

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

عبدالمجید محمدزاده<sup>۱</sup>، رضا حکیمی‌آلنی<sup>۲\*</sup>، آرام شریفی<sup>۲</sup>، مهوش قربانی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۱۷ تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۱۰

### چکیده

در طی ۳۰ سال گذشته، کمپیلوباکتر به عنوان شایعترین عامل باکتریال گاستروانتریت انسان در کشورهای توسعه یافته مطرح بوده است. در این میان سگ‌ها به عنوان ناقلين 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 شهر کرد انجام گرفت. بعد از استخراج DNA از نمونه‌های مدفوع، ابتدا توسط یک جفت پرایمر یونیورسال موارد مثبت که حاوی توالی نوکلئوتیدی خاص (توالی‌های اختصاصی در ژن‌های 16S rRNA) جنس کمپیلوباکتر بود، شناسائی شد و سپس با تکنیک PCR، شناسایی گونه شایع کمپیلوباکتر در سگ (کمپیلوباکتر ژرونی) 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 ژرونی ۸/۳۳ درصد (۵ مورد) از آلودگی‌ها را به خود اختصاص داد. با استفاده از نرم افزار SPSS با روش آنوای یک طرفه نشان داده شد که میزان موارد آلودگی به کمپیلوباکتر در بین سگ‌ها به صورت معنی داری زیاد می‌باشد. 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

می‌باشد (۱،۲). رایج‌ترین گونه‌های کمپیلوباکتر در منابع دامی و غذایی کمپیلوباکتر ژرونی (*C. jejuni*)، کمپیلوباکتر کلی (*C. coli*)، کمپیلوباکتر لاری (*C. lari*) و کمپیلوباکتر آپسالنیسیس (*C. upsaliensis*) بوده در حالی که کمپیلوباکتر ژرونی و کمپیلوباکتر کلی شایعترین گونه‌ها در ایجاد گاستروانتریت در انسان می‌باشند (۳).

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

### 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 میکرووارگانیسم برای حیوانات و انسان پایین

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

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 نمی‌گیرد و همچنین تجویز قبلی آنتی بیوتیک، آلودگی با بقیه باکتری‌های مخاطی از حساسیت کشت می‌کاهد<sup>(۸)</sup> 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 ۶۰ 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 بلافالصله به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد انتقال داده شدند. مقدار ۲۰۰ میلی 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 PCR در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد برای انجام نگهداری شد. برای حصول اطمینان از صحّت انجام خالص سازی ژنوم، نمونه حاصل با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد مورد بررسی قرار گرفتند<sup>(۱۵)</sup>.

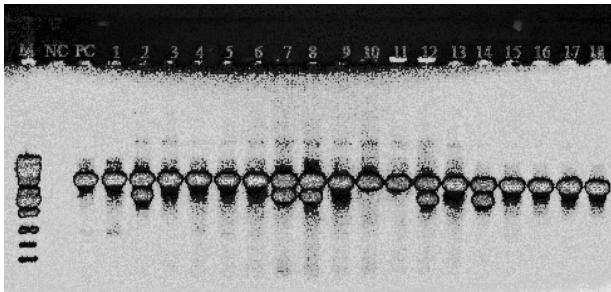
می‌باشد و همه ساله موجب زیان‌های جبران ناپذیر اقتصادی و تلفات انسانی می‌گردد. در هر سال حدود ۲ میلیون مورد متنه‌ی به مرگ به علت ابتلا به اسهال اتفاق می‌افتد که سالمونلا، شیگلا و کمپیلوباکتر سه عامل شایع اسهال‌های باکتریایی در سراسر جهان هستند و بر طبق آمارهای جهانی ۲ تا ۳۵ درصد این گونه اسهال‌ها ناشی از کمپیلوباکتر می‌باشد. از جمله افراد در معرض خطر، کودکان، افراد سالخورده و افرادی هستند که سیستم ایمنی ضعیفی دارند<sup>(۴)</sup>. علاوه بر گاستروانتریت، کمپیلوباکتریوز در افرادی که دارای HLA B-27 هستند، احتمالاً منجر به سندروم گیلن باره (Guillain-Barre syndrom) می‌گردد. این سندروم و آرتربیت دو عارضه مهم و دیررس عفونت ناشی از کمپیلوباکتر هستند<sup>(۵)</sup>.

مهمنترین گونه‌های بیماری‌ای کمپیلو باکتر در انسان شامل کمپیلوباکتر ژئونی و کمپیلوباکتر کلی می‌باشد که سگ‌ها مخزن اصلی این باکتری می‌باشند و می‌توانند بدون نشان دادن علائم بالینی بیماری حامل این باکتری باشند<sup>(۷)</sup>. از این رو تماس با حیوانات خانگی از جمله سگ‌های اهلی یکی از راههای انتقال این باکتری می‌باشد<sup>(۱۰)</sup>. با توجه به اهمیت موضوع از نظر اقتصادی و بهداشتی و سلامت جوامع انسانی، تشخیص سریع و دقیق این میکرووارگانیسم از حاملان این باکتری (از جمله سگ) ضروری می‌باشد. افزایش تمایل جوامع بشری برای نگه داری حیوانات خانگی از یک سو و امکان انتقال پاتوژن مذکور با این حیوانات

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

پرایمر	توالی پرایمر	Denaturation	Annealing	Extension	تعداد سیکل	اندازه محصول
16S rRNA	Forward: 5'-AATCTAACGGCTAACCATTA-3' Reverse 5'-GTAACTAGTTAGTATTCCGG-3'	°C ۹۵ Sec ۳۰	۵۸°C ۹۰ Sec.	°C ۷۲ sec ۶۰	۴۰	۸۱۶bp
glyA	Forward: TAGAGAGATAGCAAAAGAGA Reverse: TACACATAATAATCCCACCC	°C ۹۵ Sec ۳۰	۵۸°C ۹۰ Sec.	°C ۷۲ sec ۶۰	۴۰	۵۸۹bp

(۵) از (۶۰) از نمونه ها آلوده به کمپیلوباکتر ژرژونی بود(شکل شماره ۱).



شکل ۱- تصویر الکتروفوروز 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 ۸۱۶ جفت باز)، باند ۵ ۱۸ جفت باز در شماره های ۲، ۲، ۷، ۸، ۱۲ و ۱۴ مربوط به گونه ژرژونی می باشد.

بین شیوع کمپیلوباکتر با جنس سگ رابطه معنی داری دیده نشد ولی میزان شیوع کمپیلوباکتر در سگ های جوان نسبت به توله سگ ها و سگ های پیر به صورت معنی داری زیاد بود (نمودار شماره ۱). همچنین از ۵ مورد نمونه آلوده به کمپیلوباکتر ژرژونی ۴ مورد مربوط به سگ های جوان و یک مورد مربوط به سگ پیر بود (جدول شماره ۲).

## جدول ۲- خصوصیات کلی سگ های مورد بررسی و موارد مثبت کمپیلوباکتر در بین آنها

کمپیلوباکتر ژرژونی	آزمایش	موردنمود	سن	جنس	تعداد	موارد مثبت به	موارد مثبت	موارد مثبت
-	*	۱۰		توله*	۱			
۳	**	۱۰	نر	جوان**	۴			
-	***	۱۰		پیر***	۲			
-	*	۱۰		توله	۲			
۱		۱۰	ماده	جوان	۶			
			پیر		۱۰			
					۱			
					۳			
					۱۰			

\*۱۲ تا ۱۲ ماهه  
\*\*۱۲ تا ۴۸ ماهه  
\*\*\*۴۸ تا ۴۸ ماهه به بالا

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 ژرژونی (mapA) مورد استفاده قرار گرفت. نمونه ها جهت جستجوی کمپیلوباکتر به وسیله PCR با استفاده از پرایمرهای ثبت شده در جدول شماره ۲ (ساخت شرکت سیناژن، ایران) که قبلاً توسط Denis و Persson در سال ۲۰۰۲ به ثبت رسیده است مورد آزمون قرار گرفت (۶). سوش استاندارد کمپیلوباکتر ژرژونی ATCC 29428 از مؤسسه رازی خریداری و با استفاده از جار بی هوازی به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد منتقال 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 ۱/۵، ۱۰X میکرولیتر MgCl<sub>2</sub> ۵۰ میلی مolar، یک میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی مolar، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq پلی مراز، ۱ میکرولیتر با غلظت ۱۰ میلی مolar از هر کدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر DNA الگو) انجام شد. اجرای برنامه 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 داکیومتیشن (UVitec، UK) مشاهده شد. از مارکر ۱۰۰ DNA ۱۰ 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 آنواتی یک طرفه انجام گردید.

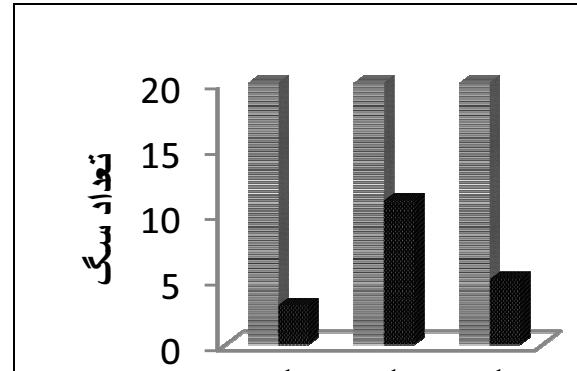
## نتایج

میزان آلدگی به جنس کمپیلوباکتر در نمونه های مدفوع سگ ۳۰ درصد (۱۸ از ۶۰) بود که ۸/۲۳ درصد

میزان حساسیت روش PCR به مراتب بیشتر از روش معمولی می‌باشد(۶).

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 (درصد) آلوده به کمپیلوباکتر بود (۱۴). 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 ۶۰ نمونه مدفوع سگ سالم، ۱۸ مورد (۳۰درصد) آلوده به کمپیلوباکتر بودند. که این میزان در بین سگ‌های سالم درصد بالایی می‌باشد. 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 (۱۴).

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 می‌شود. طی یک بررسی، میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در بین طوطی‌ها در پرو ۸ درصد نشان داده شد (۱۲). در بررسی پرندگان وحشی انگلستان شمالی، آمریکا و نیوزلند میزان آلودگی به کمپیلوباکتر به ترتیب  $1/4$ ،  $1/2$  و  $5/12$  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.



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

## بحث

کمپیلوباکتر یکی از عوامل اصلی ایجاد عفونت‌های گوارشی در انسان می‌باشد. در اتحادیه اروپا کمپیلوباکتریوز به عنوان شایعترین بیماری مشترک بین انسان و دام (zoonses) معروفی شده است. مهمترین گونه‌های بیماریزای کمپیلوباکتر در انسان شامل کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کلی می‌باشند. شیوع گونه‌های کمپیلوباکتر با منشا حیوانی در بسیاری از کشورها ثبت شده است، اما اطلاعات اندکی از کشورهای در حال توسعه موجود است (۱۶).

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 (۱۱،۱۷). 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

۲- رحیمی، م.ک. علمیگی، پ. موسوی، ل. عدیمی، پ. طبیعی، ز (۱۳۸۸): بررسی مبتلایان به اسهال خونی از نظر عفونت با کمپیلوباکتر ژرژونی. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. ۳(۱۹). صفحه ۲۱۲-۳۱۵.

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

۴- فیض آبادی، م. دولت آبادی، س. (۱۳۸۴): بررسی میزان شیوع عفونتهای کمپیلوباکتریائی در کودکان مبتلا به اسهال در دو بیمارستان تهران و تعیین مقاومت داروئی سویه‌های جداسده، مجله پژوهشی دانشکده پزشکی. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی. ۳(۲۹): صفحه ۲۲۴-۲۱۹.

۵- مهدی زاده، م، اسکندری، س. (۱۳۸۸): نقش کمپیلو باکتر ژرژونی 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.

سگ و گربه به عنوان مخازن کمپیلوباکتر ژرژونی و کمپیلوباکتر آپسانسیس هستند<sup>(۱۹)</sup>. عواملی که سبب شد در این تحقیق میزان فراوانی کمپیلوباکتر ژرژونی 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 خصوصاً کودکان دارد. آلوده بودن ۳۰ درصد از سگ‌های سالم به کمپیلوباکتر، نشان داد که سگ‌های سالم هم می‌توانند 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 چار سندرم گیلن باره شوند و از طرفی علاقه مردم به نگهداری سگ در خانه، شناسایی و درمان سگ‌های خانگی حامل کمپیلوباکتر ضروری به نظر می‌آید.

از آنجاییکه 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 می‌باشد. با این همه آلوده بودن ۸/۳۳ درصد از سگ‌ها به کمپیلوباکتر ژرژونی نشان داد که توجه به نقش سگ‌های سالم در انتقال کمپیلوباکتر ژرژونی ضروری می‌باشد. مطالعه همچنین نشان داده شد که تکنیک PCR برای تشخیص سریع حیوانات ناقل می‌تواند 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 گوسفنداری‌های اطراف تهران و اصفهان. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۳(۵۵): صفحه ۹۹-۹۱.

- 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): Efficient 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 Medicina Tropical 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.