한 FBP-Brucella broth는 Brucella broth에 0.9 mM ferrous sulfate, 1.3 mM sodium metabisulfite와 2.3 mM sodium pyruvate (Sigma, USA)를 가하여 121°C에서 15분간 습열 멸균한 후 60°C로 식혀 1 L당 10 mg vancomycin, 5 mg trimethoprim lactate, 20,000 IU polymyxin B, 50 mg cycloheximide (Sigma, USA)를 가하여 사용하였다. 액체배지에는 3% bovine calf serum(Hyclone, USA)을, 고체배지에는(2% agar 함유) 10% defibrinated sheep blood(Korea media, KOREA)를 첨가하여 사용하였다[1].

Confocal microscopy를 이용한 계육에서 *Campylobacter* 균의 오염 부위 관찰

10⁶ CFU/mL로 배양된 1 mL의 *C. jejuni*를 원심분리(9,000 rpm, 4 min)하고, 0.03%(w/v) FITC(fluorescein isothiocyanate, sigma, USA)로 10분간 염색한 후 멸균증류수로 원심분리(9,000 rpm, 4 min)하여 3회 수세하였다. 그리고 계육의 가슴부위의 표피를 멸균된 칼과 테프론으로 피복된 핀셋을 이용하여, 1×1 cm²로 떼어내 0.1%(w/v) pyronin Y(sigma, USA)로 10분간 염색을 하고, 멸균증류수에 1분간 침지, 3회 수세를 한 후 slide glass에 올려놓고 풍건시켰다. 그리고 FITC로 염색되어진 *C. jejuni*를 pyronin Y로 염색된 계육의 표피에 접종하고, 15분간 정치시켜 부착시킨 다음, 5

mL 피펫으로 멸균증류수를 흘려 세척한 후 cover glass로 덮고 테이프로 고정시켰다. 그리고 confocal laser scanning microscopy(CLSM, MRC-1024, Bio-Rad Inc., Kr/Ar Ion Laser)를 이용하여 optical sectioning으로 오염 부위와 흡착 상태를 관찰하였다.

CLSM과 Flow cytometry를 이용한 *Campylobacter* 균의 불활성화 평가

42°C에서 48시간 동안 FBP-Brucella broth에서 배양된 *C. jejuni*를 원심분리(9,000 rpm, 4 min)하여, 배지성분을 제거시킨 1 mL와 배지성분을 잔존시킨 1 mL에 각각 동량의 1%(w/v) TSP(trisodium phosphate) solution을 첨가하여 5분 및 30분 동안 불활성화 시켰다. 그리고 불활성화된 각각의 *C. jejuni*를 원심분리(9,000 rpm, 4 min)하여 균주만 회수하고, 멸균증류수로 원심분리(9,000 rpm, 4 min)하여 2회 수세한 후 최종 100 μL가 되도록 조절하였다. 그리고 동량의 LIVE/DEAD BacLight Bacteria Viability probe(L-7007, Molecular Probes, USA)를 *C. jejuni*에 첨가하여 10분간 염색하고, slide glass에 100 μL를 올려놓은 다음, cover glass로 덮고 테이프로 고정한 후 CLSM의 optical sectioning을 이용하여 *C. jejuni*의 불활성화 효과를 관찰함과 동시에 flow cytometry(FACSCalibur, Becton Dickinson, Ar Ion laser)의 FL1(530±15 nm, green color filter)과 FL3(650nm 이상, red color filter) 및 SSC(side scatter)와 FSC(forward scatter) 결과를 서로 비교하여 TSP에 의한 *Campylobacter* 균의 불활성화 효과를 관찰하였다.

계육 표면에서의 *Campylobacter* 균의 직접적인 불활성화 평가

계육의 가슴 부위 표피를 멸균된 칼과 테프론으로 피복된 핀셋을 이용하여 1×1 cm²로 떼어내어, FBP-Brucella 배지에서 48시간 동안 배양시킨 *C. jejuni* 배양액에 각각 15분간 넣어 오염시켰다. 그리고 5 mL 피펫으로 멸균증류수를 흘려보냄으로서 계육 표피에 부착되지 않은 균을 세척한 후 대조구로서 TSP를 처리하기 전에 LIVE/DEAD BacLight Bacteria Viability probe(L-7007)로 염색하였고, 불활성화를 비교하기 위해 1%(w/v) TSP solution에 5분간 침지시켜 불활성화를 유도한 후 5 mL 피펫으로 멸균증류수를 흘려 수세하였다. 그리고 LIVE/DEAD BacLight Bacteria Viability probe(L-7007)로 염색하고, 대조구와 함께 slide glass에 올려놓은 다음, cover glass로 덮고 테이프로 고정시켜 계육에 오염된 *Campylobacter* 균에 대한 불활성화 효과를 CLSM의 optical sectioning 방법으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

계육에서 *Campylobacter* 균의 오염 부위 관찰

계육에서 *Campylobacter* 균은 주로 표피의 주름진 틈 사

이에서 부착되어 존재하였고, 모공 주변의 수분에 포집되어 존재하는 균도 관찰되었다. 또한 부착된 *Campylobacter* 균은 나선형의 활성상태 뿐만 아니라 viable하지만 정상적으로 생장을 유지시킬 수 없다는 구형(VBNC)의 형태로도 오염부위에 부착되어 있었다(Fig. 1). 이는 *Salmonella* 균이 계육표면의 주름진 부위에 부착된다는 Kim 등[21]의 보고를 통해 *Salmonella* 균과 *Campylobacter* 균이 동일한 오염부위를 갖는다고 볼 수 있고, 또한 Chung 등[22]이 보고한 lean 또는 fat 조직에 식중독성 미생물이 부착되는 동안 경쟁적인 상호작용은 없다는 내용으로 미루어 볼 때, *Salmonella* 균과 *Campylobacter* 균이 계육에 오염될 경우 상호 경쟁적으로 부착하는 경우보다는 서로 공존할 것으로 사료되어진다. 그리고 구형으로 변한 VBNC *Campylobacter* 균도 여전히 부착능이 있음을 확인할 수 있었는데, 구형의 *Campylobacter* 균을 사료와 함께 먹인 동물에서 나선형의 활성 *Campylobacter* 균이 분리되었다는 보고[14, 15]와 *Campylobacter* 균종에 따라 VBNC 형으로 변한 균이 생육 가능 조건에서 다시 나선형의 활성 균으로 회복된다는 보고[12, 23]를 통해 VBNC *Campylobacter* 균의 계육에서 오염은 *Campylobacter* 균에 의한 식중독을 억제하는데 있어 가장 큰 문제점이라고 할 수 있다.

또한 식중독성 세균의 부착은 세균의 특성과 기질의 특성

에 따라 복합적으로 이루어지는데[24], 조직의 수분 흡수과정과 세균의 운동성 및 편모에 의해 그리고 세균 세포벽의 음전하와 세균의 상대적 소수성에 의하여 부착된다는 보고가 있다[25-27]. 이는 계육에서 식중독성 미생물의 오염은 오염되는 경로 및 계육에서의 잔존 상태 등의 다양한 특성에 좌우된다고 할 수 있으므로, 식중독을 예방하기 위해 처리되는 위생제의 효과를 *in vitro* 방법으로 평가하기에는 정확성이 떨어진다고 볼 수 있다. 특히 *Campylobacter* 균의 경우 VBNC 상태로 존재한다면 위생제의 효과를 *in vitro* 방법으로는 평가할 수 없을 것으로 사료되며, 따라서 위생제의 효과를 정확하게 평가하기 위해서는 식품 중에서 직접적으로 불활성화 효과를 관찰할 수 있는 방법이 필요하다.

CLSM과 Flow cytometry 이용한 *Campylobacter* 균의 불활성화 평가

Trisodium phosphate(TSP) 처리에 의한 *Campylobacter* 균의 불활성화를 CLSM과 flow cytometry를 이용하여 관찰한 결과(Fig. 2), CLSM에서 배지 성분(유기물)이 잔존하는 경우 *Campylobacter* 균은 구형으로 변화하였을 뿐 TSP에 의한 불활성화를 나타내지 않았다. 그러나 배지 성분(유기물)을 모두 제거한 후 TSP를 처리했을 때에는 대부분 생존하지 못하였는데, 이는 TSP 처리와 같은 열악한 환경에 노출되었을

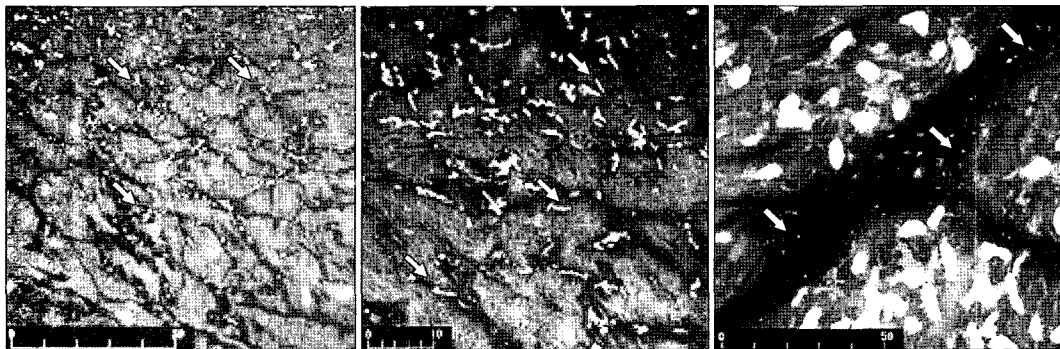


Fig. 1. Optical sectioning images of chicken breast skin surface inoculated with *Campylobacter jejuni* (arrow) by CLSM.

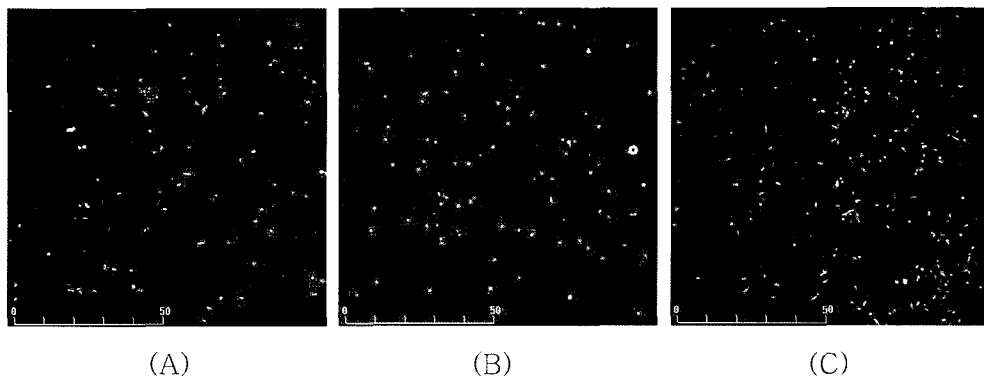


Fig. 2. Viability assessment of *Campylobacter jejuni* after 1% (w/v) TSP treatment for 5 min using CLSM multicolor imaging. (A) active *Campylobacter* cells, (B) inactive *Campylobacter* cells by TSP treatment after removal of medium components, (C) survival *Campylobacter* cells after TSP treatment on remain of medium components.

때 주위에 이용할 수 있는 유기물 등이 존재한다면 이를 이용하여 미세환경을 조성하면서 생존하기 위해 구형으로 변화되는 것으로 생각되어진다. 그리고 flow cytometry에서 CLSM의 결과와 마찬가지로 유기물을 제거하였을 때 초기 녹색 형광으로 모여 있던 상태에서 TSP 처리 후에는 불활성화 되어 나타나는 적색의 형광으로 모이는 변화를 통해 *Campylobacter* 균의 불활성화 효과를 분석하였다(Fig. 3). 또한 FSC와 SSC 분석에서 TSP 처리 후 활성 상태인 나선형의 분포가 감소하면서 구형의 분포로 이동되는 상태를 관찰할 수 있었는데(Fig. 4), 이는 TSP 처리에 의해 생존하기 어려운 환경에 노출됨으로 균이 구형으로의 형태 변화를 통해 생존하고자 하는 것으로 사료된다. 그리고 각각의 형광이 나타내는 상태를 FSC와 SSC로 균의 모양과 상호 비교하여 살펴보면 녹색형광을 나타내는 그룹은 확실히 나선형의 *C. jejuni*로 나타났고, 적색형광을 나타내는 그룹은 나선형과 구형의 중간 형태와 호기적인 경우와 비슷한 구형의 형태로 서로 겹쳐 존재하였다. 이와 같은 결과로 다양한 위생제 처리의 효율성을 다색 영상화 방법을 이용한 cell viability 염색으로 평가할 수 있음을 확인할 수 있었으며, 특히 plate count에서는 평가할 수 없는 VBNC 형태의 *Campylobacter* 균까지도 불활성화를 평가할 수 있었다.

계육 표면에서 위생제 처리에 의한 *Campylobacter* 균의 불활성화 평가

In vitro 방법에서 불활성화 효과를 나타낸 TSP를 계육에 부착되어져 있는 *Campylobacter* 균에 처리하여 cell viability

측면에서 그 효율성을 평가한 결과(Fig. 5), *Campylobacter* 균이 구형의 형태로 변화된 하였으나, 녹색의 형광을 나타내어 계육 표면에 부착되어 있으므로, TSP 처리에 의해 불활성화가 되지 않고 VBNC 형태로 잔존함을 관찰할 수 있었다. 이는 *in vitro* test처럼 *Campylobacter* 균이 TSP 처리에 의해 계육 표면에서 생존하기 어려운 열악한 환경으로 조성되어지자 생존하기 위해 먼저 구형으로 변화되었으며, 또한 계육 표면에 존재하는 여러 가지 유기물 등을 영양분으로 이용하여 저항력을 향상시켰기 때문으로 사료되어진다. 따라서 TSP 처리가 계육에 오염되어 있는 *Campylobacter* 균의 활성을 억제할 수는 있지만, 완전하게 불활성화 시키기는 어렵고, 최근 *Campylobacter* 균 이외에도 다양한 식중독성 세균이 VBNC의 형태로 존재한다고 보고[8-13]되고 있는 실정에서, 이와 같은 결과는 위생제 처리에 의해 식품의 안전성을 추구함에 있어 매우 중요한 문제점이라고 볼 수 있다. 이를 위해 냉각수와 같은 유기물이 존재하지 않는 가공류의 주요 오염원에 직접 TSP를 처리한다면, *Campylobacter* 균의 불활성화를 유도할 수 있기 때문에, 계육 표면에 오염된 *Campylobacter* 균을 불활성화 시키기는 어렵지만 계육 표면으로의 *Campylobacter* 균 오염은 방지할 수 있을 것으로 생각된다. 이와 같은 결과를 통해 계육에서 식중독성 병원균인 *Campylobacter* 균에 대하여 위생제 처리에 의한 불활성화 효과를 영상화면을 통한 cell viability 측면에서 직접적으로 평가할 수 있었으며, 특히 *in vitro* 방법으로 측정하기 어려운 VBNC 형태의 *Campylobacter* 균까지도 위생제 처리에 의한 불활성화 정도를 분석할 수 있음을 확인할 수 있었다.

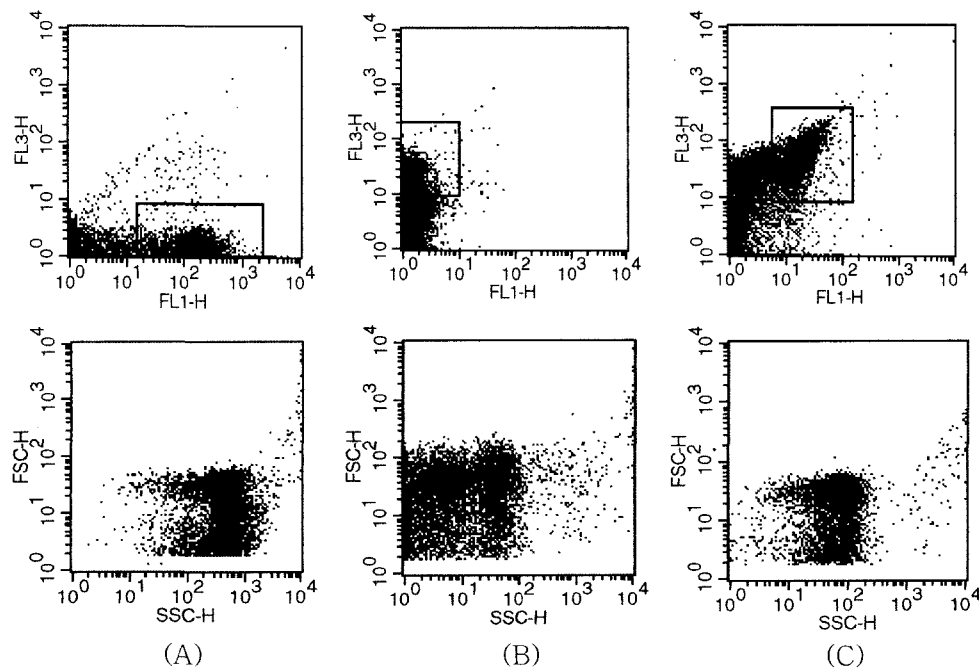


Fig. 3. Flow cytometry histogram for the relationship between morphological changes and viability changes of *Campylobacter jejuni*. (A) active *Campylobacter* cells, (b) inactive *Campylobacter* cells (c) *Campylobacter* cells after 1% (w/v) TSP treatment for 5 min.

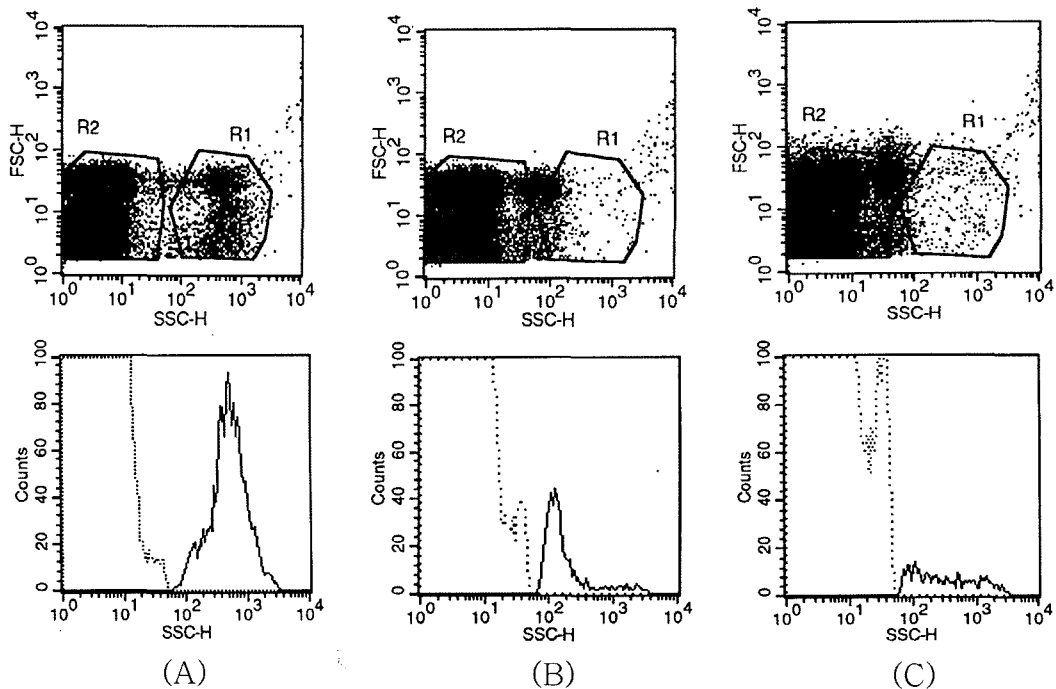


Fig. 4. Flow cytometry histogram for the morphological changes (up) and the numerical changes (down) of from R1(spiral form) to R2(coccoid form) *Campylobacter jejuni* after 1% (w/v) TSP treatment. (A) control, (B) *Campylobacter* cells after TSP treatment for 5 min, (C) *Campylobacter* cells after TSP treatment for 30 min.

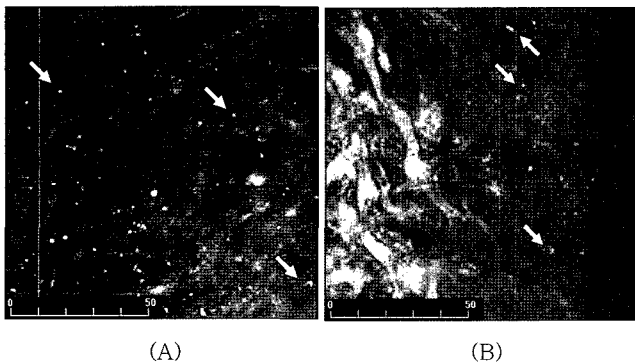


Fig. 5. Viability assessment of *Campylobacter* cells (arrow) after 1% (w/v) TSP treatment for 5 min on chicken breast skin using CLSM. (A) *Campylobacter* cells before TSP treatment, (B) *Campylobacter* cells after TSP treatment.

요 약

본 연구에서는 위생제 처리에 의해 계육에 존재하는 *Campylobacter* 균의 불활성화 효과를 신속하고 직접적으로 평가하고자 하였다. 먼저 *Campylobacter* 균의 계육중 오염 부위는 계육 표면의 주름진 틈 사이 및 모공 주변에 존재하였다. 그리고 TSP 처리에 의한 *Campylobacter* 균의 불활성화 효과를 *in vitro* 방법으로 평가한 결과, *Campylobacter* 균은 활성상태인 나선형에서 구형으로 형태변환이 발생하였는데, 구형으로 변환된 *Campylobacter* 균은 배양된 배지성분

이 제거된 경우 불활성화 효과가 나타내는 반면, 배지성분이 잔존한 경우 TSP 처리에 의해 불활성화되지 않은 VBNC의 구형 상태로 잔존하였다. 또한 계육 표면에 오염된 *Campylobacter* 균을 불활성화 시키기 위해 TSP를 처리하였을 때, *Campylobacter* 균의 모양이 구형으로 변환되었지만, TSP 처리에 의해 불활성화 효과를 나타내지 않고 계육 표면에 VBNC 형태로 잔존하여 배지성분을 제거시킨 결과와 같은 결과를 나타내었다. 이는 *Campylobacter* 균의 배지성분 내의 유기물 및 계육표면에 존재하는 유기물을 이용하여 TSP에 대한 저항력을 향상시킨 것으로 생각되며, 이는 다양한 위생제 처리에 의한 식품의 안전성을 추궁하는데 있어 매우 중요한 문제점이라고 사료된다. 따라서 본 연구에서는 이와 같은 방법을 통해 계육에 존재하는 *Campylobacter* 균에 대하여 위생제 처리에 의한 불활성화 효과를 직접적이면서 신속하게 평가할 수 있는 가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(HMP-97-F-2-0004)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

REFERENCES

1. Shin, S. Y., K. Y. Kim, and J. H. Park. 1998. Survival of *Campylobacter jejuni* under aerobic condition. *Kor. J. Food*

- SCI. Technol.* **30**: 916-923.
2. Centers for disease control. 1988. *Campylobacter* isolates in the United States, 1982-1986. *Morbid. Morlat. Weekly Rep.* **37**: 1-13.
 3. Koneman, E. W., S. D. Allen, W. M. Janda, P. C. Schreckenberger, and W. C. Winn Jr.. 1997. Chapter 6. Curved gram-negative bacilli and oxidative-positive fermenters : *Campylobacteraceae* and *Vibrionaceae*. pp 321-361. In Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott. New York.
 4. Sean, F. A., J. S. Norman, I. F. Patricia, and L. S. David. 1999. *Campylobacter jejuni*-An Emerging Foodborne Pathogen. *Emerging Infect. Disease* **5**: 28-35.
 5. Oh, J. S., K. S. Shin, Y. D. Yoon, and J. M. Park. 1988. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in Broilers and Chicken Processing Plants. *Kor. J. Food Hygiene.* **3**: 27-36.
 6. FDA. Bad Bug Book : *Campylobacter jejuni*. Available from: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap4.html>. Accessed October 1, 2005
 7. Fricker, C. R. and R. W. Park. 1989. A two-year study of the distribution of thermophilic *Campylobacters* in human, environmental and food samples from the Reading area with particular reference to toxin production and heat-stable serotype, *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 477-490.
 8. Oliver, J. D. 2005. The viable but nonculturable state in bacteria. *J. Microbiol.* **43**: 93-100.
 9. Bogosian, G., P. J. L. Morris, and J. P. O'Neil. 1998. A mixed culture recovery method indicates that enteric bacteria do not enter the viable but nonculturable state. *App. Environ. Microbiol.* **64**: 1736-1742.
 10. Day, A. P. and J. D. Oliver. 2004. Changes in membrane fatty acid composition during entry of *Vibrio vulnificus* into the viable but nonculturable state. *J. Microbiol.* **42**: 69-73.
 11. Besnard, V., M. Federighi, E. Declercq, F. Jugiau, and J. M. Cappelier. 2002. Environmental and physico-chemical factors induce VBNC state in *Listeria monocytogenes*. *Vet. Res.* **33**: 359-370.
 12. Bovill, R. A. and B. M. Mackey. 1997. Resuscitation of 'non-culturable' cells from aged cultures of *Campylobacter jejuni*. *Microbiology* **143**: 1575-1581.
 13. Tholozan, J. L., J. M. Cappelier, J. P. Tissier, G. Delattre, and M. Federighi. 1999. Physiological characterization of viable-but-nonculturable *Campylobacter jejuni* cells. *App. Environ. Microbiol.* **65**: 1110-1116.
 14. Stern, N. J., D. M. Jones, I. V. Wesley, and D. M. Rollins. 1994. Colonization of chicks by non-culturable *Campylobacter* spp. *Lett. Appl. Microbiol.* **18**: 333-336.
 15. Jones, D. M., E. M. Sutcliffe, and A. Curry. 1999. Recovery of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni*. *J. Gen. Microbiol.* **137**: 2477-2482.
 16. Breen, P. J., H. Salari, and C. M. Compadre. 1997. Elimination of *Salmonella* contamination from poultry tissue by Cetylpyridinium chloride solutions. *J. Food Prot.* **60**: 1019-1021.
 17. Chung, K. T., J. S. Dickson, and J. D. Crouse. 1989. Effects of nisin on growth of bacteria attached to meat. *App. Environ. Microbiol.* **55**: 1329-1333.
 18. Hwang, C. A. and L. R. Beuchat. 1995. Efficacy of selected chemical for killing pathogenic and spoilage microorganisms on chicken skin. *J. Food Prot.* **58**: 19-23.
 19. Xiong, H., Y. Li, M. F. Slavik, and J. T. Walker. 1998. Spraying chicken skin with selected chemicals to reduce attached *Salmonella typhimurium*. *J. Food Prot.* **61**: 272-275.
 20. Kim, C. R. and K. H. Kim. 2000. Physicochemical quality and gram negative bacteria in refrigerated chicken legs treated with trisodium phosphate and acetic acid. *Food Sci. Biotechnol.* **9**: 218-221.
 21. Kim, K. Y., J. F. Frank, and S. E. Craven. 1996. Three-dimensional visualization of *Salmonella* attachment to poultry skin using confocal scanning laser microscopy. *Lett. Appl. Microbiol.* **22**: 280-282.
 22. Chung, K. T., J. S. Dickson, and J. D. Crouse. 1989. Attachment and proliferation of bacteria on meat. *J. Food Prot.* **52**: 173-177.
 23. Cappelier, J. M., C. Magras, J. L. Jouve, and M. Federighi. 1999. Recovery of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni* cells in two animal models. *Food Microbiol.* **16**: 375-383.
 24. Dickson, J. S. and M. E. Anderson. 1992. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing system : A review. *J. Food Prot.* **55**: 133-140.
 25. Thomas, C. J. and T. A. McMeekin. 1984. Effect of water uptake by poultry tissues on contamination by bacteria during immersion in bacterial suspensions. *J. Food Prot.* **47**: 398-402.
 26. Lillard, H. S. 1986. Role of fimbriae and flagella in the attachment of *Salmonella typhimurium* to poultry skin. *J. Food Sci.* **51**: 54-56.
 27. Dickson, J. S. and M. Koohmaraie. 1989. Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surface. *App. Environ. Microbiol.* **55**: 832-836.

(Received Oct. 25, 2005/Accepted Dec. 9, 2005)