

**SU ve SU ÜRÜNLERİNDE VİBRİO VULNIFICUS ve HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN OLUŞTURDUĞU RİSKLER**

Ali AYDIN\*

Serkan Kemal BÜYÜKÜNAL\*

**ÖZET**

*Vibrio vulnificus* kontamine deniz sularıyla ve su ürünlerinin tüketimi ile insanlarda oldukça ciddi ve sıklıkla öldürücü enfeksiyonlara neden olan bir bakteridir. *Vibrio vulnificus* enfeksiyonları, çiğ yada yeterli ısıtma işlemi görmemiş kabuklu deniz ürünlerinin tüketimi ile invazif sepsisemiye neden olarak meydana gelir. Mikroorganizma kontamine deniz suları ve deniz kabuklularının işlenmesi sırasında meydana gelen temas ile açık yara enfeksiyonlarının şekillenmesine de neden olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Deniz Ürünleri, *Vibrio vulnificus*, halk sağlığı, gıda kaynaklı hastalıklar.

**SUMMARY****Vibrio Vulnificus In Water And Seafood And The Risks For Public Health**

*Vibrio vulnificus* has the ability to cause serious and often-fatal infections with contaminated marine water and eating seafoods. These include an invasive septicemia usually contracted through the consumption of raw or undercooked shellfish, as well as wound infections acquired through contact with shellfish or marine waters where the organism is present.

**Key Words:** Seafood, *Vibrio vulnificus*, public health, food borne diseases.

**1. GİRİŞ**

Deniz ürünleri ve deniz suyu çok sayıda biyolojik, kimyasal ve fiziksel kaynaklı riskleri beraberinde taşıyabilmektedir. Bunlardan, biyotoksinler, patojen bakteri ve virüsler tespit edilme sıklığı en yüksek olan etkenler arasında yer almaktadır. Patojen bakteriler içerisinde bulunan *V. vulnificus* insidensi düşük olmasına rağmen, letalitesi oldukça yüksek seyreden bir hastalık etkeni olarak görülmektedir (Sumner, 2002).

*V. vulnificus*, özellikle akarsuların denize döküldüğü yada atık suların denize açıldığı noktalarda bulunan deniz suları ile deniz ürünlerini kontamine eden, fenotipik olarak *V. parahaemolyticus*'a benzerlik gösteren bir bakteridir (Anon., 2004; Cavallo ve Stabili, 2002; Elliot ve ark., 2001). Etken riskli gıdaların tüketilmesi sonucu, gıda kaynaklı enfeksiyonlara ve yaralı deri yüzeyine kontamine su teması ile ortaya çıkan hastalık tablolarının şekillenmesine sebep olmaktadır. Bunun yanında immün sistemleri ile ilgili problemleri olan, diyabet yada siroz gibi rahatsızlığı bulunan bireylerde hızlı gelişen öldürücü sepsisemiler de meydana getirmektedir (Elliot ve ark., 2001; Jaksic ve ark., 2002). Amerika'da deniz ürünlerinin tüketimi ile şekillenen ölüm vakalarının % 95'inin *V. vulnificus* kaynaklı olduğu bildirilmektedir (Beuchat ve Montville, 2001). Birçok araştırmacı, halk sağlığı açısından ciddi problemlere yol açabilen etkenin, farklı birçok teknolojik uygulama ile bertaraf edilebileceğini bildirmektedir (Giddings, 1996; Jaksic ve ark., 2002; Smith ve ark., 2001).

**2. ETİYOLOJİ ve EPİZOOTİYOLOJİ**

*V. vulnificus* ilk olarak 1964 yılında Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol Merkezi (US Centers for Disease Control - CDC) tarafından (Anon., 2004) *V. parahaemolyticus*'un virulent bir suşu olarak tanımlanmıştır. 1970'lerde ise gıda kaynaklı sepsisemilerle ve yara enfeksiyonlarıyla karakterize klinik vakalara neden olan virulensi yüksek, farklı bir *Vibrio* türü olduğu anlaşılmıştır (Blake ve ark., 1979; Hollis ve ark., 1976; Morris ve Black, 1985).

insanlarda *V. vulnificus* kökenli ilk hastalık tablosu 1979 yılında tespit edilmiştir. Son 15 yılda çiğ istiridyeye tüketimi ile şekillenen ölümlerin pek çoğunun *V. vulnificus* kökenli olması, mikroorganizma üzerine yapılan çalışmaların sayısındaki artışın en önemli sebebi olarak değerlendirilmektedir (Stephenson, 1994).

*V. vulnificus* planktonlar, midye, istiridyeye, yengeç gibi çeşitli deniz kabuklularından ve balıklardan izole edilebilen, deniz sularının ve nehir deltalarının heterotrofik bakteriyel popülasyonunun önemli bir kısmını oluşturan, *Vibrionaceae* familyasının üyesi, gram-negatif, hareketli, laktozu fermente eden, halofilik, fırsatçı patojen bir mikroorganizmadır (Anon., 2004; Cavallo ve Stabili, 2002; Strom ve Paranjpye, 2000; Wright ve ark., 1999).

*V. vulnificus* enfeksiyonları mevsimsel enfeksiyonlardır. Enfeksiyonların % 85'inin Mayıs ile Ekim ayları arasında gözlemlendiği rapor edilmiştir. Ilık su ve orta derecede tuzluluk oranı gibi çevresel faktörler kabuklu deniz ürünlerindeki *V. vulnificus* sayısını arttırabilir (Anon., 2004). Mikroorganizma tropikal ve subtropikal iklim kuşağında, sıcaklığı 9-31 °C arasında bulunan sulardan izole edilmektedir. Hlady ve Klontz (1996) ile Kapsar ve Tamplin (1993), etkenin su sıcaklığının 18 °C'yi aştığı aylarda çoğaldığını bildirmiştir.

İtalya'nın Adriyatik Denizine kıyısı olan Ancona şehrinde, Montanari ve ark. (1999)'nın deniz suyu ve planktonlar ile ilişkili kültüre edilen *V. vulnificus* varlığı üzerine yaptıkları çalışmada, deniz suyu sıcaklığının 14,3 °C-25,9 °C arasında olduğu mevsimlerde mikroorganizmanın izole edilebildiği bildirilmiştir. Mikroorganizma % 6 NaCl ihtiva eden ortamlarda bile havanın varlığı veya yokluğundaki değişimlerden etkilenmeden üreme özelliğine sahiptir.

Mikroorganizmanın üreme sıcaklığı 8-43 °C arasında olup, optimum 37 °C'dir. Canlı istiridyelerde 13 °C'nin altındaki sıcaklık derecelerinde gelişme görülmediği, ideal üremenin ancak 30 °C'de şekillendiği bildirilmektedir. Etken 0-4 °C'lik sularda canlılıklarını devam ettiren fakat kültüre edilemeyen hücreler halinde bulunmaktadır. Mikroorganizmanın inaktive edilebilmesi için gerekli desimal redüksiyon zamanı yaklaşık 45 °C'de 50 dakika, 51 °C'de 10 saniyedir. İstiridyelerde *V. vulnificus*'un eliminasyonu için 50 °C'de 10 dakika süreyle yapılan düşük ısı pastörizasyonu önerilmektedir (Anon., 2001). Dondurma işlemi uygulandığında istiridyelerdeki *V. vulnificus* popülasyonunun % 95-99 oranında azaldığı bildirilmiştir. Ancak etkenin geri kalan bölümünün donmuş muhafaza sırasında stabil kalacağı da göz önünde bulundurulmalıdır. 5 ila 10 pH derecelerinde üreme yeteneğine sahip mikroorganizmanın üremesi için ideal pH 7,8'dir. 0,98 aw'de optimal üreyebilen mikroorganizmanın 0,960-0,997 aw'de üreyebileceği de bildirilmiştir (Anon., 2001).

*V. vulnificus* fenotipik farklılıklarına ve hastalık oluşturdukları hedef popülasyona bağlı olarak 2 farklı biyotipe ayrılmaktadır (Tison ve ark., 1982). Mikroorganizmanın virülensi, kapsüler polisakkarit yapısı ile ilişkilendirilmiştir (Wright ve ark., 1999). *V. vulnificus* biyotip I, indol ve ornitin dekarboksilaz üretmekte ve immunolojik olarak farklı lipopolisakkarit tipleri sergilemektedir. Biyotip I daha çok deniz kabuklularındaki kolonizasyon ve insan hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir. *V. vulnificus* biyotip II saf kültürüne ait ilk kayıtlar 1991 yılına aittir. Biosca ve ark. (1997) Valencia (İspanya) şehrinin kıyı bölgesinde kurulmuş yılan balığı üretme çiftliklerinden bu etkeni izole ettiklerini bildirmişlerdir. *V. vulnificus* biyotip 2, indol ve ornitin dekarboksilaz üretmez ve genel bir LPS tipine sahiptir. *V. vulnificus* biyotip 2 ise daha çok deniz omurgalıların enfeksiyonları ile yayılım göstermektedir. Omurgalılar ve özellikle de yılan balıklarından kültüre edilen ve ekonomik olarak önemli kayıplara neden olan bu biyotip ciddi bir patojen olarak tanımlanmaktadır (Austin ve Austin, 1999). Biyotip 2 önceleri sadece yılan balıkları ve diğer balıklar için patojen olarak değerlendirilmiştir. Ancak son yıllarda fareler için de patojen olduğu (Amaro ve ark., 1994), insanlarda ise enfeksiyon oluşturabilecek fırsatçı bir patojen olarak değerlendirildiği bildirilmektedir (Amaro ve ark., 1996, Veenstra ve ark., 1993). Fouz ve Amaro (2003) 2003 yılında İspanya'daki balık çiftliklerinden toplanan yılan balıklarından izole edilen yeni bir *V. vulnificus* suşunun varlığını bildirmişlerdir. Eylül 2000 ve Mart 2001'de İspanya'nın Valencia Şehrinin kıyı kesimindeki bir yılan balığı çiftliğinde düşük morbidite ve mortalite ile seyreden 2 salgına sebep olan bu yeni suş, Serovar A olarak isimlendirilmiştir (Fouz ve Amaro, 2003).

*V. vulnificus* hücre dışına çok sayıda enzim ve toksin salgılama yeteneğindedir. Bu ekstraselüler proteinlerin bazıları mikroorganizmaya nehir ağızlarında yaşamını devam ettirme imkanı vermektedir. (Paranjpye ve ark., 1998; Strom ve Paranjpye, 2000). Söz konusu bölgelerde *V. vulnificus*, ortam suyunu filtre ederek beslenen, yumuşakçalardan izole edilebilmektedir (Chang ve ark., 1997).

*V. vulnificus* kökenli hemolitik aktivitesi olan 2 protein tanımlanmıştır. Üzerinde en çok çalışma yapılan hemolizin, sitolizin olarak isimlendirilen proteindir. Sitolizin, memeli eritrositlerini lize etme yanında çeşitli hücre-doku kültürlerine toksik etki gösteren, ısıya duyarlı nitelikli bir proteindir (Gray ve Kreger, 1985).

Bu protein Guinea pig skin ırkı kobaylarda kapillar endotelial hücrelerini hasara uğratarak vaskülerpermeabiliteyi artırır ve ekstraselüler ödem oluşumuna neden olur, fareler için ise öldürücüdür (Gray ve Kreger, 1985; Gray ve Kreger, 1987).

*V. vulnificus* ile ilgili olarak metaloproteaz, hemolizin-sitolizin, polisakkarit kapsül ve demir gereksinimi ile ilişkilendirilen çok sayıda hastalık yapıcı faktör bildirilmiştir. Bununla birlikte sadece *V. vulnificus* tarafından üretilen siderofor ve polisakkarit kapsül virulans faktörü olarak doğrulanmıştır.

*V. vulnificus*'un hücre dışına salgıladığı diğer enzimler ise *V. vulnificus* enfeksiyonları sırasında hızlı doku yıkımına neden olarak aktivite göstermektedir (Starks ve ark., 2000).

### 3. BULAŞMA

*V. vulnificus* kaynaklı enfeksiyonlar başta istiridye olmak üzere çiğ deniz ürünleri tüketimi ile ortaya çıkmaktadır (Anon., 2003; Smith ve ark., 1999; Wright ve ark., 1999). Etken yaz ayları boyunca ılık kıyı sularına sahip bölgelerden toplanan istiridye ve diğer deniz kabuklularından sıklıkla izole edilmektedir (Anon., 2003; Wright ve ark., 1999). Cavallo ve Stabili (2002), İtalya (İyonya Denizi)'de Taranto körfezi ile bağlantılı Mar Piccola iç denizlerinden toplanan midyelerin yüksek oranda tüketiminin bahar ve yaz ayları boyunca *Vibrio* enfeksiyonlarının daha yüksek insidens ile gözlemlenmesine sebep olduğunu bildirmişlerdir. *V. vulnificus*'un sadece midyelerden izole edilmesi, midyelerin toplandığı sularda bu mikroorganizmaya rastlanılmaması ve fekal kirlilik indikatörleri ile *Vibrio* spp. arasında herhangi bir ilişkinin tespit edilememesi çalışmanın diğer önemli sonuçları olarak bildirilmiştir. Beuchat ve Montville (2001)'de çalışmalarında benzer sonuçlara dikkat çekmektedir. Fukushima ve Seki (2004) Japonya'da iç deniz yada körfezlerden yaz ayları boyunca yakalanan çiğ balık yada deniz kabukluları ile yapılan "Sashimi" ve "Sushi" isimli yerel yemeklerin tüketimi ile şekillenen *V. vulnificus* kaynaklı hastalıklar bildirmişlerdir. A.B.D'nin doğu, batı, Pasifik ve körfez kıyılarında; Hong Kong, Japonya ve Danimarka'nın kıyı sularında *V. vulnificus* tespit edildiğini bildiren bir çok çalışma mevcuttur ( Fukushima ve Seki, 2001; Hlady ve Klontz, 1996; Kaspar ve Tamplin, 1993; Klontz ve ark. 1988; Shapiro ve ark., 1998; Veenstra ve ark., 1993).

İnfeksiyonun insandan insana geçişi konusunda bir bilgi bulunmamaktadır (Anon., 2003). Fekal kontaminasyonun olmadığı sulardan toplanan istiridyelerin tüketilmesinin dahi hastalığın önlenmesine yetmeyeceği bildirilmektedir. Bunun en önemli sebebi olarak bakterinin deniz suyunun mikroflorasında doğal olarak bulunması gösterilmektedir. Bununla birlikte *V. vulnificus* istiridyelerin görünümünde, tadında veya kokusunda herhangi bir değişime neden olmamaktadır (Anon., 2004). Etkeninin açık yaralardan ve çatlamış deriden temas yoluyla bulaşabilme riski bu gıdaları toplayan ve işleyen personelin oldukça dikkatli olması ve koruyucu önlemler almasını gerektirir (Anon., 2004). Sağlıklı bireylerde gastrointestinal semptomların görülmesine neden olacak mikroorganizma sayısı bilinmemekte, ancak predispoze bireylerde septisemi şekillenmesi için gerekli dozun 100 mikroorganizmadan daha az olduğu ileri sürülmektedir (Smith ve ark., 2001; Tacket ve ark., 1984).

### 4. HEDEF POPULASYON

Hemakromatozis ve siroz gibi hastalıklar nedeniyle kan dolaşımında yüksek miktarda demir bulunan bireyler hastalığın oluşmasında en yüksek risk grubunu oluşturmaktadır (Starks ve ark., 2000). Diabet, lökoz, akciğer kanseri ve AIDS'li hastalar, kemoterapi gören bireyler, böbrek hastaları, kronik bağırsak hastalıkları bulunan kişiler, mide asiditesi doğal olarak düşük olan yada tedavi sonucu mide asiditesinde düşüş görülen bireyler ve steroid kullanma gereksinimi olan astım hastaları hastalığa duyarlı populasyon olarak bildirilmektedir (Anon., 2003; Klontz ve ark., 1988, Shapiro ve ark. 1998; Starks ve ark. 2000; Wright ve ark., 1999). Birçok araştırmacı, *V. vulnificus*'un septisemik formunun görüldüğü immun sistemi baskılanmış bu bireylerde letalitenin % 50'nin üzerinde olduğunu ileri sürmektedir (Wright ve ark., 1999, Smith ve ark., 2001; Anon., 2003).

Sağlıklı bireylerde çiğ istiridye tüketimi ile şekillenen enfeksiyonlara oldukça nadir rastlanmakta olup, enfekte çiğ istiridye tüketimi ile karaciğer rahatsızlığı bulunan bireylerde hasta olma olasılığı, sağlıklı bireylere oranla 80, mortalite oranı ise 200 kat fazladır (Stephenson, 1994; Anon., 2004).

## 5. SEMPTOMLAR ve KLİNİK TABLO

*V. vulnificus* ile kontamine gıdanın tüketiminden ortalama 16 saat sonra gastrointestinal semptomlar ortaya çıkmaktadır. Hastalığın daha ciddi formlarında semptomların kontamine gıda tüketiminden sonraki 12 saat ila 3 gün arasında şekillendiği bildirilmektedir. Septisemi, ilk semptomların görülmesini takiben 36 saat içinde şekillenmektedir (Anon., 2001). *V. vulnificus* şüpheli vakalarda septisemi şekillenmediği durumlarda sıklıkla diare gözlemlenmektedir. Bunun sebebinin *V. vulnificus*'un salgıladığı enterotoksin olduğu rapor edilmiştir (Klontz ve ark., 1988; Stelma ve ark., 1988).

Hastalığın en belirgin semptomları kusma, diare ve şiddetli abdominal ağrılarıdır. Etkenin kronik karaciğer hastalıkları gibi sebeplerle bağışıklık sistemi baskılanmış insanlarda, septisemi oluşturarak şiddetli ateş ve soğuk algınlığı benzeri semptomlar meydana getirdiği, kan basıncını düşürerek septik şoka neden olduğu bildirilmiştir (Anon., 2003; Smith ve ark., 2001; Strom ve Paranjpye, 2000; Tacket ve ark., 1984). Septisemik *V. vulnificus* enfeksiyonları % 50 oranında ölümle sonuçlanmaktadır (Smith ve ark., 2001). Amerika Birleşik Devletleri'nin Alabama, Florida, Louisiana, Mississippi ve Texas eyaletlerinde yapılan çalışmalarda her yıl ortalama olarak kültürel metotlarla doğrulanan 50 vakanın 45'inin hastaneye sevk edildiği ve 16 vakanın da ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (Anon., 2004).

Birçok kaynak tarafından *V. vulnificus* kaynaklı büyük salgın tablolarına rastlanılmadığı sıklıkla sıcak mevsimlerde meydana gelen enfeksiyonların ise sporadik vakalar halinde görüldüğünü rapor edilmiştir. Bu bağlamda A.B.D. Sağlık ve Rehabilitasyon Servisi Florida eyaletinde 1981-1992 yılları arasında 125 kişide *V. vulnificus* enfeksiyonuna rastlandığı ve bu bireylerin % 35'inde hastalığın ölümle sonuçlandığını bildirilmiştir (Anon., 2003).

## 6. KORUNMA ve KONTROL

*Vibrio* spp. ısıtma işlemi ile kolaylıkla inaktive olmaktadır. Bu yüzden düzenli pişirme çoğu *Vibrio* spp.'nin bertaraf edilebilmesi için yeterli bir uygulama olarak görülmektedir (Jaksic ve ark., 2003). Gıda güvenliği açısından balık, istiridye ve diğer deniz ürünlerinin 63 °C merkezi sıcaklıkta 15 saniye yada 50 °C merkezi sıcaklıkta 10 dakika süreyle ısıtma işlemi tabii tutulması zorunlu bir uygulama olarak bildirilmiştir. Gıdaların muhafazası için 5 °C ve altındaki sıcaklık dereceleri ile 60 °C ve üzerindeki sıcaklık dereceleri güvenli olarak değerlendirilmektedir. Deniz ürünlerinde 21 °C'de 30-50 dakikada pH değerini  $\leq 4,0$  değerine indirmek, daha önceden analizleri yapılarak uygun bulunmuş suların toplanan midyeleri tüketmek ve ısıtma işlemi görmüş ürünlerin çiğ ürünlerle çapraz kontaminasyondan sakınmak diğer önleyici tedbirler olarak bildirilmiştir (Anon., 2001).

Ayrıca midye, istiridye ve tarak gibi deniz kabuklularının doğru uygulamalarla pişirilmesinin meydana gelebilecek enfeksiyonların önlenmesi için oldukça önemli olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır. Kabuk içindeki yumuşakçaların kabukları açılıncaya kadar kaynatılması ve bunu takiben kaynatma işleminin 5 dakika daha sürdürülmesi bir korunma metodu olarak bildirilmektedir. Deniz kabuklularının kabukları açılıncaya kadar buharda tutulması ve pişirmenin bu noktadan sonra 9 dakika daha sürdürülmesi ise bir başka metot olarak rapor edilmektedir. Pişirme sırasında kabukları açılmayan kabuklular yenilmemelidir.

Kabuğu soyulmuş istiridyeler en az 3 dakika süreyle kaynatılmalı ya da 190.6 °C'de en az 10 dakika süreyle yağda kızartılmalıdır (Anon., 2004; Smith ve ark., 2001). Düşük doz irradiasyon uygulamasının (1 kGy'e kadar) çoğunlukla çiğ olarak tüketilen ve *Vibrio* spp. ile kontaminasyon riski olan Amerika'nın Güney Atlantik ve Meksika Körfezi kıyılarından toplanan midye, istiridye gibi deniz ürünlerinin güvenli hale getirilmesi için kullanılan bir metot olduğu bildirilmiştir (Giddings, 1996). Giddings (1996) Vibrioların irradiasyona en duyarlı mikroorganizmalardan biri olduğunu dolayısıyla söz konusu uygulamaların etkenden kaynaklanacak enfeksiyonların şekillenmesini önleyebileceğini de bildirmiştir.

## 7.SONUÇ

Bazı kaynaklar *V. vulnificus*' un enfeksiyon oluşturabileceği özellikle bahar ve yaz aylarında çiğ yada pişmiş deniz kabukluları tüketimi ile ilişkili riskler üzerine eğitim verilmesi gerektiğini

ileri sürmektedir. Gıdalara uygulanan prezervasyon yöntemleri ile ilgili olarak kabuklu deniz ürünlerinin toplanmasından tüketimine kadar olan süreçte, ürünlerin buzdolabında muhafaza edilmesinin gerekliliği önemle vurgulanmalıdır. Bunun yanında hedef popülasyon dahilindeki bireylerin etken açısından riskli olarak değerlendirilen gıdalardan deniz kabuklularını ve özellikle de çiğ istiridyeleri tüketmemeleri önerilmektedir. Etkin ısı işleme tabi tutulmuş deniz kabuklularının çiğ deniz kabukluları ile aynı alanlarda depolanmalarına bağlı olarak şekillenebilecek çapraz kontaminasyonlardan sakınılmalıdır. Söz konusu önemli açıklamalara riayet edilmesi ile birlikte, belirli mevsimlerde ölümcül enfeksiyonlar oluşturabilen etkenin, hastalık oluşturma insidansı kontrol altında tutulmaya çalışılarak toplum sağlığının korunması mümkün olabilecektir.

## 8. KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 2001. New Zealand Food Safety Authority (NZFSA). *Vibrio vulnificus*. <http://www.nzfsa.govt.nz/science-technology/data-sheets/vibrio-vulnificus.pdf>
- ANONYMOUS, 2003. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition (FDA-CFSAN): Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. *Vibrio vulnificus* <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap10.html>
- ANONYMOUS, 2004. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Bacterial and Mycotic Diseases. *Vibrio vulnificus*. [http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/vibriovulnificus\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/vibriovulnificus_g.htm)
- AMARO, C., BIOSCA, E.G., FOUZ, B., TORANZO, A.E. and GARAY, E., 1994. Role of iron, capsule, and toxins in the pathogenicity of *Vibrio vulnificus* biotype 2 for mice. *Infection and Immunity*, 62: 759.
- AMARO, C., BIOSCA, E.G., 1996. *Vibrio vulnificus* biotype 2, pathogenic for eels, is also an opportunistic pathogen for humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 1454.
- AUSTIN, B., AUSTIN D.A., 1999. Bacterial fish pathogens : Disease of farmed and wild fish. (3rd rev ed.), Springer Verlag, New York.
- BEUCHAT, L.R., MONTVILLE T.J. 2001. *Vibrio Vulnificus*. 13: 283-288. *Food Microbiology*, M.P., DOYLE (Eds)' Second Edition, ASM Press., Washington, D.C.
- BIOSCA, E.G., MARCONALES, E., AMARO, C., ALCAIDE, E., 1997. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Vibrio vulnificus* biotype 2. *Applied Environmental Microbiology*, 63 (2): 537-542.
- BLAKE, P.A., MERSON, M.H., WEAVER, R.E., HOLLIS, D.G., HEUBLEIN, P.C., 1979. Disease caused by a marine *Vibrio*. Clinical characteristics and epidemiology. *The New England Journal of Medicine*, 300: 1.
- CAVALLO, R.A., STABILI L., 2002. Presence of vibrios in seawater and *Mytilus galloprovincialis* (Lam.) from the Mar Piccolo of Taranto (Ionian Sea). *Water Research*, 36: 3719-3726.
- CHANG, T.M., CHUANG, Y.C., SU, J.H., CHANG, M.C., 1997. Cloning and sequence analysis of a novel hemolysin gene (vIY) from *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3851.
- ELLIOT, F.L., KAYSNER, C.A., JACKSON, L., TAMPLIN, M.L., 2001. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition (FDA-CFSAN). Bacteriological Analytical Manual Online. Chapter 9 *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and Other *Vibrio* spp. <http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>
- FOUZ, B., AMARO, C., 2003. Isolation of a new serovar of *Vibrio vulnificus* pathogenic for eels cultured in freshwater farms. *Aquaculture*, 217: 677-682.
- FUKUSHIMA, H., SEKI, R., 2004. Ecology of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in brackish environments of the Sada River in Shimane Prefecture, Japan. *FEMS Microbiology Ecology*, (Article in Press).
- GIDDINGS, G., 1996. Commercial food irradiation in the United States. *Radiation Physics and Chemistry*, 48 (3): 364-365.
- GRAY, L.D., KREGER A.S., 1985. Purification and characterization of an extracellular cytotoxin produced by *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, 48: 62.
- GRAY, L.D., KREGER A.S., 1987. Mouse skin damage caused by cytotoxin from *Vibrio vulnificus* and by *V. vulnificus* infection. *Journal of Infectious Disease*, 155: 236.
- HLADY, W.G., KLONTZ K.C., 1996. The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *Journal of Infectious Disease*, 173: 1176.
- HOLLIS, D.G., WEAVER, R.E., BAKER, C.N., THORNSBERRY, C., 1976. Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 3: 425.
- JAKSIC, S., UHITIL, S., PETRAK, T., BAZULIC D., KAROLYI, L.G., 2002. Occurrence of *Vibrio* spp. in sea fish, shrimps and bivalve molluscs harvested from Adriatic Sea. *Food Control*, 13: 491-493

- KASPAR, C.W., TAMPLIN, M.L., 1993. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 2425.
- KLONTZ, K.C., LIEB, S., SCHREIBER, M., JANOWSKI, H.T., BALDY, L.M., GUNN, R.A. 1988. Syndromes of *Vibrio vulnificus* infections. Clinical and epidemiologic features in Florida cases, 1981-1987. *Annals Internal Medicine*, 109: 318.
- MONTANARI, M.P., PRUZZO, C., PANE, L., COLWELL, R. R. 1999. *Vibrios* associated with plankton in a coastal zone of the Adriatic Sea (Italy). *FEMS Microbiolgy Ecology*, 29: 241-247.
- MORRIS, J.G. Jr., BLACK R.E., 1985. Cholera and other *Vibrioses* in the United States. *The New England Journal of Medicine*, 312: 343.
- PARANJPYE, R.N., LARA, J.C., PEPE, J.C., PEPE, C.M., STROM, M.S., 1998. The type IV leader peptidase/N-methyltransferase of *Vibrio vulnificus* controls factors required for adherence to HEp-2 cells and virulence in iron-overloaded mice. *Infection and Immunity*, 66: 5659.
- SHAPIRO, R.L., ALTEKRUSE, S., HUTWAGNER, L., BISHOP, R., HAMMOND, R., WILSON, S., RAY, B., THOMPSON, S., TAUXE, R.V., GRIFFIN, P.M., 1998. The role of Gulf Coast oysters harvested in warmer months in *Vibrio vulnificus* infections in the United States, 1988-1996. *Journal of Infectious Disease*, 178: 752.
- SMITH, D.C., SCHMUTZ, P.H., HOYLE, E.H., 2001. Clemson University Public Services Activities. *Vibrio vulnificus* <http://hgic.clemson.edu/factsheets/HGIC3663.htm>
- STARKS, A.M., SCHOEB T.R., TAMPLIN, M.L., PARVEEN, S., DOYLE, T.J., BOMEISL, P. E., ESCUDERO, G.M., GULIG, P.A., 2000. Pathogenesis of Infection by Clinical and Environmental Strains of *Vibrio vulnificus* in Iron-Dextran-Treated Mice. *Infection and Immunity*, 68: 5785-5793.
- STELMA, G.N., SPAULDING, P.L., REYES, A.L., JOHNSON, C.H., 1988. Production of enterotoxin by *Vibrio vulnificus*. *Journal of Food Protection*, 51: 192.
- STEPHENSON F., 1994. Toward Safer Oysters. [http://mailer.fsu.edu/~research/RinR/summer\\_94.html](http://mailer.fsu.edu/~research/RinR/summer_94.html)
- STROM, M.S., PARANJPYE, R.N., 2000. Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbes and Infection*, 2(2): 177-188.
- SUMNER, J., ROSS, T. 2002. A semi-quantitative seafood safety risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*, 77: 55-59.
- TACKET, C.O., BRENNER, F., BLAKE, P.A., 1984. Clinical features and an epidemiological study of *Vibrio vulnificus* infections. *Journal of Infectious Disease*, 149: 558.
- TISON, D.L., NISHIBUCHI, M., GREENWOOD, J.D., SEIDLER, R.J., 1982. *Vibrio vulnificus* biogroup 2: New biogroup pathogenic for eels. *Applied and Environmental Microbiology*, 44: 640.
- VEENSTRA, J., RIETRA, P.J., GOUDSWAARD, J., KAAAN J.A., VAN-KEULEN, P.H., STOUTENBEEK, C.P., 1993. Extra-intestinal infections caused by *Vibrio* spp. in the Netherlands. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 137: 654.
- WRIGHT, A.C., POWELL, J.L., TANNER, M.K., ENSOR, L.A., KARPAS, A.B., MORRIS, J.G. Jr., SZTEIN M.B., 1999. Differential expression of *Vibrio vulnificus* capsular polysaccharide. *Infection and Immunity*, 67: 2250-2257.