

ارزیابی فراوانی آرکوباکتر بوتزلی در گوشت ماکیان عرضه شده در مراکز فروش شهرستان تنکابن با استفاده از تکنیک‌های کشت و PCR

زهرا پورعباسقلی^{a*}، مسعود قانع^b، مهدی قیامی راد^c

^a کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

^b استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران

^c استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

چکیده

مقدمه: جنس آرکوباکتر همراه با کمپیلوباکتر در خانواده کمپیلوباکتریاسه قرار دارد. آرکوباکترها باکتری‌های گرم منفی، بدون اسپور و میکروآنروفیلیک هستند که به وسیله رشد در حضور اکسیژن و دماهای پایین از جنس کمپیلوباکتر متمایز می‌شوند. این باکتری‌ها میله‌ای، به شکل S و یا مارپیچی شکل هستند. آرکوباکتر بوتزلی رایج‌ترین گونه این جنس است به عنوان پاتوژن زئونوز و نوظهور شناخته شده است. هدف اصلی از این مطالعه ارزیابی فراوانی آرکوباکتر بوتزلی از گوشت ماکیان عرضه شده در مراکز فروش در شهرستان تنکابن بود.

مواد و روش‌ها: جهت جداسازی از تکنیک استاندارد کشت و به منظور تعیین هویت و شناسایی از تست‌های فنوتایپینگ استفاده گردید. با استفاده از آزمون PCR و تکثیر ژن اختصاصی آرکوباکتر تایید تست‌های فنوتایپینگ صورت پذیرفت.

یافته‌ها: در مجموع ۹۵ نمونه گوشت ماکیان از خرده فروشی‌های تنکابن جمع آوری و با هدف بررسی حضور گونه آرکوباکتر بوتزلی مورد آزمایش قرار گرفتند. بر پایه آزمون‌های کشت ۱۲ نمونه از ۹۵ نمونه مورد مطالعه (۱۲/۶۳٪) به آرکوباکتر بوتزلی آلوده بودند. هم چنین تکنیک PCR نتایج فنوتایپینگ را تأیید نمود.

نتیجه‌گیری: گرچه این باکتری تقریباً از تمامی مخازن محیطی جدا شده است، اما میتوان ماکیان را مخازن اصلی آرکوباکترها دانست. از این رو حضور این باکتری بیماریزا در گوشت ماکیان منطقه مورد تحقیق می‌تواند احتمال انتقال این عامل بیماری را به انسان از طریق مصرف محصولات غذایی افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: آرکوباکتر بوتزلی، گوشت ماکیان، PCR

مقدمه

اعضای جنس *آرکوباکتر* بدون اسپور، آنروتولرانت، گرم منفی، خمیده به شکل میله‌ای، S یا مارپیچی (عرض ۰/۲ تا ۰/۹ میکرومتر و طول ۰/۵ تا ۳ میکرومتر) متحرک با تازه‌ی منفرد قطبی بدون غلاف هستند توانایی رشد در حضور اکسیژن اتمسفری و دمای بین ۱۵ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد *آرکوباکتر* را از کمپیلوباکتر متمایز می‌سازد. این ارگانیس‌ها از نظر متابولیکی خنثی هستند و نیاز به محیط‌های غنی بلادآگار یا شکلات آگار برای رشد دارد. *آرکوباکترها* به طور طبیعی در دستگاه گوارش اردک، خوک، گراز، خوک ماده با مشکلات تولید مثلی، جنین مرده‌ی خوک و طیف وسیعی از حیوانات اهلی هستند. علاوه بر این مخازن طبیعی، *آرکوباکترها* از بیماران مبتلا به باکتری، اندوکاردیت، پریتونیت و انتریت و اسهال جدا شده‌اند. همچنین احتمال داده شده که ارتباطی بین عفونت‌های *آرکوباکتر* با آنتریت و سندرم گیلن باره وجود دارد (Allos *et al.*, 2008; McElwain *et al.*, 2002; lipman *et al.*, 2008).

گوشت خام منبع عفونت *آرکوباکتر* در انسان است (Gonzales *et al.*, 2011). گونه معروف و بیماری‌زای آن در انسان *آرکوباکتر بوتزلی* می‌باشد که به عنوان خطرناکترین گونه برای سلامت انسان از سوی کمیسیون شاخص‌های میکروبیولوژی مواد غذایی و اخیراً به عنوان پاتوژن مهم زئونوتیک شناسایی و معرفی شده است. *آرکوباکتر بوتزلی* رایج‌ترین و معمول‌ترین گونه این جنس است که به عنوان ارگانیس‌م زئونوز و پاتوژن با منشأ مواد غذایی (foodborne) است که می‌تواند باعث ایجاد باکتری‌می و اسهال انسانی شود. این میکروارگانیس‌م از غذاهایی با منشأ حیوانی به خصوص طیور، لاشه‌ی حیوانات ذبح شده، شیر، انواع صدف‌های ۲ کفه‌ای (mussels) و همچنین از آب فاضلاب، نمونه‌های مدفوع گونه‌های مختلف جدا شده است. علی‌رغم این که محیط‌ها و روش‌هایی برای جداسازی *آرکوباکترها* از نمونه‌های مختلف استفاده می‌شود یک روش استاندارد تا به حال برای ایزوله کردن *آرکوباکتر* ارائه نشده است. اولین ایزوله در سال ۱۹۷۷ از جنین سقط شده گاو و با استفاده از محیط EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris) به دست آمد (Ellis *et al.*, 1977). هدف از این مطالعه

ارزیابی فراوانی *آرکوباکتر بوتزلی* در گوشت ماکیان

ارزیابی فراوانی *آرکوباکتر بوتزلی* از گوشت ماکیان عرضه شده در مراکز فروش در شهرستان تنکابن بود.

مواد و روش‌ها

- جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه ۹۵ نمونه از گوشت، پوست و محتویات شکمی ماکیان برای جداسازی *آرکوباکتر بوتزلی* از مراکز فروش در شهرستان تنکابن جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به وسیله سواپ استریل از گوشت طیور کشتار شده جمع‌آوری و به منظور جستجوی *آرکوباکتر بوتزلی* مورد بررسی قرار گرفت.

- روش جداسازی باکتری از نمونه‌های جمع‌آوری شده

متد جداسازی *آرکوباکترها* بر اساس تکنیک preT-KB بود (Baserisalehi *et al.*, 2004). پس از اینکه نمونه‌گیری با سواپ‌های استریل از سطح پوست، گوشت و محتویات شکمی انجام شد، نمونه‌ها به لوله‌های حاوی محیط کشت پرستون منتقل و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از گذشت زمان مورد نظر در شرایط کاملاً استریل به کمک لوپ استریل بر روی محیط Campylobacter CAMP supplement III (Skirrow) [مرک-آلمان] غنی شده با خون گوسفند دفیبرینه شده که هر ویال مکمل حاوی آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند ونکومایسین ۲ میلی‌گرم، پلی میکسین ۰/۰۵ میلی‌گرم، تری متوپریم ۱ میلی‌گرم بود، کشت خطی صورت پذیرفت. سپس محیط‌های کشت در داخل انکوباتور ۲۵ درجه به مدت ۷۲-۴۸ ساعت قرارداده شد. پس از یک دوره گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها جهت شناسایی *آرکوباکترها* مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر روی محیط کشت پایه، کلنی باکتری به شکل محدب، صاف، شفاف، بدون رنگ تا کرم به اندازه ۲-۴ میلی متر مشاهده گردید.

- شناسایی *آرکوباکتر بوتزلی*

تمامی کلنی‌های مشکوک جهت شناسایی اولیه *آرکوباکتر بوتزلی* مورد آزمایشات میکروبی مانند رنگ آمیزی گرم، تست‌های کاتالاز، اکسیداز و تخمیر قند گلوکز

(اپندروف-آلمان) قرار داده شده تا فرایند PCR انجام شود. جهت انجام فرایند پلی مریزاسیون دستگاه ترموسایکلر به مدت ۴ دقیقه روی دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد جهت دناتوراسیون اولیه قرار داده شد. سپس ۳۵ سیکل PCR شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، ۵۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۹۰ ثانیه اجرا گردید. در خاتمه به مدت ۱۰ دقیقه نیز عمل طولی‌سازی نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد اجرا گردید (جدول ۲).

یافته‌ها

در مجموع ۹۵ نمونه گوشت ماکیان خرده فروشی‌ها جمع‌آوری و با هدف بررسی حضور گونه‌ی آرکوباکتر بوتنلری مورد آزمایش قرار گرفتند. بر پایه آزمون‌های کشت ۱۲ نمونه از ۹۵ نمونه مورد مطالعه (۱۲/۶۳٪) به آرکوباکتر بوتنلری آلوده بودند. از کلنی‌های بدست آمده (شکل ۱)، ارگانیسیم‌های خمیده و شبیه بال پرند با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده گردید (شکل ۲). بالاترین میزان فراوانی آرکوباکتر بوتنلری در پوست (۱۹/۵۱٪) و پس از آن در محتویات شکمی (۱۴/۲۸٪) و در نهایت گوشت (۹/۳۰٪)، در بین نمونه‌های مرغ (۱۲/۶۳٪) مشاهده شد. هم‌چنین تکنیک PCR نتایج فنوتایپینگ را تأیید نمود.

PCR: با استفاده از تکنیک PCR نتایج فنوتایپینگ تأیید و با کمک پرایمرهای اختصاصی Arco1 و Arco2 باند در ناحیه 1100 bp مشاهده گردید (شکل ۳).

قرار گرفتند. با مشاهده باسیل‌های خمیده در رنگ آمیزی گرم، متحرک بودن باکتری به روش لام مستقیم، مثبت شدن تست اکسیداز و منفی شدن تست تخمیر قند گلوکز، می‌توان تا حدود بسیار زیادی به جداسازی و شناسایی جنس آرکوباکتر مطمئن شد. در مرحله بعد با استفاده از تست‌های فنوتیپی معرفی شده به وسیله آتابای و کوری (Atabay and corry) که شامل تست‌های تولید اوره آز، رشد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و شرایط میکروآتروفیلیک و رشد در مک کانگی آگار می‌باشد، گونه آرکوباکتر بوتنلری شناسایی شد.

- تأیید نتایج کشت با تکنیک PCR

به منظور انجام PCR ابتدا با استفاده از تکنیک جوشاندن (Boiling) استخراج DNA از کلنی‌های مورد نظر اجرا گردید. برای تأیید استخراج DNA جذب نوری در محدوده ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر به وسیله دستگاه بیوفتومتر (اپندروف-آلمان) بررسی و بقیه نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شد. به منظور اجرای روند PCR پرایمرهای فوروارد و ریورس (Arco1 و Arco2) برای ژن 16SrRNA اختصاصی (Moreno et al., 2003) آرکوباکتر بوتنلری توسط شرکت تاگ کپنهاگن (دانمارک) آماده گردید (جدول ۱). بدین منظور ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده باکتری، ۱۰ میکرولیتر Master mix (تاکارا-ژاپن)، ۱ میکرولیتر پرایمر فوروارد، ۱ میکرولیتر پرایمر ریورس، ۳ میکرولیتر آب مقطر استریل را در یک میکروتیوب ریخته، اسپین گردید و در دستگاه ترمال سایکلر

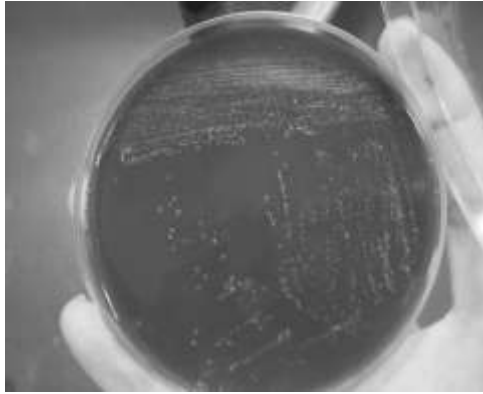
جدول ۱- توالی پرایمرهای فوروارد و ریورس برای ژن آرکوباکتر

Primer name	Primers	5' → 3'	Product size
Arco1	Forward	GGTGTAGGATGAGACTATATA	1100
Arco2	Reverse	GTCGTGCCAAGAAAAGCCA	

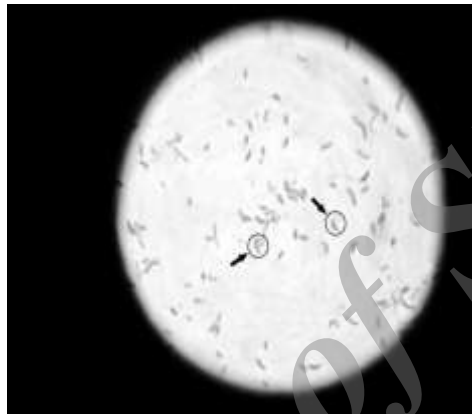
جدول ۲- برنامه دمایی و زمانی PCR برای تکثیر ژن 16SrRNA/آرکوباکتر

تقلیب اولیه	۹۴ درجه سانتی‌گراد- ۴ دقیقه
۳۵	۹۴ درجه سانتی‌گراد- ۴۵ ثانیه
سیکل	۵۴ درجه سانتی‌گراد- ۴۵ ثانیه
	۷۲ درجه سانتی‌گراد- ۹۰ ثانیه
طول‌سازی نهایی	۷۲ درجه سانتی‌گراد- ۱۰ دقیقه

ارزیابی فراوانی آرکوباکتر بوتزلری در گوشت ماکیان



شکل ۱- کلنی های محدب آرکوباکتر روی محیط کشت CAMP



شکل ۲- سلول های خمیده آرکوباکتر بوتزلری پس از رنگ آمیزی گرم $\times 100$



شکل ۳- نتیجه واکنش زنجیره ای پلی مرز روی ژل آگارز ۱/۵٪، M خط کش مولکولی ۱ کیلو بازی، P کنترل مثبت، ۱-۱۲ نمونه های آرکوباکتر جدا شده، N کنترل منفی

بحث

می دهند. به دلیل ارتباط نزدیک فنوتیپی و ژنوتیپی، جنس آرکوباکتر همراه با جنس کمپیلوباکتر در خانواده ای کمپیلوباکتریاسه قرار گرفته است و همراه با جنس های هلیکوباکتر (*Helicobacter*)، ویونلا (*Wolinella*) و سولفورواسپیریلیوم (*Sulfurospirillum*) یک گروه متمایز و بسیار مهم به نام سوپرفامیلی چهار اپسیلون پروتوباکتریا

جنس آرکوباکتر در سال های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است، زیرا این جنس به عنوان پاتوژن های روده ای نو ظهور و ارگانسیم های زئونوز در نظر گرفته شده اند (Hoa *et al.*, 2006). گونه های آرکوباکتر ویژگی ها و مشخصه های مورفولوژیکی، شبیه به کمپیلوباکترها را نشان

لاشه‌های جوجه‌های گوشتی طی فراوری آن صورت پذیرفت، اشاره کرد. این محققان دریافتند که شیوع کلی گونه‌های *آرکوباکتر* در لاشه‌های جوجه‌های گوشتی (۱۷۹ تا از ۳۲۵) ۱/۵۵٪ ارزیابی شد که در این میان *آرکوباکتر بوتزتری (A. butzelri)* گونه غالب (۱/۷۹٪)، درحالی که *آرکوباکتر کری آئروفیلوس (A. cryaerophilus IB)* ۱۸/۶٪ در میان کل نمونه‌های گرفته شده تشخیص داده شد (Son et al., 2007).

در تحقیقی که توسط Maria lura و همکاران در سال ۲۰۱۱ با هدف جداسازی *آرکوباکتر بوتزتری* از لاشه‌های مرغ در کاستاریکا اجرا شد، در نتیجه آن سویه‌های *آرکوباکتر بوتزتری* برای اولین بار از لاشه مرغ در کاستاریکا جداسازی و شناسایی شد (Maria et al., 2011).

با توجه به اطلاعات بدست آمده از تحقیقات سایر محققین که توانسته بودند این باکتری را از منابع مختلف جداسازی و شناسایی کنند، در تحقیق حاضر نیز *آرکوباکتر بوتزتری* با میزان فراوانی ۱۲/۶۳٪ از گوشت ماکیان شناسایی گردید. دلیل کاهش میزان فراوانی این باکتری نسبت به تحقیقات دیگران را می‌توان به استفاده از تکنیک‌های مختلف جهت شناسایی این باکتری و شرایط جوی متفاوت منطقه شمال ایران ذکر گردد. همانگونه که مشاهده می‌شود تحقیقات اجرا شده توسط سایر محققین که حضور *آرکوباکترها* به ویژه *آرکوباکتر بوتزتری* را در نمونه‌های گرفته شده از گوشت ماکیان نشان می‌دهد که تأیید کننده نتایج حاضر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نکته حائز اهمیت شیوع بالای گونه بیماری‌زای *آرکوباکتر بوتزتری* در گوشت ماکیان در شمال ایران می‌باشد. با توجه به شناسایی گونه‌ی بیماری‌زای *آرکوباکتر بوتزتری* از گوشت، جامعه پزشکی کشور می‌بایست نقش این باکتری را در ایجاد عفونت‌های گوارشی و عوارض پس از آن توجه بیشتری نمایند. توصیه می‌شود این مطالعه در سایر نقاط کشور اجرا تا میزان آلودگی کشور تخمین زده شود. با توجه به انتقال آلودگی توسط گوشت حیوانات دیگر، این مطالعه در گوشت سایر حیوانات صورت گیرد، هم چنین رعایت اصول بهداشت در مراحل قطعه بندی، بسته بندی، حمل و نقل و حفظ زنجیره سرما در طول مرحله نگهداری تا

را تشکیل می‌دهند (Vandamme et al., 1991).

آرکوباکترها باکتری‌های گرم منفی، بدون اسپور، آئروتولرانت، میله‌ای باریک کمی خمیده و مارپیچی و سلول‌ها اغلب به شکل s یا مارپیچی هستند و به وسیله تازه‌ی منفرد بدون غلاف که در یک یا در هر دو انتهای سلول خود دارند حرکت می‌کنند. این باکتری‌ها با داشتن توانایی رشد در هوا و دمای پایین‌تر در محدوده‌ی بین ۱۵ تا ۳۰ درجه‌ی سلسیوس از کمپیلوباکترها متمایز می‌شوند (Dediste et al., 1998; Tylor et al., 1991;) (Vendenberg et al., 2004).

بر اساس اطلاعات بدست آمده در این تحقیق، از ۹۵ نمونه جمع‌آوری شده، ۱۲ سویه *آرکوباکتر بوتزتری* جداسازی گردید که این آمار نشان دهنده وجود این باکتری در گوشت ماکیان در شمال ایران می‌باشد.

در یک مطالعه از ایالات متحده در سال ۱۹۹۸ توسط Atabay و همکاران صورت پذیرفت، که طی آن *آرکوباکتر بوتزتری* و *آرکوباکتر کری آئروفیلوس* و *آرکوباکتر اسکیرووی* از لاشه‌های مرغ کشتارگاه‌ها و جوجه‌های خرده فروشی جدا شدند (Atabay et al., 1998).

در تحقیق دیگری که توسط Houf و همکاران در سال ۲۰۰۲ در کشتارگاه‌های مرغ بلژیک صورت گرفت دریافتند که ۹۶/۲٪ و ۹۵٪ (n=۴۸) پوست گردن نمونه‌های جمع‌آوری شده جوجه‌ها به ترتیب بعد فرایند تهی‌سازی و سرد کردن از نظر حضور *آرکوباکتر* مثبت اعلام شد. این محققان پی بردند که *آرکوباکتر* در پوست گردن جوجه‌های گوشتی قبل و بعد فرایند چیلینگ شایع‌تر از کمپیلوباکتر است (Houf et al., 2002).

تحقیقی دیگری توسط Eifert و همکاران در سال ۲۰۰۳ با هدف مقایسه تکنیک‌های نمونه برداری برای شناسایی *آرکوباکتر بوتزتری* از جوجه‌ها صورت پذیرفت که در نتیجه آن ۳ نوع مختلف نمونه شامل نمونه‌های مدفوعی، نمونه‌های کلواک و نمونه‌های سطحی محیطی را در بر گرفت. تجزیه تحلیل داده‌ها نشان داد که درصد شناسایی سوپ‌های سطحی محیطی به طور معناداری بالاتر از سوپ مدفوع است (Eifert et al., 2003).

در تحقیقی که در سال ۲۰۰۷ توسط Son و همکاران به منظور بررسی شیوع *آرکوباکتر* و کمپیلوباکتر در

Houf, K., De Zutter, L., Van Hoof, J. & Vandamme, P. (2002). Occurrence and Distribution of *Arcobacter* species in Poultry processing. *Journal of Food protection.*, 65, 1233-1239.

ICMSF. Microorganisms in foods. Microbiological testing in food safety management. (2002). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Kluwer Academic/Plenum, New York, NY.

Lipman, L., Ho, H. & Gastra, W. (2008). The presence of *Arcobacter* species in breeding Hens and eggs from these hens. *poult. Sci.*, 87(11), 2404-2407.

Maria, L. A., Adriana, C. & Heriberto, F. (2011). *Arcobacter butzleri* first isolation report from chicken carcasses in castaria. *Braz. J. Microbiol.*, 42(2), 702-706.

McElwain, R. D. (2002). Survival and recovery characteristic of *Arcobacter butzleri* in groundwater microorganisms. Davis College of Agriculture, Forestry, and Consumer Sciences at West Virginia University, Morgantown, West Virginia. pp 360-365.

Moreno, Y., Botella, S., Luis Alonso, J., María, A., Hernandez, M. & Hernandez, J. (2003). Specific Detection of *Arcobacter* and *Campylobacter* Strains in Water and Sewage by PCR and Fluorescent In Situ Hybridization. *Applied and environmental microbiology*, 69(2), 1181-1186.

Son, I., Engllen, M., Berrang, M., Fedorka-Cary, P. & Harrison, A. (2007). Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* on broiler carcasses during processing. *Int J Food Microbiol*, 113(1), 16-22.

Taylor, D. N., Kiehlbauch, J. A., Tee, W., Pitarangsi, C. & Echeverria, P. (1991). Isolation of group 2 aerotolerant *Campylobacter* species from Thai children with diarrhea. *J. Infect. Dis*, 163(5), 1062-1067.

Vandamme, P., Falsen, E., Rossau, R., Hoste, B., Segers, P., Tytgat, R. & De Ley, J. (1991). Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. *novo*. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 41(1), 88-103

Vandenberg, O., Dediste, A., Houf, K., Ibe Kwem, S. & Souayah, H. (2004). *Arcobacter* Species in human. *Emerg. Infect. Dis*, 10(10), 1863-1867.

رسیدن به دست مصرف کننده از اهمیت بالایی در کاهش بار آلودگی لاشه ها به این باکتری برخوردار است. آزمایش های منظم و اطلاع رسانی مناسب به مصرف کنندگان می تواند تا حد زیادی از وقوع عفونت های آرکوباکتر بکاهد. در این خصوص پیشگیری از آلودگی های متقاطع مواد غذایی آماده مصرف و پخت کامل گوشت مرغ قبل از مصرف توصیه می شود.

منابع

Allos, B. M. & Blaser, M. J. (2008). *Campylobacter* infection. Cecil medicine. Ed. Lee G, Ausiello D. 23rd ed. Philadelphia: saunders Elsevier. 2230-2233

Atabay, H. I., Corry, J. E. & On, S. L. (1998). Diversity and prevalence of *Arcobacter* spp. In broiler chickens. *J Appl Microbiol.*, 84(6), 1007-10016.

Baserisalehi, M., Bahador, N. & Kapadnis, B. P. (2004). A novel method for isolation of *Campylobacter* spp from environmental samples, involving sample processing, and blood- and antibiotic-free medium. *Journal of Applied Microbiology*, 97(4), 853-860.

Dediste, A., Aeby, A., Ebraert, A.V.L., Tridiani, R. & Vandenberg, O. (1998). *Arcobacter* in Stool. Clinical Features, diagnosis and antibiotic susceptibility. In: Lastovica Aj, Newell DG, L astovica EE editors. *campylobacter, Hlicobacter* and related Organism captown, South Africa. In *Slitute of child health, university of cape town*, 44(2), 436-439.

Eifert, J. D., Castel, F. W., Pierson, C. T. & Larsen, H. (2003). Comparison of sampling Techniques for Detection of *Arcobacter butzelri* from chicken. *Poult Sci*, 82(12), 1898-1902.

Ellis, W. A., Neill, S. D. O., Brien, J. J., Ferguson, H. W. & Hanna, J. (1977). Isolation of Spirillum/vibrio- Like Organisms from bovine Fetuses. *Vet Rec*, 100 (21), 451-452.

Gonzales, A. & Ferrus, M. (2011). A Study of *Arcobacter* spp. contamination in fresh lettuces detected by different cultural and molecular methods. *Int. J. of Food Microbiology*, 145(3), 311-314

Hoa, T. K., Lien T. A. & Wim, G. (2006). vertical transmission of *Arcobacter* spp in chickens, 115, 46-53.