

Metode *Direct Polymerase Chain Reaction* untuk Melacak *Campylobacter sp.* pada Daging Ayam

(*DIRECT POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD
FOR DETECTION CAMPYLOBACTER SP. OF POULTRY MEAT*)

**Andriani¹, Mirnawati Sudarwanto², Surachmi Setiyaningsih²,
Harsi Dewantari Kusumaningrum³**

¹Laboratorium Bakteriologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata 30 Bogor,
²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, ³Fakultas Teknologi Pangan,
IPB, Dramaga, Bogor
e-mail: andribalitvet@gmail.com. Telepon: 0251-8334456.

ABSTRAK

Campylobacter sp. adalah bakteri agen *foodborne zoonosis* yang menyebabkan gastroenteritis akut pada manusia. Daging ayam telah dilaporkan sebagai sumber infeksi *Campylobacter jejuni* pada manusia. Metode konvensional untuk deteksi bakteri yang ditularkan melalui bahan makanan memerlukan waktu lebih lama dengan terlebih dahulu menumbuhkan bakteri pada media dan dilanjutkan dengan identifikasi secara biokimia. Metode cepat *polymerase chain reaction* (PCR) untuk mendeteksi *Campylobacter sp.* telah banyak dilaporkan. Terhadap 298 sampel karkas ayam yang dibeli dari swalayan dan pasar tradisional dilakukan isolasi *Campylobacter* mengikuti ISO/ DIS 10272-1994 dan selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan *API Campy*. Metode *direct PCR* menggunakan dua pasang primer digunakan untuk melakukan isolasi dan identifikasi *C. jejuni* dan *C. coli*. Prevalensi kontaminasi *Campylobacter sp.* pada daging ayam lebih tinggi pada uji *direct PCR* (DPCR) (62,6%) dibandingkan dengan cara konvensional (19,8%). Hal tersebut menunjukkan bahwa metode DPCR lebih sensitif jika dibandingkan dengan metode konvensional untuk mendeteksi kontaminan *Campylobacter sp.* dengan batas minimum deteksi *C. jejuni* 10³ cfu/ ml.

Kata-kata kunci : *direct PCR*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, daging ayam.

ABSTRACT

Campylobacter sp. is the most commonly reported as agent of foodborne zoonosis causing acute gastroenteritis in humans. Poultry meat is considered as a major source of *C. jejuni* infection in human. The conventional methods for detecting foodborne bacteria is time-consuming which rely on the of the bacteria in culture media, followed by biochemical identification. In this study polymerase chain reaction (PCR) technique was used for rapid identification of the pathogenic *Campylobacter sp.* The samples used were 298 chicken carcass with sold in supermarkets and traditional markets, and were carried out in accordance the isolation protocol ISO/ DIS 10272-1994. Identification was performed using biochemical *API Campy*. The *direct PCR* (DPCR) assay with two sets of primers was employed for isolation and identification of *C. jejuni* and *C. coli*. The result of the isolation and identification both by conventional or PCR methods showed that chicken carcasses both from supermarket and traditional market were contaminated with *C. jejuni* and or *C. coli*. Prevalence of *Campylobacter sp.* contamination in chicken meat was higher by DPCR (62.6%) than by conventional (19.8%), indicating that DPCR technique was more sensitive than conventional method with detection limit for *C. jejuni* was 10³ cfu/ml.

Key words : *direct PCR*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, poultry meat

PENDAHULUAN

Bakteri *Campylobacter jejuni* adalah agen *foodborne zoonosis* yang menyebabkan gastroenteritis akut pada manusia. Genus *Campylobacter* termasuk dalam famili *Spirallaceae*. *Campylobacter disease* dapat disebabkan oleh infeksi *Campylobacter* sp. kelompok termofilik, yaitu *C. jejuni*, *C. coli*, dan *C. laridis* (Shane, 1991). Infeksi *C. jejuni* selain menyebabkan gastroenteritis pada manusia, juga berhubungan dengan kondisi *autoimmune* yang disebut *Guillain-Barre Syndrome* (GBS) (Raymond *et al.*, 2001). *Kuman C. jejuni* dan *C. coli* adalah bakteri enterik yang patogen pada manusia dan hewan.

Kejadian *campylobacteriosis* telah banyak dilaporkan baik di negara-negara maju mau pun berkembang. Kejadian *campylobacteriosis* pada manusia di Indonesia pernah dilaporkan oleh Ringertz *et al.*, (1980). Poeloengan dan Noor (2003) menyatakan bahwa karkas ayam yang diperoleh dari pasar tradisional dan swalayan di daerah DKI Jakarta, Sukabumi, dan Bogor telah terkontaminasi *C. jejuni*.

Di Taiwan, dilaporkan bahwa sebanyak 55%, 20%, 30%, dan 30% masing-masing dari karkas ayam, bebek, babi, dan susu segar dapat diisolasi *C. jejuni* (Shao *et al.*, 2006). Di Irlandia Utara dilaporkan 64,7% karkas ayam telah terkontaminasi oleh *C. jejuni* dan *C. coli* (Flynn *et al.*, 1994).

Dosis infeksi *C. jejuni* pada manusia sangat rendah yaitu 900 sel (Stern dan Pretanik, 2006). Sumber utama infeksi *C. jejuni* disebabkan karena mengkonsumsi daging ayam, daging sapi, dan susu yang telah terkontaminasi. Menurut Lindqvist *et al.*, (2000) dan Kramer *et al.*, (2000), kontaminasi *C. jejuni* yang paling banyak terjadi pada daging ayam.

Kejadian infeksi *Campylobacter* sp. pada hewan sangat bervariasi, akan tetapi infeksi *C. jejuni* pada peternakan ayam memegang peranan penting. Usaha mengurangi kejadian infeksi pada ayam merupakan usaha yang penting untuk memperbaiki sistem produksi dan untuk mengurangi kejadian kontaminasi agen infeksi *C. jejuni* serta mempunyai peranan penting dalam bidang kesehatan masyarakat.

Metode cepat untuk deteksi *C. jejuni* sangat diperlukan untuk mengetahui sumber kontaminasi. Metode *direct* PCR (DPCR) merupakan deteksi cepat dan sensitif untuk menentukan keberadaan bakteri patogen dalam

sampel tanpa melakukan isolasi DNA (Fode-Vaughan *et al.*, 2001). Metode DPCR digunakan sebagai teknik deteksi dasar dalam produksi bahan pangan untuk meningkatkan standar keamanan pangan (Archana dan Taha, 2010). Menurut Blackburn dan Clure (2003) *Campylobacter* sp. adalah mikroorganisme yang sulit dikultur. Pendekatan secara molekuler untuk mendeteksi bakteri kontaminan dalam bahan pangan terutama *Campylobacter* sp. mampu membedakan sampai tingkat spesies.

Metode PCR telah dikembangkan oleh peneliti sebelumnya dengan menggunakan primer yang spesifik untuk mendeteksi *C. jejuni*. Gonzales (1997) menggunakan *gene probe ceuE* sebagai komponen *binding protein transport system* terhadap *siderophore enterochelin*. Sekuen gen *cdt (cytolethal distending toxin)* dapat digunakan untuk membedakan spesies *C. jejuni* dan *C. coli* (Eyigor *et al.*, 1999).

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi *C. jejuni* secara konvensional menggunakan media selektif dan deteksi cepat molekuler secara PCR. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui sensitivitas metode DPCR mendeteksi *Campylobacter* sp. pada daging ayam yang dijual di swalayan dan pasar tradisional sebagai agen *foodborne disease* dengan menggunakan pasangan primer *HipO* sebagai *novel* primer untuk menentukan spesies *C. jejuni* dan pasangan gene *GlyA* untuk membedakan spesies *C. jejuni* dan *C. coli* (Wang *et al.*, 2002).

METODE PENELITIAN

Sampel

Sebanyak 298 sampel karkas ayam diperoleh dari pasar tradisional dan swalayan di daerah DKI Jakarta, Jawa Barat (Bogor dan Sukabumi), dan Jawa Tengah (Kudus dan Demak) dari tahun 2009 sampai 2011. Banyaknya sampel yang diambil pada tahun 2009 dan 2010 sebanyak 100, sedangkan pada tahun 2011 adalah 98 sampel. Sampel yang dikoleksi dimasukkan ke dalam kantong plastik kedap udara, kemudian dimasukkan ke dalam boks pendingin untuk dibawa ke laboratorium untuk dilakukan uji. Laboratorium yang digunakan penelitian adalah laboratorium Bakteriologi Balai Besar Penelitian Veteriner, Laboratorium Kesmavet Fakultas Kedokteran

Hewan IPB, dan Laboratorium Terpadu FKH IPB.

Isolasi dan Identifikasi secara Konvensional (ISO/DIS 10272-1994)

Sebanyak 298 sampel masing-masing sampel diambil 25 gram dimasukkan ke dalam kantong steril yang berisi media *Nut Broth* No 2 (Oxoid) yang telah ditambah *growth supplement* (Oxoid SR 232E), diinkubasikan pada suhu 42°C selama 24 jam dalam kondisi mikroerofilik (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂). Setelah inkubasi kultur tersebut diinokulasikan pada media *Campylobacter Blood Free Selective Agar Base (modified CCDA-Preston)* (Oxoid) yang mengandung *CCDA selective supplement* (Oxoid SR 155E), kemudian diinkubasikan kembali pada suhu dan kondisi mikroerofilik selama 24-48 jam. Selanjutnya dilakukan identifikasi (Barrow dan Feltham, 2003) uji oksidase, motilitas, fermentasi glukosa, laktosa, sukrosa dan identifikasi secara biokimia menggunakan API *Campy test* (BioMerieux).

Identifikasi Secara Molekular Isolat Murni Standar

Beberapa koloni isolat standar *American Type Culture Collection (ATCC) Campylobacter* sp. hasil isolasi dimasukkan ke dalam 1 ml akuades kemudian dikocok dengan menggunakan vorteks. Kekeuhan diukur pada OD 0.3 dengan panjang gelombang 600 nm, dan disentrifus dengan kecepatan 12 000 rpm selama lima menit. Purifikasi DNA dilakukan dengan cara menambahkan akuades 100 ml (1:500) pada pelet, kemudian dipanaskan dalam air mendidih dengan suhu 100°C. Setelah 10 menit dipanaskan, segera didinginkan dan disentrifus kembali dengan kecepatan 12 000 rpm selama lima menit, suspensi yang diperoleh merupakan DNA (Alexandrino *et al.*, 2004).

Kultur Bakteri

Sampel karkas ayam dalam suspensi media *Nut Broth* No 2 yang telah diinkubasikan (lihat

isolasi dan identifikasi), diambil sebanyak 1 ml kemudian disentrifus dengan kecepatan 10 000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Pelet yang diperoleh ditambah 1 ml akuades dan disentrifus kembali dengan kecepatan 12 000 rpm selama 5 menit. Purifikasi DNA dilakukan dengan cara menambahkan akuades 100 ml (1:500) pada pelet, kemudian dipanaskan dalam air mendidih dengan suhu 100°C. Setelah 10 menit, suspensi segera didinginkan dan disentrifus kembali dengan kecepatan 12 000 rpm selama 5 menit, selanjutnya suspensi yang ada diambil sebagai DNA (Alexandrino *et al.*, 2004).

Analisa

Primer yang digunakan untuk mengidentifikasi gen *hippuricase (HipO)* dan *serine hydroxymethyl transferase (GlyA)* disajikan pada Tabel 1 adalah produksi *Eurogentec Ait*, Singapore. Amplifikasi DNA dilakukan pada mesin PCR dengan 35 cycle pada suhu *initial denaturation* 95°C selama 6 menit, *denaturation* 95°C selama 30 detik, *annealing* 59°C selama 30 detik, *extension* 72°C selama 30 detik dan *final extension* 72°C selama 7 menit (Wang *et al.*, 2002).

Produk PCR kemudian diperiksa dengan electrophoresis gel agarose. Agarose gel 1% dengan 1x TBE (*Tris Boric EDTA*) ditambah 5 ml *ethidium bromide solution*. *Run electrophoresis* 150 volt selama 30 menit, visualisasi (untuk melihat pita gen target) digunakan *transluminator ultraviolet*.

Sensitivitas Uji Direct PCR

Sensitivitas uji DPCR dilakukan seperti yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya Fode-Vaughan *et al.* (2003) untuk mengetahui jumlah minimum koloni (cfu/ml) yang mampu dideteksi dengan metode DPCR menggunakan pasangan basa gen *HipO*. Besarnya sensitivitas ditentukan dengan menumbuhkan suspensi koloni yang sudah dilakukan pengenceran berseri. Suspensi yang telah diketahui jumlah koloni pada

Tabel 1. Primer yang digunakan untuk PCR (Wang *et al.*, 2002)

Primer	Sekuen	Gen target	Ukuran (bp)
CJ-F	ACT TCT TTA TTG CTT GCT GC	<i>C. jejuni Hip</i>	323
CJ-R	GCC ACA ACA AGT AAA GAA GC		
CC-F	GTA AAA CCA AAG CTT ATC GTG	<i>C. coli GlyA</i>	126
CC-R	TCC AGC AAT GTG TGC AAT G		

masing-masing pengenceran selanjutnya dilakukan purifikasi DNA dengan teknik seperti di atas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode Konvensional

Karkas ayam yang dipakai sampel diambil di pasar tradisional dan swalayan dari beberapa kota yaitu Bogor, Sukabumi, DKI Jakarta, dan Jawa Tengah pada tahun 2009 sampai 2011, dengan terlebih dahulu dilakukan isolasi dan identifikasi *Campylobacter* sp. Selanjutnya dilakukan uji menggunakan API-Campy test kit untuk mengidentifikasi dengan prinsip menguji isolat *Campylobacter* spp. secara biokimia. Menurut Hu dan Kopecko (2003) yang dapat membedakan *C. jejuni* dan *C. coli* dengan menggunakan uji hidrolisis enzim hipurat karena *C. jejuni* mampu menghidrolisis enzim tersebut sedangkan *C. coli* tidak. Identifikasi untuk membedakan spesies *C. jejuni* dan *C. coli* menggunakan hidrolisis enzim hipurat juga dilakukan oleh Jamshidi *et al.*, (2008) dengan hasil 76% dari 100 sampel genus *Campylobacter* sp. adalah *C. jejuni* sebagian besar bereaksi positif dan hanya dua sampel yang negatif menghidrolisis enzim hipurat.

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa dari 59 isolat *Campylobacter* sp yang diperoleh dari tahun 2009 sampai 2011, sebanyak 48 (81,4%) merupakan isolat *C. jejuni* dan 11 (18,6%) adalah isolat *C. coli*.

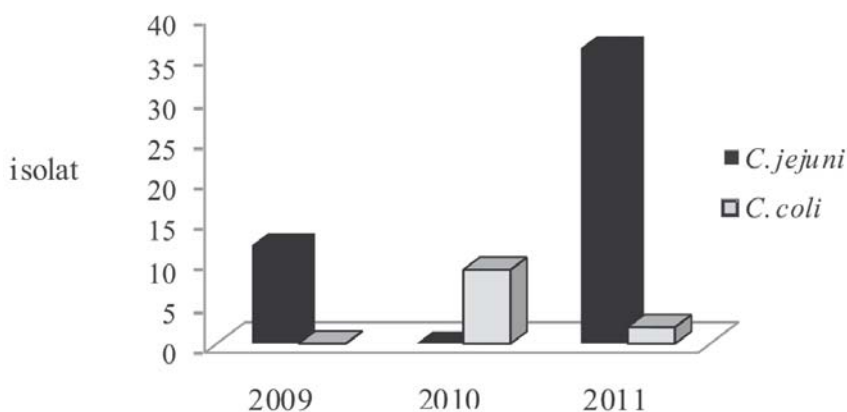
Hasil ini memperlihatkan bahwa karkas ayam yang diambil dari pasar tradisional maupun pasar swalayan telah terkontaminasi oleh *C. jejuni* dan *C. coli* (Gambar 1). Beberapa

peneliti sebelumnya telah melaporkan bahwa daging ayam yang dijual di pasar di Amerika Serikat telah terkontaminasi *C. jejuni* dan *C. coli* adalah 2,3 sampai 98% (Stern dan Line, 1992; Meldrum *et al.*, 2005; Stern dan Pretanik, 2006). Identifikasi secara biokimia menggunakan metode yang sama dengan API Campy test kit telah dilaporkan oleh Flynn *et al.*, (1994) bahwa 99 (64,7%) dari 153 sampel sayap ayam positif terkontaminasi *Campylobacter* sp. Sebanyak 70 (45,7%) teridentifikasi *C. jejuni* dan *C. coli*. Sebanyak 45 (29,4%) *C. jejuni*, dan 25 (16,3%) *C. coli*.

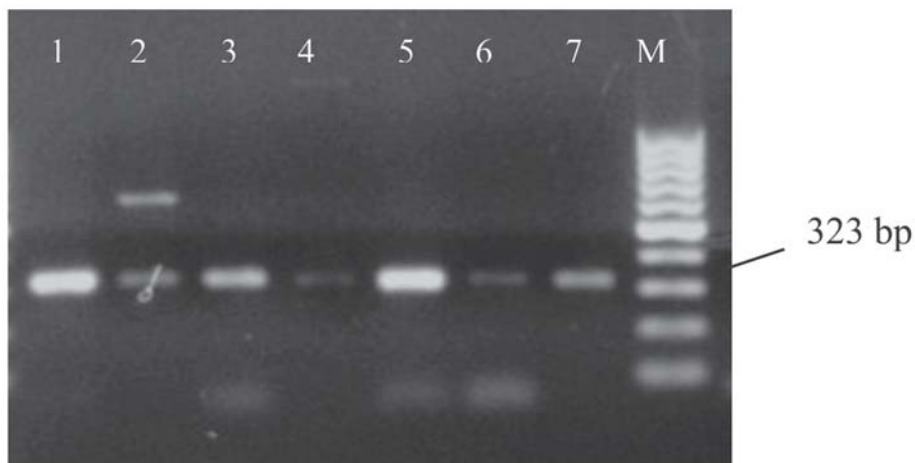
Metode PCR

Karakterisasi genetik isolat *Campylobacter* sp. dilakukan secara PCR. Primer yang digunakan yaitu gen *HipO* dan *GlyA*. Gen *HipO* (*Hippuricase*) merupakan *novel primer* yang hanya terdapat pada *C. jejuni*. Strain ini memberikan reaksi positif pada uji hidrolisis hipurat (Wang *et al.*, 2002), sedangkan *C. coli* memberikan reaksi negatif (Nakari *et al.*, 2008) dengan besaran target gen yang diharapkan yaitu *C. jejuni* pada 323 bp. Target gen *C. jejuni* menggunakan primer gen *HipO* terdapat pada lokasi gen 1662-1965 bp menunjukkan hasil positif *C. jejuni* pada pita 323 bp yang disajikan pada Gambar 2.

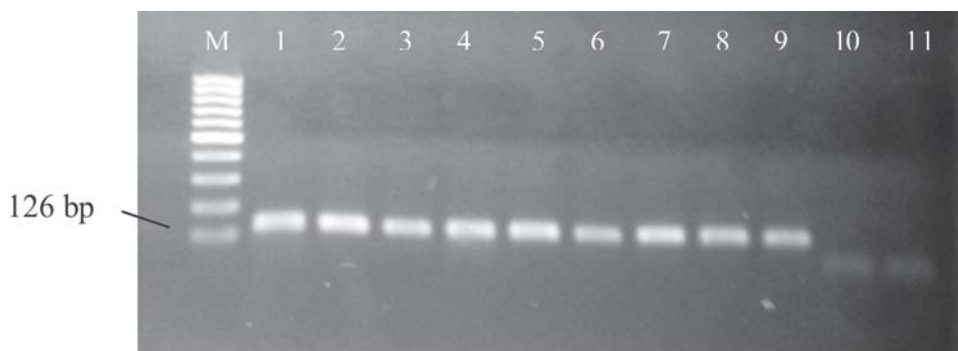
Gen *GlyA* mengkode *serine hydroxymethyl-transferase* bersifat sangat *conserve* yang terdapat pada *Campylobacter thermophilik* seperti *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* (Wang *et al.*, 2002). Lokasi gen target terletak pada 337-444 bp dengan ukuran 126 bp (Gambar 3).



Gambar 1 Isolat *C. jejuni* dan *C. coli* yang diambil dari karkas ayam pada tahun 2009-2011.



Gambar 2 Hasil PCR menggunakan primer *HipO* yang dipisahkan dalam agarose 1% dari isolat yang berasal dari ATCC *C. jejuni* pada sumur 7 sebagai kontrol positif dan sampel pada sumur 1-6.

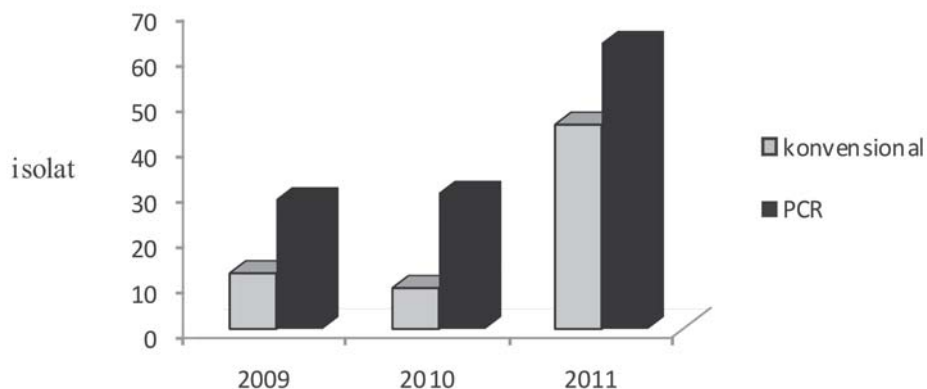


Gambar 3 Hasil PCR menggunakan primer *GlyA* (sumur 1-9) dan *HypO* (sumur 10 dan 11) isolat yang berasal dari sampel (sumur 2-9) dan ATCC *C. coli* (sumur1).

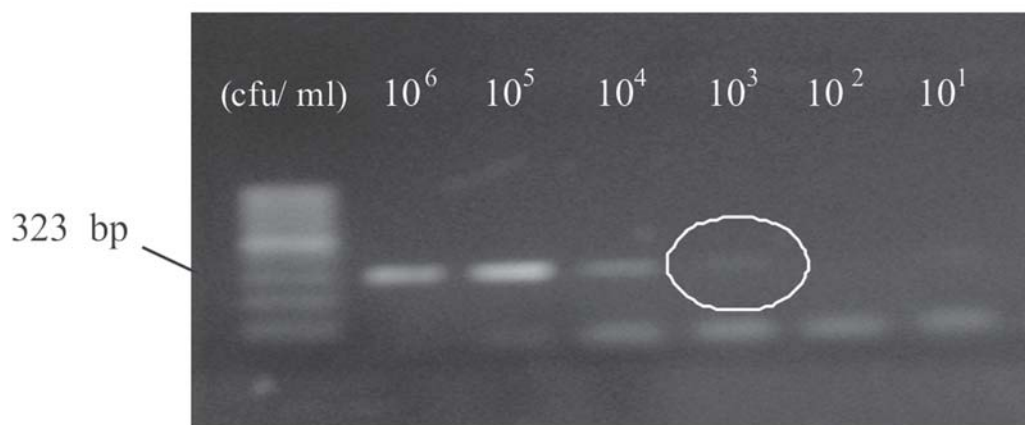
Bakteri spesies *C. jejuni* dan *C. coli* yang mengkontaminasi daging ayam merupakan bakteri penyebab enterokolitis pada manusia. Wabah enteritis *Campylobacter* yang terjadi terutama disebabkan karena mengkonsumsi daging ayam yang terkontaminasi *C. jejuni* (Fang *et al.*, 2006), demikian pula spesies *C. coli* juga telah dilaporkan sebagai agen penyebab enteritis pada manusia (Flynn *et al.*, 1994). Jamshidi *et al.*, (2008) melaporkan bahwa metode PCR menggunakan primer *cadF* dapat mendeteksi kontaminasi genus *Campylobacter* sp. (76%) lebih banyak dari *C. coli* (2%) pada daging ayam. Spesies *C. coli* umumnya lebih banyak ditemukan pada daging babi. Kasus infeksi *C. coli* sehingga menyebabkan enteritis pada manusia di Denmark jarang terjadi, namun infeksi diperkirakan akibat mengkon-

sumsi daging babi (Cabrita *et al.*, 1992). Meskipun belum jelas kasus enteritis akibat mengonsumsi daging babi atau ayam yang terkontaminasi *C. jejuni* atau *C. coli*, tetapi hasil penelitian Boes *et al.*, (2005) melaporkan bahwa daging babi telah terkontaminasi spesies *C. jejuni* dan *C. coli*.

Hasil identifikasi dengan teknik PCR diperoleh hasil 124 karkas ayam telah terkontaminasi *Campylobacter* sp., sebanyak 70 (56,5%) adalah *C. jejuni* dan 54 (43,5%) adalah *C. coli*. Hal tersebut memperlihatkan bahwa karkas ayam yang dijual di pasar tradisional dan swalayan di DKI Jakarta, Jawa Barat (Bogor dan Sukabumi) dan Jawa Tengah (Kudus dan Demak) pada tahun 2009-2011 (Gambar 4) telah terkontaminasi oleh bakteri *Campylobacter* spp, terutama spesies *C. jejuni* dan *C. coli*.



Gambar 4 Jumlah isolat *Campylobacter* sp. yang diisolasi secara konvensional dan PCR dari karkas ayam.



Gambar 5. Sensitivitas uji DPCR menggunakan primer *HipO* dengan target gene 323 bp

Isolasi *Campylobacter* sp. menggunakan metode konvensional umumnya memerlukan waktu empat hari untuk mengetahui hasil negatif dan 6-7 hari untuk melakukan konfirmasi hasil yang positif. Pada penelitian ini teknik PCR dengan menggunakan target gen *HipO* dan *GlyA* mampu membedakan *Campylobacter* sp. antara spesies *C. jejuni* dan *C. coli* pada waktu yang lebih cepat. Hasil uji ini sejalan dengan hasil penelitian Lawson *et al.*, (1998) dan Kulkarni *et al.*, (2002) yang melaporkan untuk identifikasi *C. jejuni* dan *C. coli* menggunakan metode PCR lebih baik dibandingkan dengan metode konvensional.

Sensitivitas uji DPCR

Hasil sensitivitas uji DPCR untuk mendeteksi *C. jejuni* dapat dilihat pada Gambar 5.

Metode DPCR yang digunakan pada penelitian dapat mendeteksi minimum 10^3 cfu/ml, hasil ini sama dengan hasil penelitian Fode-Vaughan *et al.* (2003) yang menggunakan

metode DPCR untuk mendeteksi gen *stx1* mikroorganisme enteropatogen *Escherichia coli* O157:H7 dari susu pada deteksi limit 10^3 cfu/mL. Hasil penelitian lebih sensitif dari hasil penelitian English dan Lisa (2003) menggunakan metode nested multiplex PCR untuk mendeteksi *Campylobacter* sp. dari feses sapi pada 10^4 cfu/g. Peneliti lain Lablanc-Maridor *et al.*, (2011) juga melakukan uji sensitivitas mendeteksi gen *GlyA* bakteri *C. coli* dari sampel kandang babi menggunakan metode real-time PCR dengan deteksi limit 10^3 cfu/m².

SIMPULAN

Metode konvensional dan DPCR dapat digunakan untuk mendeteksi *C. jejuni* dan *C. coli* yang mengkontaminasi pada daging ayam. Isolasi dan identifikasi secara DPCR lebih sensitif mendeteksi *C. jejuni* dan *C. coli* daripada metode konvensional.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui spesifitas metode DPCR dalam mengidentifikasi *C. jejuni* dan *C. coli* pada produk pangan ternak terutama produk unggas maupun olahannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami menyampaikan ucapan terima kasih kepada Kepala Badan Litbang Kementerian Pertanian yang telah memberikan dana penelitian melalui DIPA Anggaran Tahun 2009 dan 2010 melalui program Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) dan Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Institut Pertanian Bogor yang telah membantu menyelenggarakan program kerjasama penelitian ini sehingga kegiatan penelitian ini dapat berlangsung dan diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexandrino M, Grohmann E, Szewzyk U. 2004. Optimation of PCR-based for rapid detection of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Yersinia enterocolitica* serovar O:3 in waste samples. *Water Res* 38: 1340-1346.
- Archana PI, Taha AK. 2010. PCR based detection of food borne pathogens. *Eng Technol* 68: 689-691.
- Barrow, Feltham. 2003. Character of gram-negative bacteria. Dalam *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*. New York: Cambridge University Press
- Blackburn CW, Clure PJ. 2003. *Campylobacter* dan *Aerobacter*. Dalam *Foodborne Pathogens: Hazards, risk analysis and control*. New York: CRC Press.
- Boes J, Nersting L, Nielsen EM, Kranker S, Enoe C, Wachmann HC, dan Baggesen DL. 2005. Prevalence and diversity of *Campylobacter jejuni* in pig herds on farms with and without cattle or poultry. *J Food Prot* 68(4):722-727.
- Cabrita J, Rodrigues J, Braganca F, Morgado C, Pires I, Goncalves AP. 1992. Prevalence, biotypes, plasmid profil and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from wild and domestic animals from northeast Portugal. *J Appl Bacteriol* 73: 279-285.
- Eyigor A, Dawson KA, Langlois BE, Pickett CL. 1999. Cytolethal distending toxin genes in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates: detection and analysis by PCR. *J Clin Microbiol* 37(5):1646.
- Fang SW, Ching JY, Daniel YCS, Cheng CC, Roch CY. 2006. Amplified fragment length polymorphism, serotyping, and quinolone resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from chicken-related samples and humans in Taiwan. *J Food Prot* 69(4): 775-784.
- Flynn OMJ, Ian SB, David AM. 1994. Prevalence of *Campylobacter* species on fresh retail chicken wings in Northern Ireland. *J Food Prot* 57(4):334-336.
- Fode-Vaughan KA, Wimpee CF, Remsen CC, Collins ML. 2001. Detection of bacteria in environmental samples by direct PCR without DNA extraction. *Biotech* 31:598-607.
- Fode-Vaughan KA, Maki JS, Benson JA, Collins MLP. 2003. Direct PCR detection of *Escherichia coli* 157:H7. *Lett Appl Microbiol* 37:239-243.
- Gonzales I, Grant KA, Peter T, Richardson, Park SF, Collins MD. 1997. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* dan *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *J Clin Microbiol* 35(3):759.
- Hu L, Kopecko. 2003. *Campylobacter* species. Dalam: Miliotis MD, Bier JF (Ed). *International Handbook of Foodborne Pathogens*. New York: Marcel Dekker.
- English G, Lisa DK. 2003. Use of PCR for direct detection of *Campylobacter* species in bovine feces. *Appl Environ Microbiol* 69(6):3435-3447.
- Jamshidi A, Bassami MR, Farkhondeh T. 2008. Isolation and identification of *Campylobacter coli* from poultry carcasses by conventional and multiplex PCR methods in Mashhad, Iran. *Iranian J Vet Res* 9(2): 138-144.

- Kramer JM, Frost JA, Bolton FJ, Wareing DRA. 2000. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J Food Prot* 63(12): 1654-1659.
- Kulkarni SP, Lever S, Logan JMJ, Lawson AJ. 2002. Detection of *Campylobacter* species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *J Clin Pathol* 55:749-753.
- Lawson AJ, Shafi MS, Pathak K, Stanley J. 1998. Detection of *Campylobacter* in gastroenteritis: comparison of direct PCR assay faecal samples with selective culture. *Epidemiol Infect* 121:547-553.
- Leblanc-Maridor M, Francois B, Henri S, Martine D, Catherine B. 2011. Rapid identification and quantification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by real-time PCR in pure cultures and in complex samples. *BMC Microbial* 11:113-1128.
- Lindqvist R, Andersson Y, Jong B, Norberg B. 2000. A Summary of reported foodborne disease incidents in Sweden, 1992 to 1997. *J Food Prot* 63(10): 1315-1320.
- Meldrum RJ, Tucker D, Smith RMM, Edwards C. 2005. Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003. *J Food Prot* 68(7):1447-1449.
- Nakari UM, Puhakka A, Sitonen A. 2008. Correct identification and discrimination between *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by a standardized hippurate test and species-specific polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* DOI 10.1007/s10096-008-0467-9.
- Poeloengan M, Noor SM. 2003. Isolasi *Campylobacter jejuni* pada daging ayam dari pasar tradisional dan supermarket. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, Puslitbang Peternakan.
- Raymond S, Tsang W, Figueroa T, Bryden L, Lai-King Ng. 2001. Flagella as potential marker *Campylobacter jejuni* strains associated with Guillain-Barre Syndrome. *J Clin Microbiol* 2:762-764.
- Ringertz S, Robert CR, Olof R, Arini S. 1980. *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* as a cause of gastroenteritis in Jakarta, Indonesia. *J Clin Microbiol* 10:538-540.
- Shane SM. 1991. *Campylobacteriosis*. In *Disease of Poultry*. 9th ed. Ames: Iowa State University Press. pp 236-246.
- Shao WF, Yang CJ, Shih DYC, Chou CC, Yu RC. 2006. Amplified fragment length polymorphism, serotyping, and quinolone resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from chicken-related Samples and human in Taiwan. *J Food Prot* 69(4): 775-783.
- Stern NJ, Line JE. 1992. Comparison of three methods of recovery of *Campylobacter* spp. from broiler carcasses. *J Food Prot* 55:663-666.
- Stern NJ, Pretanik S. 2006. Counts of *Campylobacter* spp. on US broiler carcasses. *J Food Prot* 69(5):1034-1039.
- Wang G, Clifford G, Tracy M, Taylor, Chad P, Connie B, Lawrence P, David L, Woodward, Frank G.R. 2002. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J Clin Microbiol* 40(12):4744-4747.