Archive of SID

بررسی میزان آلودگی سگ‌های خانگی به جنس کمپیلوباکتر با استفاده از تکنیک PCR

عبدالمجید محمدزاده[۱]، رضا حکیمی‌آلنی[۲*]، آرام شریفی[۲]، مهوش قربانی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/٤/۱۷

چکیده

در طی ۳۰ سال گذشته، *کمپیلوباکتر* به عنوان شایعترین عامل باکتریال گاستروانتریت انسان در کشورهای توسعه یافته مطرح بوده است. در این میان سگ ها به عنوان ناقلین بدون علامت، نقش مهمی در انتقال این باکتری به انسان دارند. به همین دلیل و با توجه به مشکلات جداسازی باکتری تشخیص سریع و دقیق حیوانات آلوده مهم است. در این بررسی طی پاییز سال ۱۳۹۰، نمونه گیری از مدفوع ۶۰ سگ سالم خانگی در شهرکرد انجام گرفت. بعد از استخراج DNA از نمونه های مدفوع، ابتدا توسط یک جفت پرایمر یونیورسال موارد مثبت که حاوی توالی نوکلئوتیدی خاص (توالی‌های اختصاصی در ژن‌های 16s rRNA) جنس کمپیلو باکتر بود، شناسائی شد و سپس با تکنیک PCR، شناسایی گونه شایع *کمپیلوباکتر* در سگ (*کمپیلوباکتر ژژونی*) که در انسان بسیار بیماری زاست انجام گرفت. از مجموع ۶۰ نمونه مدفوع سگ، ۱۸ مورد (۳۰ درصد) آلوده به *کمپیلوباکتر* بودند که از این میان *کمپیلوباکتر ژژونی* ۸/۳۳ درصد (۵ مورد) از آلودگی ها را به خود اختصاص داد. با استفاده از نرم افزار SPSS با روش آنووای یک طرفه نشان داده شد که میزان موارد آلودگی به *کمپیلوباکتر* در بین سگ‌ها به صورت معنی داری زیاد می باشد. نتایج بررسی نشان داد که می‌توان از تکنیک PCR به عنوان روش تشخیصی سریع برای شناسایی باکتری‌های جنس *کمپیلوباکتر* و گونه‌های متعلق به آن در نمونه مدفوع حیوانات بیمار یا حامل استفاده کرد، بدون اینکه نیازی به کشت میکروبی و استفاده از آنتی‌بادی‌های متعدد و گرانقیمت باشد.

واژگان کلیدی: کمپیلوباکتر، سگ خانگی، تکنیک PCR

مقدمه

کمپیلوباکتر (Campylobacter)، باسیل گرم منفی، متحرک، بدون اسپور، شبیه بال مرغ دریایی (Seagullwing)، غیر تخمیر کننده و به استثناء گونه‌ی گراسیلیس (C. gracilis) اکسیداز مثبت هستند. دوز عفونی این میکروارگانیسم برای حیوانات و انسان پایین می‌باشد (۱،۲). رایج‌ترین گونه‌های *کمپیلوباکتر* در منابع دامی و غذایی *کمپیلوباکتر ژژونی* (C. jejuni)، *کمپیلوباکتر کلی* (C. coli)، *کمپیلوباکتر* لاری (C. lari) و *کمپیلوباکتر آپسالنسیس* (C. upsaliensis) بوده در حالی که *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* شایعترین گونه‌ها در ایجاد گاستروآنتریت در انسان می‌باشند(۳).

اسهال از جمله بیماری‌هایی است که در تمام دنیا شایع بوده و یکی از معضلات بهداشتی اکثر جوامع

۱- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیرا دامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- دانشجو، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیرا دامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۳- دانشجو، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Reza.Hakimi77@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

می‌باشد و همه ساله موجب زیان‌های جبران ناپذیر اقتصادی و تلفات انسانی می‌گردد. در هر سال حدود ۲ میلیون مورد منتهی به مرگ به علت ابتلا به اسهال اتفاق می‌افتد که سالمونلا، شیگلا و *کمپیلوباکتر* سه عامل شایع اسهال‌های باکتریایی در سراسر جهان هستند وبرطبق آمارهای جهانی ۲ تا ۳۵ درصد این گونه اسهال‌ها ناشی از *کمپیلوباکتر* می‌باشد. از جمله افراد در معرض خطر، کودکان، افراد سالخورده و افرادی هستند که سیستم ایمنی ضعیفی دارند (٤). علاوه برگاستروانتریت، *کمپیلوباکتر*یوز در افرادی که دارای HLA B-27 هستند، احتمالاً منجر به سندرم گیلن باره (Guillain-Barre syndrom) می‌گردد. این سندرم و آرتریت دو عارضه مهم و دیررس عفونت ناشی از *کمپیلوباکتر* هستند (۵).

مهمترین گونه‌های بیماریزای کمپیلو باکتر در انسان شامل *کمپیلوباکتر* ژژونی و *کمپیلوباکتر* کلی می باشد که سگ‌ها مخزن اصلی این باکتری می باشند و می توانند بدون نشان دادن علائم بالینی بیماری حامل این باکتری باشند(۷). از این رو تماس با حیوانات خانگی از جمله سگ‌های اهلی یکی از راه‌های انتقال این باکتری می باشد (۱۰). با توجه به اهمیت موضوع از نظر اقتصادی و بهداشتی و سلامت جوامع انسانی، تشخیص سریع و دقیق این میکروارگانیسم از حاملان این باکتری (از جمله سگ) ضروری می‌باشد. افزایش تمایل جوامع بشری برای نگه داری حیوانات خانگی ازیک سو و امکان انتقال پاتوژن مذکور با این حیوانات از سوی دیگر ضرورت انجام این مطالعه را بیان می‌کند.

با توجه به اینکه *کمپیلوباکتر* جز باکتری‌های سخت رشد بوده و رشد آن در محیط‌های کشت معمولی صورت نمی گیرد و همچنین تجویز قبلی آنتی بیوتیک، آلودگی با بقیه باکتری‌های مخاطی از حساسیت کشت می‌کاهد(۸) در این تحقیق برای غلبه بر این مشکلات از تکنیک PCR جهت شناسائی حیوانات سالم و حامل گونه‌های مختلف *کمپیلوباکتر* استفاده شده است.

مواد و روش کار

در این بررسی طی پاییز سال ۱۳۹۰، نمونه‌گیری از مدفوع ٦۰ سگ سالم خانگی در سنین مختلف در شهرکرد انجام گرفت (جدول شماره ۱). نمونه‌ها در ظرف مخصوص نمونه گیری جمع آوری و برای استخراج DNA بلافاصله به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد انتقال داده شدند. مقدار ۲۰۰میلی گرم از نمونه‌های مدفوع وزن شده و با استفاده از کیت استخراج و خالص سازی DNA (تهیه شده از شرکت بیونیر)، ژنوم باکتری خالص و جدا گردید. محلول داخل تیوب که حاوی DNA بود در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام PCR نگهداری شد. برای حصول اطمینان از صحّت انجام خالص‌سازی ژنوم، نمونهٔ حاصل با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱درصد مورد بررسی قرار گرفتند (۱۵).

جدول ۱- مشخصات کامل پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص جنس *کمپیلوباکتر* و گونه *کمپیلوباکتر* ژژونی

پرایمر	توالی پرایمر	Denaturation	Annealing	Extension	تعداد سیکل	اندازه محصول
16S rRNA	Forward: 5´-AATCTAATGGCTTAACCATTA-3´ Reverse 5´-GTAACTAGTTTAGTATTCCGG-3´	°C۹۵ Sec۳۰	۵۸°C ۹۰Sec۰	°C۷۲ sec۶۰	۴۰	۸۱۶bp
glyA	Forward: TAGAGAGATAGCAAAAGAGA Reverse: TACACATAATAATCCCACCC	°C۹۵ Sec۳۰	۵۸°C ۹۰Sec۰	°C۷۲ sec۶۰	۴۰	۵۸۹bp

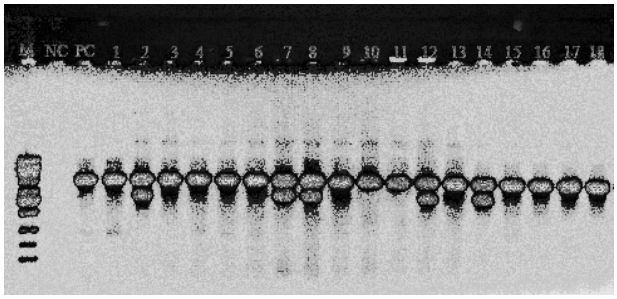
www.SID.ir

Archive of SID

برای انجام PCR دو زوج پرایمر از شرکت سازنده تکاپوزیست به صورت لیوفیلیزه دریافت شد. یک زوج از پرایمرها (16S rRNA) برای جستجوی توالی خاص جنس *کمپیلوباکتر* و یک زوج برای جستجوی توالی خاص گونه ژژونی (mapA) مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها جهت جستجوی *کمپیلوباکتر* به وسیله PCR با استفاده از پرایمرهای ثبت شده در جدول شماره ۲ (ساخت شرکت سیناژن، ایران) که قبلا توسط Denis و Persson در سال ۲۰۰۲ به ثبت رسیده است مورد آزمون قرار گرفت (٦). سوش استاندارد *کمپیلوباکتر* ژژونی ATCC 29428 از مؤسسه رازی خریداری و با استفاده از جار بی‌هوازی به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد انتقال یافت.DNA ژنومی سوش استاندارد به روش جوشاندن استخراج شد. مواد PCR از شرکت سیناژن ساخت ایران تهیه گردید و واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر PCR 10X،۱/۵ میکرولیتر MgCl2 ۵۰ میلی مولار، یک میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی مولار،۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq پلی مراز، ۱ میکرولیتر با غلظت ۱۰ میلی مولار از هر کدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر DNA الگو) انجام شد. اجرای برنامه‌ی دمایی واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (Biorad ساخت آمریکا) صورت پذیرفت. پس از الکتروفورز، محصول PCR در ژل آگارز ۱ درصد، با استفاده از دستگاه ژل داکیومنتیشن (UVitec, UK) مشاهده شد. از مارکر DNA ۱۰۰ زوج بازی (سیناژن، ایران) برای تعیین وزن محصولات PCR استفاده شد. بررسی آماری ارتباط بین شیوع *کمپیلوباکتر* با سن و جنس سگ با نرم افزار SPSS با روش آنووای یک طرفه انجام گردید.

نتایج

میزان آلودگی به جنس کمپیلوباکتر در نمونه های مدفوع سگ ۳۰درصد (۱۸ از ٦۰) بود که ۸/۳۳درصد (۵ از ٦۰) از نمونه ها آلوده به *کمپیلوباکتر* ژژونی بود(شکل شماره ۱).



شکل ۱- تصویر الکتروفورز ژل آگارز برای جنس *کمپیلوباکتر* . M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، PC :کنترل مثبت، NC: آب مقطر، شماره ۱ تا ۱۸ ایزوله های مثبت جنس *کمپیلوباکتر*(باند ۸۱٦ جفت باز)، باند ۵۱۸ جفت باز در شماره های ۲، ۷، ۸، ۱۲ و ۱٤ مربوط به گونه ژژونی می باشد.

بین شیوع *کمپیلوباکتر* با جنس سگ رابطه معنی داری دیده نشد ولی میزان شیوع *کمپیلوباکتر* در سگ‌های جوان نسبت به توله سگ‌ها و سگ‌های پیر به صورت معنی داری زیاد بود(نمودار شماره ۱). همچنین از ۵ مورد نمونه آلوده به *کمپیلوباکتر* ژژونی ٤ مورد مربوط به سگ‌های جوان و یک مورد مربوط به سگ پیر بود (جدول شماره ۲).

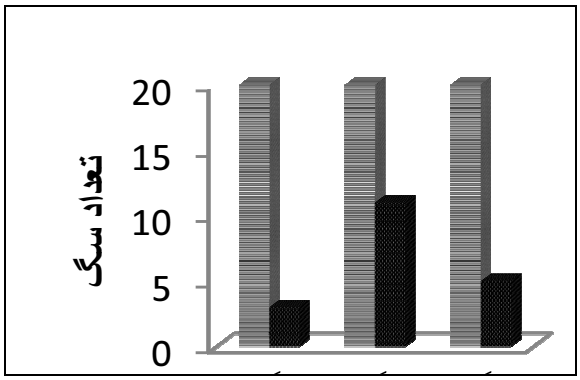
جدول ۲- خصوصیات کلی سگ های مورد بررسی و موارد مثب *کمپیلوباکتر* در بین آنها

جنس	سن	تعداد سگ مورد آزمایش	موارد مثبت به جنس *کمپیلوباکتر*	موارد مثبت به *کمپیلوباکتر ژژونی*
نر	توله*	۱۰	۱	–
	جوان**	۱۰	۴	۳
	پیر***	۱۰	۲	–
ماده	توله	۱۰	۲	–
	جوان	۱۰	۶	۱
	پیر	۱۰	۳	۱

*۱تا ۱۲ ماهه
** ۱۲ ماهه تا ۴۸ ماهه
***۴۸ ماهه به بالا

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- شیوع کمپیلوباکتر در بین گروه‌های مختلف سگ از نظر سن

بحث

کمپیلوباکتر یکی از عوامل اصلی ایجاد عفونت‌های گوارشی در انسان می باشد. در اتحادیهٔ اروپا کمپیلوباکتریوز به عنوان شایعترین بیماری مشترک بین انسان و دام (zoonses) معرفی شده است. مهمترین گونه‌های بیماریزای کمپیلوباکتر در انسان شامل کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکترکلی می‌باشند. شیوع گونه‌های کمپیلوباکتر با منشا حیوانی در بسیاری از کشورها ثبت شده است، اما اطلاعات اندکی از کشورهای در حال توسعه موجود است (۱٦).

روش‌های مولکولی برای تشخیص گونه‌های کمپیلوباکتر طی سال‌های اخیر توسعه یافته و هم اکنون از نظر تجاری قابل دسترسی هستند و مورد استفاده قرار می‌گیرند. به طور معمول در حال حاضر شناسایی کمپیلوباکتر در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی انسانی بر پایه کشت، جداسازی و تست‌های فنوتیپی است (۱۷،۱۱). از آنجایی که کمپیلوباکتر در گروه باکتری‌های سخت رشد قرار می‌گیرد و جداسازی باکتری از نمونه‌های شدیداً آلوده مثل مدفوع که دارای تعداد بی شمار باکتری‌های سریع رشد است روش‌های مولکولی بر پایه PCR می‌توانند جانشین روش‌های کشت در شناسایی کمپیلوباکتر، از نمونه‌های بالینی شود(۱۲). Denis و همکاران (۱۹۹۹)، برای شناسایی کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کلی از دو روش PCR و روش‌های مرسوم استفاده کردند. آنها نشان دادند که میزان حساسیت روش PCR به مراتب بیشتر از روش معمولی می باشد(٦).

طی بررسی انجام شده میزان شیوع کمپیلوباکتر در سگ‌های با علائم گاستروآنتریت و اسهال بسیار بالا می‌باشد. Chaban و همکاران (۲۰۱۰)، موارد آلودگی به کمپیلوباکتر در نمونه‌های مدفوع سگ‌های سالم و اسهالی به ترتیب ۸۵ درصد و ۹۷ درصد گزارش شد (۷). در مطالعه دیگری که در آمریکا انجام گرفت از ۲۹۱ سگ با علائم گاستروآنتریت، ۲۱۸ سگ (۷۵درصد) آلوده به کمپیلوباکتر بود (۱٤). Linton و همکاران (۱۹۹۷)، ۲۵ نمونه اسهالی سگ را به روش PCR مورد بررسی قرار دادند که ۲۰ نمونه حاوی توالی اختصاصی کمپیلوباکتر بود که از این تعداد ۱۷ نمونه از نظرکمپیلوباکتر ژژونی، ۲ نمونه از نظرکمپیلوباکتر کلی و ۱ نمونه از نظر کمپیلوباکتر ژژونی و هیو اینتستینالیس مثبت بودند (۱۳). در تحقیق اخیر از ٦۰ نمونه مدفوع سگ سالم، ۱۸ مورد (۳۰درصد) آلوده به کمپیلوباکتر بودند. که این میزان در بین سگ‌های سالم درصد بالایی می باشد. همچنین در این بررسی همانند تحقیق Moser و همکاران (۲۰۰۱) در بین سگ‌های اسهالی، سگ‌های جوان نسبت به سگ‌های بالغ آلودگی بیشتری به کمپیلوباکتر داشتند(۱٤).

میزان موارد آلودگی کمپیلوباکتر در سگ و گربه نسبت به سایر حیوانات از جمله پرندگان بیشتر می‌باشد. در پرندگان در بیشتر موارد آلودگی به کمپیلو باکتر کمتر از ۱۰ درصد گزارش می شود. طی یک بررسی، میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در بین طوطی ها در پرو ۸ درصد نشان داده شد (۱۲). در بررسی پرندگان وحشی انگلستان شمالی، آمریکا و نیوزلند میزان آلودگی به کمپیلوباکتر به ترتیب ۱/٤، ۷/۲ و ۱۲/۵ درصد گزارش شد(۹،۸). این در حالی است که میزان موارد آلودگی به کمپیلوباکتر در بین سگ‌ها در بیشتر موارد بالای ۵۰ درصد گزارش شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

سگ و گربه به عنوان مخازن کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر آپسالنسیس هستند(۱۹). عواملی که سبب شد در این تحقیق میزان فراوانی کمپیلوباکتر ژژونی در بین نمونه‌های مثبت بررسی شود اهمیت داشتن این گونه از کمپیلوباکتر در اسهال انسان (خصوصاً کودکان) و انتقال یافتن آن از طریق سگ‌های بیمار و یا حامل به انسان بود.

سگ‌های خانگی به طور معمول ارتباط نزدیکی با افراد خانه خصوصا کودکان دارد. آلوده بودن ۳۰ درصد از سگ‌های سالم به کمپیلوباکتر، نشان داد که سگ‌های سالم هم می توانند به عنوان یک حامل کمپیلوباکتر برای انسان تهدید کننده باشند. از آنجایی که کمپیلوباکتر جز عوامل گاسترو آنتریت در انسان شناخته شده و ممکن است افراد درگیر دچار سندرم گیلن باره شوند و از طرفی علاقه مردم به نگهداری سگ در خانه، شناسایی و درمان سگ‌های خانگی حامل کمپیلوباکتر ضروری به نظر می آید.

از انجاییکه این مطالعه روی سگ‌های سالم انجام شده است میزان موارد آلودگی به کمپیلوباکتر در این تحقیق، نسبت به مطالعاتی که روی سگ‌های اسهالی کار شده بود کم می باشد. با این همه آلوده بودن ۸/۳۳ درصد از سگ‌ها به کمپیلوباکتر ژژونی نشان داد که توجه به نقش سگ‌های سالم در.انتقال کمپیلوباکتر ژژونی ضروری می باشد. مطالعه همچنین نشان داده شد که تکنیک PCR برای تشخیص سریع حیوانات ناقل می تواند از لحاظ اقتصادی و صرفه جویی در وقت بهترین عملکرد را داشته باشد.

منابع

۱- تاجبخش، ح. احمدی فخرزادگان، ف. نادعلیان م. ق.(۱۳۷۹): بررسی عفونت‌های ناشی از کمپیلوباکتر فتوس زیرگونه فتوس در گوسفندداری‌های اطراف تهران و اصفهان. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۳(۵۵): صفحه ۹۹-۹۱.

۲- رحیمی، م.ک. علمبیگی، پ. موسوی، ل. عدیمی، پ. طیبی، ز (۱۳۸۸): بررسی مبتلایان به اسهال خونی ازنظر عفونت با کمپیلوباکتر ژوژونی. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاداسلامی. ۳(۱۹). صفحه ۳۱۵-۲۱۲.

۳- فروهش تهرانی، ه (۱۳۸۲): گزارش یک مورد منتژیت ناشی از کمپیلو باکتر فتوس در بزرگسالان. مجله علوم پزشکی ایران. ۳۶ (۱۰): صفحه ۵۸۳-۵۷۹.

٤- فیض آبادی، م. دولت آبادی، س. (۱۳۸٤): بررسی میزان شیوع عفونتهای کمپیلوباکتریائی درکودکان مبتلا به اسهال در دو بیمارستان تهران وتعیین مقاومت داروئی سویه‌های جداشده، مجله پژوهشی دانشکده پزشکی. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی. ۲۹(۳): صفحه ۲۲٤-۲۱۹.

۵- مهدی زاده، م، اسکندری، س. (۱۳۸۸): نقش کمپیلو باکترژژونی در بروز کمپیلوباکتریوز، مجله علوم پزشکی کرمان، ۲(۳۳)، صفحه ۱۹۶-۱۸۸.

6- Denis, M., Soumet, C., Rivoal, K., Erme G., Blivet D., Salvat G., Colin, P., (2002): Development of am PCR assay for simultaneous identification of Campylobacter jejuni and C. coli. Letters in Applied Microbiology. 6 (29): 406-410.

7- Chaban, B., Ngeleka, M., Hill, J.E., (2010): Detection and quantification of 14 Campylobacter species in pet dogs reveals an increase in species richness in feces of diarrheic animals. Bio Medical Central Microbiology. 10 (73): 112-119.

8- French, N.P., Midwinter, A., Holland, B., Collins-Emerson, J., Pattison, R., (2009): Molecular Epidemiology of Campylobacter jejuni Isolates from Wild-Bird Fecal Material in Children's Playgrounds. Applied and Environmental Microbiology. 3 (75): 779-783.

www.SID.ir

Archive of SID

9- Hughes, L.A., Bennett, M., Coffey, P., Elliott, J., Jones, T.R,. (2009): Molecular epidemiology and characterization of Campylobacter spp. isolated from wild bird populations in northern England. Applied and Environmental Microbiology. 10 (75): 3007-3015.

10- Kim, S., Lee, Y.M., Hwang, I.G., Kang, D.H., Woo, G.J., Rhee, M.S., (2009): Eight enrichment broths for the isolation of Campylobacter jejuni from inoculated suspensions and ground pork. Letters in Applied Microbiology. 5 (49): 620-626.

11- Klena, J.D., Parker, C.T., Knibb, K., Ibbitt, J.C., Devane, P.M., Horn, S.T., Miller, W.G., Konkel, M.E., (2004): Differentiation of Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, and Campylobacter upsaliensis by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the lipid A gene lpxA. Journal of Clinical Microbiology. 12 (42): 5549-5557.

12- Lastovica, A.J., Le, Roux, E., (2001): Eficient isolation of Campylobacter Upsaliensis from stool. Journal of clinical Microbiology. 11 (39): 4222-4223.

13- Linton, D., Lawson, A., Owen, R., Stanley, J,. (1997): PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli direct from diarrheic samples. Journal of Clinical Microbiology. 10 (35): 2568-2572.

14- Moser, I., Rieksneuwöhner, B., Lentzsch,. (2001): Genomic Heterogeneity and O-Antigenic Diversity of Campylobacter upsaliensis and Campylobacter helveticus Strains Isolated from Dogs and Cats in Germany. Journal of Clinical Microbiology. 7 (39): 2548-2557.

15- Persson, S., Boer, R.F., Kooistra-Smid, A., Olsen, K.E,. (2011): Five commercial DNA extraction systems tested and compared on a stool sample collection. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 3(69): 240-244.

16- Rees, J.H., Soudain, S.E., Gregson, N.A., Richard, A.C., Hughes, M.D,. (1995): Campylobacter jejuni infection and Guillain-Barre syndrome. New England Journal of Medicine, 10 (333): 1374-1379.

17- Rosyidi, A., Budhiharta, S., Asmara, W., Yudhabuntara, D,. (2011): Phenotypic and Genotypic Detection of Campylobacter jejuni at Local Chicken and Chicken Meat. Animal Production. 2(12): 128-134.

18- Tresierra-Ayala, A., Bendayan, M.E., Bernuy, A., Espinoza, F., Fernandez, H,. (1995): Carriage of the classical thermotolerant Campylobacters in healthy domestic animals from eastern Peru. Revista do Instituto de MedicinaTropical de São Paulo. 6(37): 537-539.

19- Vandenberg, O., Skirrow, M.B., Butzler, J.P,. (2005): Campylobacter and Arcobacter. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 2(10): 1541-1553.

www.SID.ir