

# TVORBA BIOFILMŮ U BAKTERIÍ RODU *ARCOBACTER* ZA RŮZNÝCH KULTIVAČNÍCH PODMÍNEK

Morávková K., Sirotková S., Šilha D., Pejchalová M.

*Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická,*

*Univerzita Pardubice*

[karolina.moravkova@student.upce.cz](mailto:karolina.moravkova@student.upce.cz)

## Úvod:

Biofilmem se rozumí společenství mikroorganismů v mezibuněčné hmotě, které adheruje na umělý či nativní povrch, nebo dokonce k sobě samému (1). Formování biofilmu je velice složitý proces. Na počátku biofilmové tvorby se uplatňují převážně povrchové struktury bakterií a různé exopolysacharidy. Biofilmová struktura může vznikat v řádu hodin až dní, a to spojením bakterií exopolysacharidy a propojením kanálky, které slouží k transportu živin a odpadních látek. Systém *quorum-sensing* reguluje tvorbu biofilmu i následnou kolonizaci nového povrchu (2). Díky této schopnosti vykazují bakterie v biofilmu odlišné vlastnosti od buněk planktonních. Bakterie v prostředí biofilmu také lépe odolávají dezinfekčním prostředkům a dalším antimikrobiálním látkám. Tvorba bakteriálního biofilmu je proto spojována s rezistencí k antibiotikům, což je z klinického hlediska považováno za důležitý faktor virulence (3).

Bakterie rodu *Arcobacter* patří společně s kamylobaktery do čeledi *Campylobacteraceae*. Jedná se tedy o gramnegativní lehce zahnuté tyčinky. Tyto bakterie mohou způsobovat symptomaticky velmi podobné akutní či chronické onemocnění zvířat i lidí. Je obecně známo, že se bakterie mohou vyskytovat v planktonní formě nebo tvořit strukturu biofilmu. Některé kmeny arkobakterů mají schopnost tvořit biofilm (4), avšak mezi kmeny je v tvorbě biofilmu značná variabilita (5). Schopnost tvorby biofilmu je ovlivněna vnějšími faktory, jako je dostupnost živin, materiál povrchu a vhodné podmínky k růstu. Arkobaktery nepatří mezi rutinně sledované bakterie, proto data týkající se jejich výskytu a biofilmové aktivity jsou značně omezená. K průkazu tvorby biofilmu lze využít celou řadu metod. Často se používá kolorimetrická metoda, tzv. metoda dle Christensena (6, 7).

## Cíl práce:

Cílem této studie bylo zhodnotit tvorbu biofilmu u 59 izolovaných i sbírkových kmenů *Arcobacter* spp. s využitím Christensenovy metody. Biofilmová aktivita byla sledována v aerobním a mikroaerofilním prostředí po dobu kultivace 24 h i 72 h, a to na skleněném i plastovém povrchu.

## Metodika:

Tvorba biofilmů byla sledována na různých površích a za různých kultivačních podmínek. Pro testování byly použity kmeny *Arcobacter* spp. izolované z potravin/vod, avšak také sbírkové kmeny. Kmeny klinického původu byly získány z Nemocnice Pardubického kraje, a.s. a Oblastní nemocnice Náchod, a.s. Sledování biofilmové aktivity pomocí Christensenovy metody bylo provedeno jak v mikrotitračních destičkách, tak i ve zkumavkách identicky dle dříve publikované studie (8).

## Výsledky a diskuze:

### Tvorba biofilmu na plastovém materiálu (mikrotitrační destičky)

Tvorba biofilmu byla zaznamenána u 98,4 % z celkových 59 kmenů. Vysoká hodnota tvorby biofilmu poukazuje na určité riziko výskytu těchto bakterií v potravinářství. Dle některých dřívějších studií (4, 9) se uvádí dokonce 100% schopnost tvorby biofilmu u sledovaných kmenů arkobakterů. Někteří autoři uvádí, že množství vytvořeného biofilmu se zvyšuje spolu s inkubační teplotou, avšak závisí i na dalších podmínkách prostředí (9). Je již známo, že arkobaktery mohou biofilm tvořit za aerobních i mikroaerofilních podmínek a nižších

kultivačních teplot (10), což se potvrdilo i v naší studii. U některých kmenů arkoobakterů bylo však popsáno, že aerobní (4), popř. naopak mikroaerofilní atmosféra (10) může mít negativní vliv na tvorbu biofilmu. Z toho vyplývá, že atmosféra inkubace má vliv na celkovou schopnost arkoobakterů tvořit biofilm. Avšak po 24 h kultivaci nebyly u testovaných kmenů zjištěny žádné významné rozdíly v tvorbě biofilmu v aerobní nebo mikroaerofilní atmosféře. Nejvyšší hodnota biofilmové tvorby v aerobním prostředí byla zaznamenána u kmenů *Arcobacter butzleri* UPa 2013/37 (izolát z potravin;  $A_{595}=0,3009$ ), *Arcobacter butzleri* UPa 2015/25 (izolát z masa;  $A_{595}=0,3009$ ), *A. butzleri* UPa 2015/7 (izolát z masa;  $A_{595}=0,2327$ ) a u kmene *A. butzleri* 2015/16 (izolát z potravin;  $A_{595}=0,1978$ ). Ze sledovaných zástupců *A. cryaerophilus* tvořil nejvíce biofilmu kmen *A. cryaerophilus* 2014/58d (izolát z vody;  $A_{595}=0,1443$ ). Značně vysoká tvorba biofilmu byla zaznamenána také u sbírkového kmene *A. defluvii* LMG 25694 ( $A_{595}=0,2275$ ). V mikroaerofilním prostředí tvořil biofilm nejvíce *Arcobacter butzleri* UPa 2013/3 (izolát z potravin;  $A_{595}=0,2621$ ), *Arcobacter butzleri* UPa 2015/16 (izolát z potravin;  $A_{595}=0,3752$ ), *Arcobacter butzleri* UPa 24A (izolát z masa;  $A_{595}=0,4177$ ) a *Arcobacter butzleri* UPa 138a (izolát z potravin;  $A_{595}=0,2648$ ). Nejaktivnějším kmenem ze zástupců *A. cryaerophilus* byl v tomto ohledu *A. cryaerophilus* UPa 2013/35 (izolát z vody;  $A_{595}=0,1949$ ). Ze sbírkových kmenů tvořil nejvíce biofilmu opět *A. defluvii* ( $A_{595}=0,3788$ ). Na tvorbu biofilmu u kmene *A. butzleri* UPa 2015/7 měly pozitivní vliv aerobní podmínky a kratší inkubační doba (24 h), naopak za mikroaerofilních podmínek nebyl kmen schopen tvořit takové množství biofilmu. V porovnání s tímto kmenem, *A. butzleri* UPa 2015/11 tvořil biofilm podstatně aktivněji za mikroaerofilních podmínek, dokonce mu prospívala delší kultivační doba (72 h). Z pohledu tvorby biofilmu byl nejméně aktivním arkoobakterem *A. butzleri* UPa KK izolovaný z kuřecího masa (aerobní atmosféra  $A_{595}=0,1090$ ; mikroaerofilní atmosféra  $A_{595}=0,1170$ ).

Po 72 h kultivaci byly u některých kmenů rozdíly v tvorbě biofilmu v závislosti na různé atmosféře kultivace znatelnější. Většina kmenů (78,8 %) tvořila biofilm na stejné úrovni nebo jen s minimálním rozdílem oproti výsledkům po 24h kultivaci. Kmen *Arcobacter defluvii* LMG 25694 byl celkově největším producentem biofilmu ze sledovaných arkoobakterů (aerobní i mikroaerofilní atmosféra). Nejvyšší hodnota tvorby biofilmu v aerobním prostředí byla zaznamenána u kmene *A. butzleri* UPa 39(3) (klinický izolát;  $A_{595}=0,2396$ ). Dále biofilm ochotně tvořily kmeny *A. cryaerophilus* UPa 2018/58a (izolát z potravin;  $A_{595}=0,1550$ ) a *A. cryaerophilus* UPa 2014/58d (izolát z potravin;  $A_{595}=0,1514$ ). Za mikroaerofilní atmosféry ochotně biofilm tvořily kmeny *A. butzleri* 2015/11 (izolát z potravin;  $A_{595}=0,2161$ ), *A. butzleri* UPa 2015/16 (izolát z potravin;  $A_{595}=0,2167$ ) a *A. butzleri* 24A (izolát z potravin;  $A_{595}=0,2463$ ). Velké množství biofilmu za mikroaerofilních podmínek tvořil také kmen *A. cryaerophilus* UPa 2014/58a (izolát z potravin;  $A_{595}=0,2417$ ). Nejvíce biofilm aktivní byly izoláty z kuřecího a rybího masa. V dalších studiích autoři uvádí, že arkoobaktery vykazovaly nejvyšší tvorbu biofilmu po 24 h, dále s rostoucí dobou kultivace se již tvorba biofilmu zásadně nezvyšovala (5). V naší práci taktéž hodnoty biofilmu po 72 h kultivaci nevykazovaly významné zvýšení oproti 24 h kultivaci. Dále bylo uvedeno, že tvorba biofilmu u kmenů izolovaných z reálného prostředí je téměř shodná s kmeny sbírkovými (11), čemuž odpovídají i námi získané výsledky.

#### Tvorba biofilmu na skleněném materiálu (zkumavky)

U Christensenovy zkumavkové metody byla subjektivně hodnocena vrstva vytvořeného biofilmu. Hodnocení tvorby biofilmu bylo buď negativní (-), slabě biofilmopozitivní (+), středně biofilmopozitivní (++) nebo silně biofilmopozitivní (+++). Obecně naše výsledky ukazují, že arkoobaktery tvořily biofilm více v aerobním prostředí, zejména značné množství biofilmu vykazovaly kmeny izolované z masa. Po 72 h kultivaci byly rozdíly mezi aerobní a mikroaerofilní atmosférou opět podstatně vyšší. Některé kmeny nedokázaly po 24 h v aerobním prostředí biofilm tvořit, avšak po 72 h počet biofilmopozitivních arkoobakterů vzrostl. Z toho lze usuzovat, že delší kultivační doba a aerobní atmosféra podporovala tvorbu biofilmu (viz Tab. 1).

**Tab. 1:** Tvorba biofilmů u bakterií *Arcobacter* spp.

Označení kmene	Expozice 24 h		Expozice 72 h	
	Aerobní atmosféra	Mikroaerofilní atmosféra	Aerobní atmosféra	Mikroaerofilní atmosféra
<i>A. butzleri</i> UPa 2012/3	0,1240±0,0028; +++	0,1226±0,0026; +	0,1560±0,0232; +++	0,1246±0,0051; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/3	0,1728±0,0106; +++	0,2621±0,0050; +++	0,1289±0,0092; +++	0,1357±0,0038; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/10	0,1121±0,0031; +	0,1162±0,0015; ++	0,1133±0,0065; +++	0,1247±0,0024; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/15	0,1155±0,0027; +++	0,1206±0,0035; -	0,1396±0,0047; +++	0,1415±0,0041; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/30	0,1492±0,0046; +++	0,1782±0,0062; +++	0,1235±0,0039; +	0,1368±0,0048; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/31	0,1210±0,0045; +++	0,1256±0,0021; +++	0,1256±0,0086; ++	0,1321±0,0060; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/32	0,1410±0,0059; +++	0,1393±0,0046; -	0,1232±0,0033; ++	0,1230±0,0044; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/33	0,1116±0,0035; +++	0,1172±0,0018; ++	0,1216±0,0029; -	0,1273±0,0067; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/36	0,1200±0,0039; -	0,1300±0,0039; -	0,1197±0,0030; +	0,1286±0,0034; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2013/37	0,1809±0,0058; +++	0,2072±0,0073; +++	0,1236±0,0025; +++	0,1350±0,0080; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 2014/51	0,1232±0,0024; +++	0,1220±0,0020; -	0,1254±0,0067; +++	0,1217±0,0062; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2014/54	0,1167±0,0036; -	0,1161±0,0020; -	0,1288±0,0048; -	0,1231±0,0056; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/1	0,1294±0,0023; +++	0,1320±0,0036; +	0,1183±0,0037; +++	0,1215±0,0037; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/5	0,1517±0,0119; -	0,2019±0,0098; -	0,1182±0,0034; -	0,1204±0,0043; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/6	0,1251±0,0042; -	0,1311±0,0027; -	0,1178±0,0025; +	0,1253±0,0051; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/7	0,2327±0,0109; +++	0,1695±0,0057; ++	0,1204±0,0034; +++	0,1258±0,0038; +
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/10	0,1408±0,0065	0,1404±0,0042	0,1368±0,0047	0,1375±0,0048
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/11	0,1339±0,0026; -	0,1365±0,0023; -	0,1757±0,0204; +++	0,2161±0,0294; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/12	0,1761±0,0101; -	0,1348±0,0026; -	0,1169±0,0038; -	0,1215±0,0042; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/13	0,1198±0,0030; -	0,1377±0,0029; -	0,1390±0,0111; +++	0,1456±0,0072; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/14	0,1298±0,0038; -	0,1356±0,0040; -	0,1241±0,0056; ++	0,1357±0,0045; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/15	0,1769±0,0076; -	0,2128±0,0085; -	0,1420±0,0058; +++	0,1270±0,0055; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/16	0,1978±0,0052; +++	0,3752±0,0101; +	0,1466±0,0071; ++	0,2167±0,0107; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/18	0,1312±0,0070; +++	0,1959±0,0086; +	0,1195±0,0070; +	0,1269±0,0073; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/19	0,1334±0,0036; -	0,134±0,0023; -	0,1322±0,0055; +++	0,1493±0,0073; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/20	0,1393±0,0034; -	0,1390±0,0043; -	0,1282±0,0052; +++	0,1428±0,0065; -
<i>A. butzleri</i> UPa 2015/25	0,3009±0,0354; +	0,1601±0,0046; -	0,1505±0,0163; +++	0,1463±0,0195; +
<i>A. butzleri</i> UPa KK	0,1090±0,0028; +++	0,1170±0,0048; ++	0,1192±0,0163; +++	0,1214±0,0042; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 24a	0,1384±0,0064; +++	0,4177±0,0234; +++	0,1687±0,0149; +++	0,2463±0,0360; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 30b	0,1308±0,0055; +	0,1180±0,0060; -	0,1368±0,0060; +++	0,1182±0,0034; +
<i>A. butzleri</i> UPa 39(3)	0,1426±0,0061; -	0,1338±0,0057; ++	0,2396±0,0168; -	0,1635±0,0101; -
<i>A. butzleri</i> UPa 49b	0,1299±0,0029; +	0,1280±0,0049; -	0,1237±0,0035; +++	0,1216±0,0198; +
<i>A. butzleri</i> UPa 65a	0,1296±0,0062; +	0,1278±0,0024; +	0,1276±0,0103; +++	0,1728±0,0141; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 132a	0,1273±0,0060; +	0,1510±0,0051; +	0,1134±0,0144; +++	0,1252±0,0043; +++
<i>A. butzleri</i> UPa 138a	0,1410±0,0062; +++	0,2648±0,0303; ++	0,1215±0,0175; +++	0,1532±0,0120; ++
<i>A. butzleri</i> UPa 141b	0,1229±0,0043; +	0,1365±0,0044; +	0,1155±0,0050; +++	0,1339±0,0118; +++
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2012/1	0,1229±0,0019; +++	0,1209±0,0030; ++	0,1259±0,0027; ++	0,1287±0,0055; +
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/1	0,1185±0,0028; -	0,1270±0,0042; +	0,1498±0,0048; ++	0,1428±0,0083; -
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/12	0,1192±0,0042; -	0,1286±0,0029; -	0,1458±0,0042; +	0,1536±0,0079; +++
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/13	0,1281±0,0029; ++	0,1654±0,0036; ++	0,1244±0,0023; +	0,1337±0,0074; -
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/14	0,1358±0,0056; -	0,1439±0,0091; +	0,1334±0,0064; -	0,1364±0,0036; -
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/16	0,1212±0,0037; ++	0,1229±0,0029; +	0,1241±0,0033; +	0,1287±0,0054; -
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/17	0,1177±0,0034; +++	0,1174±0,0019; +	0,1267±0,0047; +++	0,1294±0,0054; +
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/28	0,1168±0,0020; +++	0,1220±0,0018; +	0,1327±0,0058; +++	0,1366±0,0050; +
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2013/35	0,1300±0,0069; ++	0,1949±0,0108; ++	0,1180±0,0056; +++	0,1181±0,0021; ++
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2014/58	0,1290±0,0075; +	0,1222±0,0029; +	0,1417±0,0115; +++	0,1450±0,0035; -
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2014/58a	0,1281±0,0049; +	0,1368±0,0061; +	0,1550±0,0059; +++	0,2417±0,0240; +++
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2014/58d	0,1440±0,0073; -	0,1367±0,0050; -	0,1514±0,0128; +++	0,1768±0,0140; ++
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 2014/59	0,1271±0,0075; -	0,1318±0,0064; ++	0,1472±0,0061; +	0,1354±0,0057; -
<i>A. cryaerophilus</i> UPa 130	0,1247±0,0060; +	0,1314±0,0042; -	0,1211±0,0100; +++	0,1157±0,0031; +++
<i>A. butzleri</i> LMG 10828	0,1260±0,0024; ++	0,1301±0,0048; +	0,1320±0,0080; +++	0,1778±0,0171; +
<i>A. butzleri</i> CCUG 30484	0,1518±0,0048; +++	0,1791±0,0070; ++	0,1778±0,220; +++	0,2406±0,0213; ++
<i>A. cryaerophilus</i> CCM 3933	0,1184±0,0030; +++	0,1143±0,0025; +++	0,1197±0,0040; +++	0,1947±0,0153; -
<i>A. cryaerophilus</i> CCM 7050	0,1329±0,0039; ++	0,1377±0,0054; ++	0,1162±0,00243; +	0,1304±0,0042; ++
<i>A. defluvii</i> LMG 25694	0,2275±0,0345; +++	0,3788±0,0080; +++	0,4139±0,0305; +++	0,5039±0,0403; +++
<i>A. lanthieri</i> LMG 28517	0,1254±0,0023; +	0,1322±0,0034; -	0,1225±0,0075; ++	0,1397±0,0109; -
<i>A. skirrowii</i> LMG 6621	0,1264±0,0038; -	0,1299±0,0041; -	0,1361±0,0057; ++	0,1291±0,0038; ++
<i>A. thereius</i> LMG 24488	0,1240±0,0024; -	0,1269±0,0043; -	0,1195±0,0034; +++	0,1274±0,0037; +

Pozn.: UPa – Interní sbírka mikroorganismů univerzity Pardubice; LMG – Sběrka mikroorganismů univerzity Gent v Belgii; CCM – Česká sbírka mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně; CCUG – Sběrka mikroorganismů Univerzity Göteborg v Švédsku; **Tvorba biofilmu v mikrotitrační destičce** (hodnota absorpance ± směrodatná odchylka); **tvorba biofilmu ve zkumavce** – kmen biofilmmnegativní (-); kmen slabě biofilmpozitivní (+); kmen středně biofilmpozitivní (++); kmen silně biofilmpozitivní (+++).

## **Závěr:**

Arkobaktery patří mezi potenciálně nebezpečné bakterie. Jejich biofilmová tvorba může působit značné problémy ve zdravotnictví i potravinářském průmyslu. Schopnost tvořit biofilm se liší u každého kmene, což se dle výsledků potvrzuje i v naší studii. Nelze jednoznačně určit, jaké kultivační podmínky jsou či nejsou pro formování biofilmu nejlepší, neboť každý kmen vykazuje odlišné chování. Nebyl zaznamenán významný rozdíl v tvorbě biofilmu mezi sbírkovými a izolovanými kmeny. Christensenova zkumavková metoda je subjektivní, neboť se hodnocení provádí pouze vizuálně. Testování tvorby biofilmu v mikrotitračních destičkách je přesnější vzhledem ke spektrofotometrickému hodnocení. Při porovnání výsledků zkumavkové a destičkové metody je však zřejmé, že bakterie rodu *Arcobacter* lépe adherují na plastový povrch. Na skleněný povrch arkobaktery lépe adherovaly v aerobním prostředí, taktéž jim prospívala delší kultivační doba, kdy po 72 h kultivace tvořilo biofilm více kmenů. Nadále je potřeba, aby byly rozvíjeny metody vedoucí k identifikaci arkobakterů a porozumění ovlivnění jejich přežívání v planktonní formě a především ve formě biofilmu.

**Poděkování:** Tato práce vznikla za podpory projektu SG390007 (FChT, Univerzita Pardubice).

## **Literatura:**

1. Kvasničková E, Paldrychová M, Mařátková O a Masák J. Medicinální aspekty mikrobiálních biofilmů. *Chemické listy*. 2016; 110(7): [485–90].
2. Busscher HJ and Van der Mei HJ. Physico–Chemical Interactions in Initial Microbial Adhesion and Relevance for Biofilm Formation. *Advances in Dental Research*. 1997; 11(1):[24–32 pp.]
3. Mah T-FC and O’Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*. 2001; 9(1): [34–9].
4. Ferreira S, Fraqueza MJ, Queiroz JA, Domingues FC and Oleastro M. Genetic diversity, antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Arcobacter butzleri* isolated from poultry and environment from a Portuguese slaughterhouse. *International Journal of Food Microbiology*. 2013, 162(1): [82–8 pp.].
5. Šilhová-Hrušková, L, P Motřková, D Šilha a J Vytřasová. Hodnocení tvorby biofilmu vybraných patogenů vyskytujících se v potravinářském průmyslu. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*. 2015; 64(3): [169–74].
6. Christensen, GD, Simpson WA, Bisno AL and Beachey EH. Adherence of Slime-Producing Strains of *Staphylococcus epidermidis* to Smooth Surfaces. *Infection and Immunity*. 1982; 37(1): [318–26].
7. Christensen, GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM and Beachey EH. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 198; 22(6): [996–1006].
8. Šilha D, Morávková K, Škodová G, Vytřasová J. Viability and biofilm formation of *Arcobacter* spp. at various processing temperatures. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2019, 58(3): [208–13].
9. Kjeldgaard J, Jorgensen K and Ingmer H. Growth and survival at chiller temperatures of *Arcobacter butzleri*. *International Journal of Food Microbiology*. 2009; 131(2-3): [256–59].
10. Girbau C, Martinez-Malaxetxebarria I, Muruaga G, Carmona S, Alonso R and Fernandez-Astorga A. Study of Biofilm Formation Ability of Foodborne *Arcobacter butzleri* under Different Conditions. *Journal of Food Protection*. 2017; 80(5): [758–62].
11. Hrušková L, Motřková P a Vytřasová J. Multiplex polymerase chain reaction using ethidium monoazide and propidium monoazide for distinguishing viable and dead cells of arcobacters in biofilm. *Canadian Journal of Microbiology*. 2013; 59: [797–802].