

MAST® ANTİMİKROBİK REZİSTOTİPLENDİRME METODUNUN BROYLERLERDEN İZOLE EDİLEN *ARCOBACTER BUTZLERI* SUŞLARINA UYGULANMASI

Halil İbrahim Atabay¹@ Fuat Aydın¹

Application of the Mast® Resistotyping Scheme to *Arcobacter butzleri* strains isolated from commercial broilers

Summary: In this study, the applicability of Mast Resistotyping scheme, which was originally developed for the sub-typing of *Campylobacter* species, to *Arcobacter butzleri* strains isolated from broiler chickens was tested. The resistotyping scheme includes six antimicrobial agents comprising tetracycline (18µg); nalidixic acid (30µg); metronidazole (5µg); 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride (1000µg); 5-fluorouracil (80µg) and sodium arsenite (30µg), which are impregnated to paper discs, and the theory of the system is based on determination of the resistance of the bacterial strains to those antibiotics. All strains tested were found sensitive to tetracycline and 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride. Sixty-five percent, 15 %, 12 % and 9 % of the *A. butzleri* strains tested gave 66, 26, 06 and 46 code numbers, respectively, and 4 different resistotypes were obtained. Mast *Campylobacter* Resistotyping scheme was not found very suitable for the sub-typing of *A. butzleri* strains in this form, since there were few sub-types obtained with this system and the most strains gave the same code numbers (e.g. 22 of the 34 strains gave 66 code numbers). In addition, it is suggested that resistotyping scheme has to be made suitable for the sub-typing of *Arcobacter* species either by modifying the antimicrobial agents incorporated or by re-adjusting their concentrations.

Key words: *Arcobacter butzleri*, typing, broiler chickens, carcass

Özet: Bu çalışmada, *Campylobacter* türlerinin alt tiplendirilmesi amacıyla geliştirilmiş olan Mast rezistotiplendirme metodunun, ticari broyler karkaslarından izole edilen 34 adet *Arcobacter butzleri* suşuna uygulanabilirliği test edildi. Bu rezistotiplendirme metodu, kağıt disklerle emdirilmiş: tetracycline (18µg); nalidixic acid (30µg); metronidazole (5µg); 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride (1000µg); 5-fluorouracil (80µg) ile sodium arsenite (30µg) olmak üzere 6 adet antimikrobiyal maddeden oluşan ve bakteri suşlarının bu maddelere karşı direncinin saptanması teorisiyle geliştirilen bir alt tiplendirme metodudur. Test edilen suşların tamamı tetracycline ve 2,3,5, triphenyltetrazolium chlorid'e duyarlı bulundu. Mast rezistotiplendirme metodu ile *A. butzleri* suşlarının % 65, % 15, % 12 ve % 9'u sırasıyla 66, 26, 06 ve 46 kod numaralarını verdi ve 4 ayrı rezistotip elde edildi. Elde edilen alt tip sayısının azlığından ve suşların büyük çoğunluğunun (örneğin 34 suşun 22'si 66 kodunu verdi) aynı kod numarasını vermesinden dolayı, Mast *Campylobacter* rezistotiplendirme metodunun bu haliyle *A. butzleri* suşlarının alt tiplendirilmesi amacıyla yeterli olmadığı, kullanılan antimikrobiyal ajanların ya tamamen değiştirilmesi ya da konsantrasyonlarının yeniden ayarlanması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Arcobacter butzleri*, tiplendirme, broyler, karkas

Giriş

Vandamme ve ark. (1991; 1992a) yapmış oldukları detaylı taksonomik çalışmalar ile önceleri *Campylobacter* generisi içerisinde "aerotolerant-*Campylobacter*" olarak sınıflandırılan bir grup bakteri suşunu ayrı bir generis olarak ele almış ve bunları *Arcobacter* generisi olarak isimlendirmişlerdir. *Arcobacter*'ler fenotipik olarak *Kampilobakter*lere çok benzemelerine rağmen aerobik olarak üreyebilme özelliklerinden dolayı onlardan ayırt edilirler (Vandamme ve ark., 1992a). *Arcobacter* generisi içerisinde şu anda *Arcobacter butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* ve *A. nitrofigilis* olmak üzere dört ayrı tür bulunmaktadır. *Arcobacter*'ler ilk olarak abort yapmış sığır ve domuzlardan (Ellis ve ark., 1977; 1978; Higgins and Degre, 1979), daha sonraları ise insan ve hayvanlarda neonatal septisemi, gastroenterit, mastitis olmak üzere çeşitli hastalıklardan izole edil-

mişlerdir (Logan ve ark., 1982; Morgan ve ark., 1985; Tee ve ark., 1988; Vandamme ve ark.; 1992b; Lerner ve ark., 1994; Skirrow, 1994; On ve ark., 1995; Lauwers ve ark., 1995; Wesley, 1996; Engberg ve ark., 2000). Birçok hastalık olgusundan izole edilmesinden dolayı generis içerisinde en önemli tür *A. butzleri* olarak kabul edilmektedir (Skirrow, 1994; Wesley, 1996). *A. nitrofigilis* ilk defa bitkilerden izole edilmiş olup şu ana kadar herhangi bir hayvan ya da insan infeksiyon olgusundan izole edilmemiştir (McClung ve ark., 1983). *Arcobacter* türlerinin insan ve hayvanlara bulaşmalarının su ve gıda kaynaklı olduğu kabul edilmektedir (Wesley, 1996). *Arcobacter* türleri kanatlı hayvanların dışkı ve karkaslarından, içme suyu rezervuarından ve kırmızı etlerden de izole edilmiştir (Jacob ve ark., 1993; Collins ve ark., 1996; Atabay ve Corry., 1997; Atabay ve ark., 1998; Ridsdale ve ark., 1998).

Bilindiği gibi mikroorganizmalar arasında aynı türün farklı orijinlerden, yerlerden ve farklı zamanlarda toplanan farklı suşlar arasında genetik farklılıklardan ileri gelen değişik klon ve klonal gruplar mevcuttur. Suşlar arasındaki bu farklılıkların identifikasyonuna alt tiplendirme (sub-typing) ve kullanılan metotlara da tiplendirme (typing) metotları adı verilmektedir (Güler, 1998). Bu tiplendirme metotları da mikroorganizmaların kültürel ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesine (fenotipik tiplendirme) ve genotipik karakterlere (genotipik tiplendirme) bağlı olarak iki grup altında toplanmaktadır. Mikroorganizmaların alt tiplendirilmesi enfeksiyöz hastalıkların epidemiyolojisinde bulaşma kaynaklarının ve yollarının tespiti açısından oldukça önemlidir. Aynı zamanda herhangi bir hastalık vakasının araştırılmasında önceden belirlenen virulent klonların incelenen suşlar arasında bulunup bulunmadığını ortaya koymak ve bir patojenin eradikasyonuna karşı uygulanan immunizasyon programlarında hedef suşun bir varyant alt tip ile yer değişiminin söz konusu olup olmadığını kontrol etmede de önemlidir (Güler, 1998).

Rezistotiplendirme metodu, *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu ve hızlı bir şekilde alt tiplendirilmesi amacıyla geliştirilmiş bir tiplendirme metodudur (Bolton ve ark., 1992; Wareing ve ark., 1995). Altı adet farklı antimikrobiyel madde emdirilmiş kağıt disklerle karşı bakterilerin direncinin saptanması esasıyla geliştirilmiş bu Mast rezistotiplendirme metodunda kullanılan bu diskler birbirlerine antimikrobiyel bir ajan içermeyen halka şeklindeki bir aracı kol ile bağlı bulunmaktadır.

Çeşitli araştırmacılar, bu rezistotiplendirme metodunu değişik kaynaklardan izole edilen *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve *C. coli* suşlarına uyguladıklarında elde edilen en yaygın kod numaralarının 00, 02, 40 ve 44 olduğunu bildirmişlerdir (Moore ve ark., 1995; Ribeiro ve ark., 1996; Owen ve ark., 1997).

Bu çalışmada, orijinalde *Kampylobacter*'ler için geliştirilmiş olan Mast rezistotiplendirme metodunun ticari broylerlerden, farklı zamanlarda ve farklı kaynaklardan elde edilen *A. butzleri* suşlarının bu antimikrobiyel ajanlara karşı duyarlılığının tespit edilmesi, bu suşlar arasındaki klonal ilişkinin araştırılması ve bu metodun *arkobakter*'lere uygulanabilirliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Arcobacter suşları: Çalışmada 34 adet *Arcobacter butzleri* suşu kullanıldı. Bu suşlar İngiltere'de bir tavuk kesimhanesindeki tavuklardan ve bir süpermarkette satışa sunulan tavuklardan izole edilmişlerdir (Atabay ve Corry, 1997). Anılan

suşlar fenotipik (API Campy ve comprehensive probabilistic identification matrix) ve moleküler biyolojik (SDS-PAGE) yöntemler kullanılarak identifiye edilmişlerdir (Atabay ve ark., 1998).

Standart suş: Çalışmada kontrol amacıyla kullanılan standart *Arcobacter butzleri* suşu American Type Culture Collection'dan (ATCC-49616, ABD) temin edildi.

Campylobacter coli: Çalışmada kullanılan standart *C. coli* suşu ise National Type Culture Collection'dan (NCTC-11366, İngiltere) temin edildi.

Mast antimikrobik rezistotiplendirme metodu: Bunun için Mast Camp Bioring (MID/CAMP, Mast laboratuvarları, Bootle, İngiltere) hazır kitleri kullanıldı. Mast rezistotiplendirme metodu üretici firmanın prospektüsüne göre uygulanmış ve değerlendirilmiştir. Bu sistem altı kollu kağıt disklerden oluşmaktadır. Bu kolların yuvarlaklaştırılmış uçlarına: tetracycline (T, 18µg); nalidixic acid (NA, 30µg); metronidazole (MZ, 5µg); 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride (TTC, 1000µg); 5-fluorouracil (FUR, 80µg) ve sodium arsenite (SAR, 30µg) emdirilmiştir. İnhibisyon zonu 12 mm'den daha az olanlar rezistans (R) olarak sınıflandırılmakta ve alan hacmine bağlı olarak her bir antimikrobiyel ajan için, sırasıyla 1, 2, 4 skor değeri verilmektedir. İnhibisyon zonu 12 mm'den daha büyük olanlar sensitif (S) ve bundan dolayı rezistotiplendirme sistemde '0' olarak değerlendirilmektedir. Bu metotta iki bölümlü rezitotip kodu kullanılmaktadır. Bunlardan birinci bölüm T (tetracycline), NA (nalidixic acid) ve MZ (metronidazole), ikinci bölüm ise TTC (triphenyltetrazolium chloride), FUR (5-fluorouracil) ve SAR (sodium arsenite) antimikrobik ajanlarına karşı oluşturulan skorlar toplamını ifade etmektedir.

Bakteri suşları 37°C'de, % 5 defibrine koyun kanı içeren kanlı agarda mikroaerobik olarak 48-72 saat inkubasyona tabi tutuldu. İnkübasyon süresi sonunda oluşan kolonilerden her bir suş için % 0.1 peptonlu su (LabM, İngiltere) içerisinde McFarland standard no.1 ayarında süspansiyonlar hazırlandı. Bu süspansiyondan 1.5 ml blood-free charcoal-based campylobacter biotyping agar (Mast DM606, İngiltere) içeren 90 mm çapındaki petri plağının yüzeyine inokule edildi. Fazla sıvı steril bir pastör pipet ile alındı ve plaklar oda ısısında kurumaya terk edildi. Her bir petriye merkezi olarak bir adet Mast rezistotiplendirme diskleri yerleştirildi. Petri plakları mikroaerobik olarak 37°C'de inkübe edildi ve inkübasyonun 1. ve 2. gününde sonuçlar okundu.

Bulgular

Çalışmada, Tablo 1'de de görüldüğü gibi 66, 26, 06 ve 46 olmak üzere toplam 4 ayrı rezistotip elde edildi. Otuzbeş suşun 22'si, *A. butzleri* referans suşu dahil (ATCC-49616), 66 kodunu verdi.

Suşların % 15'i ise 26 kodunu oluşturdu. Dört adet suş 06 kodunu verdi. Otuz dört suşın 3'ü (% 9) ise 46 kodunu verdi. Araştırmada kontrol amacıyla kullanılan standart *C. coli* suşu beklenildiği gibi 32 kodunu verdi.

Tablo 1. *Arcobacter butzleri* suşlarının vermiş olduğu rezistotip kodları ve yüzdeleri.

Rezistotip kodu*	Aynı kodu veren suşların sayısı	Rezistotip frekansı (%)**
66	22	65
26	5	15
06	4	12
46	3	9

* : Mast rezistotiplendirme metodu ile elde kod numaraları.

** : Aynı kod numarasını veren suşların yüzdeleri.

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada kullanılan suşların % 65'inin 66 kod numarası vermesi gösteriyor ki; *Arcobacter* türlerinde, *Campylobacter*'ler için geliştirilen Mast rezistotiplendirme metodunda kullanılan antimikrobiyel ajanlara karşı, tetracycline ve 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride hariç, bir direnç söz konusudur. Test edilen suşların % 15'i ise tetracycline, metronidazole ve 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride'e duyarlı olup 26 kod numarası vermiştir. Sıfırlı (06) kodunu veren suşlar ise tetracycline, nalidixic acid, metronidazole ve 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride'e duyarlılık göstermiştir. Otuz dört suşın 3'ü ise tetracycline, nalidixic acid ve 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride'e duyarlılık gösterdiğinden suşların % 9'u 46 kodunun vermiştir.

Arcobacter butzleri suşları rezistanslık profilleri açısından incelendiğinde suşların tamamının tetracycline'in 18 µg'ına ve 2,3,5, triphenyltetrazolium chloride'in 1000 µg'ına karşı duyarlılık gösterdiği saptanmıştır. Bu da gösteriyorki bu etkenden ileri gelen infeksiyonlardaki tedavide tıpkı *Kampylobacter*'lerden ileri gelen hastalık durumlarında önerildiği gibi (Skirrow ve Blaser, 1992) tetracycline tercih edilmesi gereken bir antibiyotiktir. Test edilen suşların tamamı ise 5-fluorouracil (80µg) ve sodium arsenite (30µg)'e karşı dirençlilik göstermiştir. 5-fluorouracil genelde *arcobacter*'lerin izolasyonu amacıyla geliştirilen besiyerlerinde selektif ajan olarak kullanılmaktadır (Collins ve ark., 1996). Test edilen *A. butzleri* suşlarının sırasıyla % 15 ve % 12'si ise metronidazole (5µg) ve nalidixic acid (30µg)'e duyarlılık göstermiştir.

Bir alt tiplendirme metodunu değerlendirmede; elde edilen bir çok suşu tiplendirebilme, çeşitli zamanlarda ve farklı merkezlerde tekrarlanabilme ve ucuz ya da uygulanabilirliğinin kolay olması (Güler, 1998) gibi özellikler aranmaktadır. Bu araştırmada

kullanılan rezistotiplendirme metodu orijinal olarak termofilik *kampylobakter* türleri, *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* için geliştirilmiş olup (Bolton ve ark., 1992; Wareing ve ark., 1995), bir çok araştırmacı tarafından *Kampylobacter*'lere uygulanabilirliği de test edilmiştir (Moore ve ark., 1995; Ribeiro ve ark., 1996; Owen ve ark., 1997). Nitekim, Owen ve ark. (1997) değişik kaynaklardan izole edilen 158 *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve 70 *C. coli* suşuna bu metodu uygulamışlar ve *C. jejuni* subsp. *jejuni* için 14, *C. coli* için ise 16 rezistotip saptamışlardır. Araştırmacılar, *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve *C. coli* için en yaygın kod numaralarını 00 ve 40 olarak belirlemişler ve bu rezistotiplendirme metodunun basit ve suşların alt tiplendirilmesi için hızlı bir metot olduğunu bildirmişlerdir. Yine Moore ve ark. (1995), bu rezistotiplendirme metodunu 54 insan, 183 tavuk ve 24 domuz orijinli *C. jejuni* subsp. *jejuni* suşuna uygulamış ve suşların tamamını tiplendirmişlerdir. Bu çalışma, *Kampylobacter* türlerinden *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve *C. coli* için iyi bir alt tiplendirme metodu olduğu ispat edilen (Moore ve ark., 1995; Owen ve ark., 1997) Mast rezistotiplendirme metodunun *Arcobacter* türlerine uygulandığı ilk çalışmadır. Çalışmada kullanılan suşların % 65'inin (34 suşın 22'si) aynı kodu vermesinden dolayı bu metodun bu şekliyle *arcobacter*'ler için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. *Kampylobacter*'ler için enfeksiyöz ve salgın hastalıkların araştırılmasında lokal merkezlerde tiplendirme metodu olarak kullanılması önerilen bu metodun (Ribeiro ve ark., 1996; Owen ve ark., 1997), kullanılan antibakteriyel ajanların bazılarının ya tamamen değiştirilmesi ya da bunların konsantrasyonlarının değiştirilip yeniden *Arcobacter* türlerine uygun hale getirilmesi gerekmektedir. *Arcobacter* türleri genetik olarak oldukça farklılık gösteren bakterilerdir (Manke ve ark., 1998). *Arcobacter*'ler için geliştirilecek olan rezistotiplendirme metodlarının bu genetik farklılığı saptayacak boyutta olması sağlanmalıdır.

Sonuç olarak Mast *Campylobacter* rezistotiplendirme metodunun *Arcobacter* suşlarının alt tiplendirilmesi için bu haliyle yeterli olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle bu sistemde bulunan bazı antibakteriyel ajanlara karşı *Arcobacter* türlerinin MIC (Minimum Inhibition Concentrations) lerinin belirlenmesi ve bu antibakteriyel ajanların ya tamamen değiştirilip ya da kullanılan bu ajanların konsantrasyonlarının yeniden ayarlanması gerekmektedir. Aynı zamanda, geliştirilecek kitin daha fazla sayıda ve farklı kaynaklardan gelen suşlar ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

Atabay, H.I., Corry, J.E.L. (1997). The prevalence of campylobacters and arcobacters in broiler chickens. J. Appl. Microbiol., 83, 619-626.

- Atabay, H.I., Corry, J.E.L., On, S.L.W. (1998). Diversity and prevalence of *Arcobacter* spp. in broiler chickens. *J. Appl. Microbiol.* 84, 1007-1016.
- Bolton, F.J., Wareing, D.R.A., Skirrow, M.B., Hutchinson, D.N. (1992). Identification and biotyping of campylobacters. In 'Identification Methods in Applied and Environmental Microbiology'. Ed. Board, R.G., Jones, D. and Skinner, F.A. pp.151-161. Academic Press, London.
- Collins, C.I., Wesley, I.V., Murano, E.A. (1996). Detection of *Arcobacter* spp. in ground pork by modified plating methods. *J. Food. Protect.* 59, 448-452.
- 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, 451-452.
- Ellis, W.A., Neill, S.D., O'Brien, J.J., Hanna, J. (1978). Isolation of *Spirillum*-like organisms from pig fetuses. *Vet. Rec.* 102, 106.
- Engberg, J., On, S.L.W., Harrington, C.S., Gerner-Smidt, P. (2000). Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter*, and *Suteralla* spp. in human fecal samples as estimated by a reevaluation of isolation methods for campylobacters. *J. Clin. Microbiol.* 38, 1, 286-291.
- Güler, L. (1998). Mikrobiyal tiplendirme yöntemleri. *Veterinarium.* 9, 1, 82-91.
- Higgins, R., Degre, R. (1979). Isolation of *Spirillum*-like organisms from pig and bovine fetuses. *Vet. Rec.* 104, 262-263.
- Jacob, J., Lior, H., Feuerpfel, I. (1993). Isolation of *A. butzleri* from a drinking water reservoir in Eastern Germany. *Zentralbl. Hyg.*, 193, 557-562.
- Lammerding, A.M., Harris, J.E., Lior, H., Woodward, D.E., Cole, L., Muckle, C.A. (1996). Isolation method for recovery of *Arcobacter butzleri* from fresh poultry and poultry products. In "Campylobacter VIII. Proceedings of the 8th International Workshop on Campylobacters, Helicobacters and Related Organisms." ed. Newell, D.G., Kettle, J. and Feldman, R.A. pp. 329-334. J. Plenum Publishing Corporation, New York.
- Lauwers, S., Breynaert, J., Van Etterijck, R., Revets, H., Mets, T. (1995). *Arcobacter butzleri* in the elderly in Belgium. In 'Abstracts of 8th International Workshop on Campylobacters, Helicobacters and Related organisms Winchester, England' G 2/3, 93.
- Lerner, J., Brumberger, V., Preac-Mursic, V. (1994). Severe diarrhoea associated with *A. butzleri*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 13, 660-662.
- Logan, E.F., Neill, S.D., Mackie, D.P. (1982). Mastitis in dairy cows associated with an aerotolerant Campylobacter. *Vet. Rec.*, 110, 229-230.
- Manke, T.R., Wesley, I.V., Dickson, J.S., Harmon, K.M. (1998). Prevalence and genetic variability of *Arcobacter* species in mechanically separated turkey. *J. Food Protect.*, 61, 1623-28.
- McClung, C.R., Patriquin, D.G., Davis, R.E. (1983). *Campylobacter nitrofigilis* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with roots of *Spartina alterniflora* Loisel. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 33, 605-612.
- Moore, J.E., O'Riordan, L., Wareing, D.R.A., Wilson, T.S. Bolton, F.J., Murphy, P.G. (1995). Employment of the Mast *Campylobacter* disc typing scheme to help elucidate epidemiological sources of human infection in Northern Ireland. In 'Abstracts of 8th International Workshop on Campylobacters, Helicobacters and Related organisms Winchester, England' G 3/18, 104.
- Morgan, G., Chadwick, P., Lander, K.P., Gill, K.P.W. (1985). *Campylobacter* mastitis in a cow: a zoonosis-related incident. *Vet. Rec.* 116, 111.
- On, S.L.W., Stacey, A and Smyth, J. (1995). Isolation of *Arcobacter butzleri* from a neonate with bacteraemia. *J. Infect.* 31, 225-227.
- Owen, R.J., Lorenz, E. and Gibson, J. (1997). Application of the Mast resistotyping scheme to *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *J. Med. Microbiol.*, 46, 34-38
- Ribeiro, C.D., Thomas, M.T., Kembrey, D., Magee, J.T., North, Z. (1996). Resistotyping of campylobacters: fulfilling a need. *Epidemiol. Infect.*, 116, 169-175.
- Ridsdale, J.A., Atabay, H.I., Corry, J.E.L. (1998). Prevalence of campylobacters and arcobacters in ducks at the abattoir. *J. Appl. Microbiol.*, 85, 567-573.
- Skirrow, M.B. and Blaser, M.J. (1992). Clinical and epidemiologic considerations. In 'Campylobacter jejuni: Current Status and Future Trends' Ed. Nachamkin, I., Blaser, M.J. and Tompkins, L.S. pp. 3-8. American Society for Microbiology, Washington.
- Skirrow, M.B., (1994). Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter*, and related bacteria. *J. Comp. Pathol.*, 111, 113-149.
- Tee, W., Baird, R., Dyal-Smith, M., Dwyer, B. (1988). *Campylobacter cryaerophila* isolated from a human. *J. Clin. Microbiol.*, 26, 2469-2473.
- 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. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41, 88-103.
- Vandamme, P., Vancanneyt, M., Pot, B., Mels, L., Hoste, B., Dewettinck, D., Vlaes, L., Van Den Burre, C., Higgins, R., Hommez, J., Kersters, K., Butzler, J.-P., Goossens, H. (1992a). Polyphasic taxonomic study of the emended genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. nov. and *Arcobacter skirrowii* sp. nov., an aerotolerant bacterium isolated from veterinary specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 42, 344-356.
- Vandamme P., Pugina P., Benzi G., Van Vanetterijck, R., Vlaes, L., Kesters, K., Butzler, J.-P., Lior, H., Lauwers, S. (1992b). Outbreak of recurrent abdominal cramps associated with *Arcobacter butzleri* in an Italian school. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 2335-37.
- Wareing, D.R., Tye, G., Bolton, F.J., Hutchinson, D.N. (1995). Biotyping of thermophilic campylobacters with a new disc susceptibility scheme and identification using three rapid biochemical tests. In 'Abstracts of 8th International Workshop on Campylobacters, Helicobacters and Related organisms Winchester, England' G 3/30, 108.
- Wesley, I.V. (1996). *Helicobacter* and *Arcobacter* species: Risks for foods and beverages. *J. Food Prot.*, 59, 10, 1127-1132.