

Vibrio Parahaemolyticus Gıda Zehirlenmesi

Ece SOYUTEMİZ* Ayşegül AYDIN**

Geliş Tarihi: 10.04.2001

Özet: Doğal olarak denizlerde ve nehirlerin denizlere açıldığı yerlerdeki çevresel materyallerde yerleşen, gram negatif, halofilik bir mikroorganizma olan *Vibrio parahaemolyticus*, gastroenteritis (en yaygın sendrom), yara enfeksiyonları ve septisemi olmak üzere 3 büyük klinik hastalık sendromuna neden olmaktadır. *V. parahaemolyticus* enfeksiyonları genellikle, çığ kabukluları, özellikle istiridyeleri yiyen veya derilerindeki yaraları ılık deniz suyuna maruz kalan kişilerde oluşur. *V. parahaemolyticus*, ilk kez 1950 yılında, Japonya'da gıda kaynaklı bir enfeksiyon nedeni olarak tanımlanmıştır. O zamandan bu yana, *V. parahaemolyticus* Japonya'da ve tüm Asya'da gıda kaynaklı bir enfeksiyon nedeni olarak bilinmektedir. Son on yıl içinde, Birleşik Amerika'da *V. parahaemolyticus* en sık gastroenteritise neden olan ve insanlardan en çok izole edilen *Vibrio* türlerindedir. Bu mikroorganizma, Japonya'da ve deniz ürünlerinin tüketildiği dünya ülkelerinde yalnızca gıda kökenli zehirlenmelerin nedeni olarak değil, aynı zamanda bir sağlık riski olarak kabul edilmektedir.

Vibrio parahaemolyticus food poisoning

Summary: *Vibrio parahaemolyticus* is a gram-negative, halophilic bacterium that naturally inhabits marine and estuarine environments and caused 3 major syndromes of clinical illness- gastroenteritis (the most common syndrome), wound infections and septicemia. *V. parahaemolyticus* infections are usually acquired by persons who eat raw shellfish, particularly oysters, or whose skin wounds are exposed to warm seawater. *V. parahaemolyticus* was first identified as a cause of foodborne illness in Japan in 1950.

Since then, *V. parahaemolyticus* has been recognized as a common cause of foodborne illness in Japan and throughout Asia. During the past ten years in United States, *V. parahaemolyticus* has been the most common *Vibrio* species isolated from humans, as well as the most frequent cause of *Vibrio*- associated gastroenteritis. The organism has been recognized not only as the principal cause of foodborne outbreaks in Japan but also as a health hazard in seafoods consumed throughout the world.

Giriş

Birçok bilinen gıda zehirlenmesi sendromları çeşitli gıdalardan kaynaklanırken, deniz ürünleri *Vibrio parahaemolyticus*'tan ileri gelen gıda zehirlenmelerinde hemen hemen tek kaynak olarak görülmektedir¹. *V. parahaemolyticus* ilk kez 1950 yılında Fujino ve arkadaşları tarafından Japonya'nın Osaka bölgesinde deniz ürünü kökenli bir zehirlenmenin nedeni olarak rapor edilmiştir². Bu mikroorganizma, Japonya'da ve deniz ürünlerinin tüketildiği dünya ülkelerinde yalnızca gıda kökenli zehirlenmelerin nedeni olarak değil, aynı zamanda bir sağlık riski olarak kabul edilmektedir^{2,3}.

Türkiye üç tarafı denizlerle çevrili bir ülke olması nedeniyle deniz ürünleri açısından oldukça zengin bir kaynağa sahiptir. Ancak gerek deniz sularının kirliliği gerekse deniz ürünlerinin avlandıktan sonra gerektiği şekilde korunamaması, mikrobiyal floranın artmasına ve hijyenik kalitenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır. Bu mikrobiyal flora arasında yer alan ve gıda kökenli enfeksiyona neden olan *Vibrio parahaemolyticus*, son günlerde özellikle Türkiye'den ihraç edilen deniz ürünlerinde büyük önem kazanmıştır.

* Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Bursa-Türkiye

** Vet. Hek.; Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü, Bursa-Türkiye.

Organizmanın Özellikleri ve Üreme Koşulları

V. parahaemolyticus Vibrionaceae familyasındaki dört cinsten birisi olan *Vibrio* cinsi içinde yer alan ve halofilik yapı sergileyen bir türdür^{2,4}. Gram negatif, düz veya kıvrık çomakçık şeklinde, hareketli, fakültatif anaerob ve spor oluşturmeyen mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır^{2,4,8}.

V. parahaemolyticus mezofilik bir mikroorganizmadır. Laboratuvar ortamındaki optimum gelişme ısısı 37°C olup, üremenin gözlemlendiği sıcaklık aralığı 5-43°C'dir^{2,9-11}. Minimum üreme derecelerindeki gelişimini ortamın pH'sı ve tuz konsantrasyonu da etkilemektedir. % 3 tuz içeren Trypticase Soy Broth besiyerinde 5°C'de üreme olması için rapor edilen minimum pH'nın 7.3, tuz konsantrasyonu arttırıldığında % 7 tuzluluk oranında minimum pH'nın 7.6 olması gerektiği belirtilmektedir. Optimum pH oranı 7.5-8.5 arasında olmakla birlikte üreme pH aralığı 5-11'dir^{2,9}.

Halofilik bir bakteri olduğundan üremesi için NaCl'e ihtiyaç gösterir^{2,3}. En iyi üreyebildiği tuzluluk oranı % 3 olarak belirtilmiş olup, bu oran % 0.5-0.8 arasında değişiklik gösterebilir^{2,6,10,11}.

V. parahaemolyticus'un düşük ve yüksek NaCl konsantrasyonlarına tolerans göstermesi onun osmotik ve iyonik hassasiyete sahip olmasının sonucudur. Optimum NaCl konsantrasyonundaki (%3'lük) su aktivitesi değeri 0.992 olmakla birlikte *V. parahaemolyticus*'un NaCl ilave edilen Trypticase Soy Broth içinde gelişimi için bulunan minimum su aktivitesi değeri 0.948 olarak bildirilmiştir². Bu organizmanın distile suda kolayca inaktive olduğu^{2,9}, hücrelerin %90'ının 0.9-4.4 dakika arasında inaktive edilebildiği belirtilmektedir. Optimum üreme koşulları altında bu mikroorganizmanın jenerasyon süresi 9-13 dakika arasında değişebilmektedir¹.

V. parahaemolyticus kötü koşullara oldukça duyarlı narin bir mikroorganizmadır^{2,9}. Kuru şartlara ve sıcaklığa oldukça duyarlı olan bu organizmanın 60°C'de 15 dakika süre ile ısıtılan deniz ürünlerinden ve bakteri kültürlerinden izole edilmediği bildirilmektedir^{2,3,9}. Birçok organizmada olduğu gibi *V. parahaemolyticus*'un ısısal direncinin ısıtıldığı ortamın bileşimine, hücrenin fizyolojik durumuna ve bulunduğu sıcaklık derecesine göre değiştiği bilinmektedir. Balık homojenatındaki ısısal direncin tampon çözeltisine göre yüksek olduğu, yine tuz konsantrasyonunun % 3'ten % 12'ye çıkarılması ile ısısal direncin yükseldiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda % 3 NaCl içeren peptonlu besiyerinde hücre sayısında 55°C'de 5 dakika süre içinde 3-4 logaritmik üni-

te, 60°C'de ise 7 logaritmik ünite azalma gözlemlendiği bildirilmiştir⁹.

Düşük sıcaklıklara da oldukça duyarlı olduğu belirtilen bu organizmanın soğuk şartlarda (+4°C) muhafaza edilen veya dondurulan (-2,-10,-16°C) çiğ balık, karides, midye homojenatları ile % 3 NaCl içeren pepton besiyerinde başlangıç hücre sayısının 1-4 logaritmik ünite azalma gösterdiği ve % 12'ye varan oranlarda sodyum klorür ilavesinin organizmanın soğuğa karşı direncini arttırdığı saptanmıştır^{2,9}.

V. parahaemolyticus'un termostabil somatik O antijeni, termostabil kapsüler K antijeni ve flageller H antijeni olmak üzere 3 ana antijen grubuna sahip olduğu belirtilmiştir. "H antijeni" saf protein olup *V. parahaemolyticus*'un bütün suslarında ve diğer birçok *Vibrio* türlerinde bulunan polar flagelladan elde edilir. Ancak serolojik tanımlamada diagnostik test olarak kullanılmaz. K antijeni asidik polisakarit yapısında olup içerdiği pentoz, hekzos ve hekzoaminlerin oranı antijenler arasında farklılık gösterir. O antijeni ise bir lipopolisakarit yapısında olup glukoz, galaktoz, glukozamin, heptoz, fosfor, yağ asidi esteri ve nitrojen bileşiklerini içerir^{2,9}. *V. parahaemolyticus*'un antijenik yapıları üzerinde yapılan çalışmalarda serolojik olarak O ve K antijenleri ile sınıflandırma yapılabilmektedir^{4,6}. Bu çalışmalar sonucunda 11 O antijeni grubu ile 65 K antijeni grubu saptanmıştır^{2,9}. *V. parahaemolyticus*'un rutin serolojik tiplendirilmesi ise yalnızca K antijeni ile yapılmaktadır^{2,6}.

Araştırmacılar *V. parahaemolyticus*'un en az dört hemolitik madde içerdiğini ortaya koymuşlardır. Bunlar termostabil direkt hemolizin, termolabil direkt hemolizin, fosfolipaz A ve lizofosfolipaz olarak tanımlanmıştır². *V. parahaemolyticus*'un patojenitesinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu organizmanın patojenitesi ile Kanagawa reaksiyonu arasında büyük bir paralellik saptanmıştır. Termostabil direkt hemolizine sahip olan *V. parahaemolyticus* bu hemolizin sayesinde Wagatsuma agardaki insan eritrositlerini β hemolize uğratmaktadır³.

Epidemiyolojisi

Epidemiyolojik araştırmalardan elde edilen bulgular, özellikle sıcak mevsimlerde *V. parahaemolyticus* vakalarına kaynak teşkil eden gıdaların yetersiz pişirme işlemine tabi tutulmuş veya pişirme işleminden sonra yeniden kontamine olmuş yada uygun olmayan şartlarda soğutulmuş gıdalar olduğunu ortaya koymuştur^{1,9,12}. Deniz ürünleri dışında diğer gıdaların gerek marketlerde gerekse mutfaklarda meydana gelen konta-

minasyonlardan dolayı *V. parahaemolyticus* gıda zehirlenmesine yol açtığı bilinmektedir⁹.

V. parahaemolyticus'un halofilik doğası göz önünde tutulduğunda bu organizmanın bütün dünya denizlerinden elde edilmiş olması şaşırtıcı değildir². Özellikle ılık kıyı sularında, körfezlerde, nehir ağızlarına yakın deniz sularında rastlanır⁹. Ayrıca bu sulardan elde edilen balık, çift kabuklu yumuşakçalardan ve diğer kabuklulardan izole edilmiştir^{2,5}. Bazı araştırmacılar çok az örnekte tatlı sudan veya tatlı su balığından izole edilen *V. parahaemolyticus*'a rastladıklarını rapor etmişlerdir². Bu durum balıkların yakalandığı tatlı suların kirli olmasına bağlanmıştır.

Deniz sularından izolasyon sıklığı ve organizma sayısı deniz suyu sıcaklığına, dolayısıyla mevsime göre farklılık gösterir. Yaz aylarında daha sıklıkla izole edildiği ve konsantrasyonun yüksek olduğu bilinmektedir^{2,9}. Deniz suyu sıcaklığının 13-15°C'nin altına düştüğü zamanlarda bakterinin sudan, sedimentlerden ve kabuklulardan izolasyonun nadir olduğu belirtilmiştir. *V. parahaemolyticus*'un kış boyunca affinite gösterdiği yaşamını etkileyen önemli bir faktör olan kitin, birçok plankton türlerinin dış kabuğunun yapısında bulunur. Böylece organizma yıllık sedimentasyon ve yeniden süspansiyon olma sirkülasyonun bir sonucu olarak yeniden su içerisinde ortaya çıkar^{2,3}.

Nitekim, zehirlenmelerin Japonya'da genellikle Haziran-Ekim ayları arasında oluştuğu rapor edilmiştir. Keza bu sıcak mevsim boyunca semptom göstermeyen bireylerin dışkılarında da izole edilebildiği bildirilmiştir. Yine yaz mevsimi boyunca 2000 kişilik oluşturulan bir grup üzerinde yapılan incelemelerde dışkılardan % 0.3 oranında *V. parahaemolyticus* elde edilmiştir. Ayrıca "Sushi" olarak adlandırılan 200 yemeğin 5 tanesinden (% 2.5 oranında) *V. parahaemolyticus* elde edilmiştir².

Ayrıca Hong Kong, Endonezya, Tayland ve Vietnam'dan ithal edilen 686 deniz ürününün 315'inde (%45.9) *V. parahaemolyticus* izole edilmiştir. Hong Kong ve Tayland'daki ürünlerde *V. parahaemolyticus*'un insidensi Endonezya ve Vietnam'daki ürünlerden daha yüksektir¹³.

Cochin çevresindeki marketlerden toplanan kabukluların % 78.57'sinden, yumuşakçaların ise % 51.262'sinden *V. parahaemolyticus* izole edilmiştir. Bunun yanında bütün istiridye örnekleri *V. parahaemolyticus* bakımından pozitif bulunmuştur¹⁴.

Türkiye'de ise İnal ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda Akdeniz, Marmara, Ege ve Karadeniz sahillerinden alınan su örneklerin-

den ve balıklarda *V. parahaemolyticus* yaz periyodunda kış mevsimine kıyasla daha yüksek oranlarda bulunmuştur¹⁵. Ayrıca İzmir körfezinin üç ayrı bölgesinden çıkarılan akivadeslerin mikrobiyolojik kalitesini ortaya koymak amacıyla yapılan çalışmada *V. parahaemolyticus*'a rastlanılmadığı¹⁶ ve kum midyelerinin mikrobiyolojik kriterlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir başka çalışmada ise yine *V. parahaemolyticus*'un bulunmadığı belirtilmiştir⁸.

V. parahaemolyticus ile kontamine olan deniz ürünleri genellikle düşük miktarlarda bu bakteriyi içerirler. Genellikle yeni avlanan deniz ürünlerindeki konsantrasyonu 10²/g'dır^{2,3,9}. Bununla birlikte marketlerde satılan kerevit ve midyelerde yaz boyunca 10³/g oranında bulunabildiği, bu oranın Japonya'da 10³'ten 10⁴'e kadar değiştiği rapor edilmektedir^{2,3}. *V. parahaemolyticus*'un virulent suşlarının minimum enfektif dozu 10⁵-10⁷ arasındadır. Gastroenteritisli hastalardan elde edilen bütün suşlar Kanagawa pozitif olarak izole edilmiştir. Ancak deniz ürünü ve deniz çevresinden elde edilen izolatlar Kanagawa negatif olarak rapor edilmiştir³.

Sporadik Enfeksiyonlar ve Salgınlar

V. parahaemolyticus'tan ileri gelen gastroenterit oluşturan gıda kökenli zehirlenmeler Avrupa ve ABD de sıkça oluşmaktadır³. Ancak deniz ürünlerinin çiğ olarak tüketildiği yemek kültüründen dolayı Japonya'da ve Güneydoğu Asya ülkelerinde yaygın olarak gözlenir^{12,15}.

Japonya'da Nagano Bölgesi'nde, 1981'den 1993'e kadar geçen 13 yıl boyunca oluşan 481 vakayı içeren 43 *V. parahaemolyticus* salgımında, serotip O4:K8'in en yaygın serotip oluşu ve bunu serotip O2:K3, O4: K63 ve O3:K5'in izlediği bildirilmektedir¹⁷.

İspanya'da 20 Ağustos - 15 Ekim 1989 tarihleri arasında bildirilen 8 akut gastroenteritis vakası ilk rapor edilen vakalardır. Sekiz suşun da Kanagawa pozitif olduğu belirlenmiştir. Bir hasta dışında bütün vakaların evleri dışında balık veya kabukluları tükettikleri ortaya konmuş ve bütün hastalarda akut gastroenteritisin klinik belirtileri görülmüştür¹⁸.

Hindistan, Calcutta'da 1996 yılında diyare vakalarının sayısındaki artıştan *V. parahaemolyticus* O3:K6 suşları sorumlu tutulmuştur. Diğer taraftan, 1997 ve 1998 yıllarında, O3:K6 suşu, Tayvan, Laos, Japonya, Tayland, Kore ve Birleşik Amerika'da klinik kaynaklardan izole edilmiştir¹⁹.

1988 ile 1997 yılları arasında Birleşik Amerika'da körfez kıyılarında yılda ortalama 34

sporadik enfeksiyon olduğu saptanmıştır. V. parahaemolyticus'a bağlı gastroenteritis belirtileri gösteren 88 hasta arasından 77'sinin (% 88) ve septisemi gösteren 11 hasta arasından da 10'unun (%91) çiğ isticiridye yediği belirlenmiştir²⁰.

1973 ve 1998 yılları arasında, Birleşik Amerika'da 15 eyalette meydana gelen 40 V.parahaemolyticus salgını 1064 kişinin hastalanması ile sonuçlanmıştır. Bu salgınların büyük bir kısmı sıcaklığın yüksek olduğu aylarda, Nisan ve Ekim ayları arasında meydana geldi. Son üç büyük salgın 1997 ve 1998'de meydana gelmiştir. Haziran- Ağustos 1997 tarihlerinde meydana gelen salgında en yaygın V. parahaemolyticus serotipinin O4:K12 ve O1:K56 olduğu görülmüştür. Mayıs- Haziran 1998 tarihlerinde görülen salgında ise bütün hastalardan, genellikle Asya'daki salgınlarda görülen serotip O3:K6 izole edilmiştir. 1998'in daha sonraki diğer bir salgınında ise serotip O3:K6'nın enfeksiyona neden olduğu anlaşılmıştır²⁰.

Hastalığın Karakteri

V. parahaemolyticus ile kontamine deniz ürünlerinin tüketimi sonucu oluşan insanlardaki hastalığın 2-3 günde kendiliğinden iyileşen gastroenteritis şeklinde ortaya çıktığı bildirilmektedir. Klinik semptomlar ishal, abdominal kramplar, mide bulantısı, kusma, baş ağrısı, düşük derecede ateş ve titreme şeklinde oluşmaktadır. İnkübasyon periyodu 4-96 saat arası değişiklik göstermektedir. V. parahaemolyticus'u ekstraintestinal enfeksiyon nedeni olarak gösteren birçok önemli deliller olduğu ve ekstremitelerdeki yaralardan, kulak enfeksiyonlarından, gözden ve kandan da izolatların elde edildiği açıklanmaktadır. En çok etkilenen bireylerin de yaşlılar olduğu bildirilmektedir².

New York'da isticiridye veya kabukluları yiyen veya elle işleyen 23 kişi üzerinde yapılan incelemede 19 saat sonra hastaların %89'unda gastroenteritis, %11'inde alt ekstremitte ödemi ile seyreden kan dolaşımı enfeksiyonları ortaya çıkmıştır. Gastroenteritis semptomları gösteren hastaların % 100'ünde diyare, % 94'ünde abdominal kramplar, % 94'ünde mide bulantısı, % 82'sinde kusma, % 47'sinde ateş, % 29'unda kanlı ishal, % 24'ünde baş ağrısı ve % 24'ünde kas ağrıları (miyalji) tespit edilmiştir. Gastrointestinal hastalığın ortalama süresi ise 5 gün olarak belirlenmiştir²¹.

Kuzey Amerika'da Haziran- Ağustos 1997 tarihleri arasında meydana gelen 209 kişilik V. parahaemolyticus enfeksiyonlarında, hastalardaki yaş ortalaması 39 (12-85) olarak belirlenmiş,

bunların % 67'sinin erkek olduğu saptanmıştır. Hastaların % 99'u diyare, %88'i abdominal kramplar, % 52'si mide bulantısı, % 39'u kusma, % 33'ü ateş ve % 12'si kanlı diyare göstermiştir. Kan dolaşımından etken izole edilen bir hasta da ölmüştür²¹.

1988-1997 yılları arasında Birleşik Amerika'da 345 sporadik V. parahaemolyticus enfeksiyonu rapor edilmiştir. Bunların 202'si (% 59) gastroenteritis, 118'i (% 34) yara enfeksiyonları ve 17'si (% 5) septisemi ile seyretmektedir. Diğer 8 enfeksiyonun (% 2), kulak, göz, üriner sistem ve peritoneal enfeksiyonları içerdiği bildirilmektedir. Kulak enfeksiyonları, Meksiko Körfezi'nde yüzmekten dolayı, göz enfeksiyonu ise korneal yaralanmayı takiben gözün ılık deniz suyuna maruz kalmasına bağlı olarak ve peritoneal enfeksiyon ise akut apandisit ameliyatından sonra teşhis edilmiştir. Bildirilen enfeksiyonlardan 221'i (%64) erkeklerde meydana gelmiş olup, hastaların yaşları 1 aylıktan 93 yaşa kadar (ortalama 36 yaş) değişiklik göstermektedir²⁰.

Diğer taraftan Birleşik Amerika'da V. parahaemolyticus enfeksiyonuna yakalanan 301 hastadan 12 tanesinin (% 4) öldüğü açıklanmıştır. Ölen 12 hastanın 5'inin (% 29) septisemi, 4'ünün (% 2) gastroenteritis ve 3'ünün (% 3) yara enfeksiyonlarına sahip olduğu ve 9'unun çiğ isticiridye yediği ortaya konmuştur. Bunun yanında ölen hastaların 10 tanesinde (% 83) bazı tıbbi rahatsızlıkların olduğu belirlenmiş olup, bunlar alkolizm, karaciğer hastalığı, renal hastalık, vasküler hastalık ve diyabetir²⁰.

Danimarka'da 1987-1992 yılları arasında 6 yıllık bir süre içinde, halofilik vibrioların neden olduğu ekstraintestinal enfeksiyonlar üzerine yapılan bir çalışmada, 30 klinik enfeksiyon saptanmıştır. Vibrio parahaemolyticus enfeksiyonları 3'ü yara enfeksiyonu, 10 tanesi de kulak enfeksiyonu olmak üzere 13 hastada bulunmuştur²².

Organizmanın Kontrolü

V. parahaemolyticus'un ılık kıyı sularında yaygın bir şekilde bulunuşu bu sularda avlanan deniz ürünlerinin özellikle sıcak aylarda bu organizma ile kontaminasyonunu kaçınılmaz kılmaktadır. Ayrıca organizmanın üreme hızının yüksek oluşu uygun şartlarda avlanıp işlenmeyen, dağıtımı yapılamayan ve depolanamayan çiğ balıklarda başlangıçta düşük olan sayının hızla yükselmesinin nedenlerindedir. Bu yüzden deniz ürünlerinin çiğ olarak tüketilmesi büyük tehlike taşır⁹. Pişirme esnasında uygulanan ısının yeterli olduğundan da emin olunmalıdır¹¹. Ayrıca alet, ekipman ve yüzeylerden çapraz kontaminasyon

üzerinde de durulmalıdır. Özellikle çiğ deniz ürünleri ile temas etmiş yüzeylerin tatlı su ile yıkanması bu organizmanın inaktivasyonu için pratik bir uygulamadır^{2,9}. Kısacası *V. parahaemolyticus* kökenli gıda zehirlenmelerinin kontrolü tüketicinin alabileceği enfektif doz riskini azaltma veya elimine etme uygulamalarıyla başlanabilir².

İzolasyonu ve İdentifikasyonu

V. parahaemolyticus hastaların dışkılarından kolayca izole edilebilir⁶. Ancak diğer rakip mikroorganizma türleri ile birlikte az miktarda bulunduğu gıdalardan *V. parahaemolyticus*'un izolasyonu seçici ve zenginleştirici uygulamalara dayandırılır. *V. parahaemolyticus*'un izolasyonu için birçok farklı agar ve sıvı besiyeri formülasyonları önerilmektedir. Çeşitli zenginleştirme ve izolasyon vasatı kombinasyonları laboratuvarlar arasında yürütülen ortak çalışmalarda karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir². En sık kullanılan zenginleştirme vasatı Glucose Salt Teepol Broth (GSTB), Salt Polymixin Broth ve Alkaline Pepton Water olarak belirtilmiştir^{5,7}. Yapılan karşılaştırmalı çalışmaların birçoğunda tercih edilen izolasyon vasatının Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) Agar olduğu bildirilmektedir². Sukrozu fermente etmeyen *V. parahaemolyticus* kolonileri TCBS Agarda yeşil veya mavimsi renkte, ortası koyu renkli, 2-3 mm çapında, yuvarlak olarak görünürler^{2,5}.

V. parahaemolyticus'un identifikasyonu ve diğer organizmalardan ayırt edilmesi biyokimyasal testlerle yapılır²³. Halofilik vibrio türlerinin birçoğu biyokimyasal testlerde tuz eklenmesine ihtiyaç gösterirler^{24,25}.

Kanagawa reaksiyonu ile Wagatsuma agarda mikroorganizmanın termostabil direkt hemolizin içerip içermediği ortaya konur. Pozitif reaksiyon ile *V. parahaemolyticus* izolatlarının patojenitesi arasında yakın ilgi olduğu bildirilmektedir. Ancak deniz ürünlerinden elde edilen suşların genellikle Kanagawa negatif reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Deniz çevresinden elde edilen suşların yalnızca %1 kadarının Kanagawa pozitif olduğu saptanmış, Maldives'te hastalardan elde edilen 12 pozitif *V. parahaemolyticus*'un 11 adetinin Kanagawa negatif olduğu rapor edilmiştir²⁵.

V. parahaemolyticus'un aranmasında kullanılan klasik izolasyon ve identifikasyon yönteminin yanısıra bu mikroorganizmanın sayımında; %3 NaCl içeren peptonlu su ile dilüsyonları hazırlanan gıda homojenatından, içerisinde Glucose Salt Teepol Broth bulunan tüplere Most Probable

Number (MPN) yöntemine göre ekim yapılarak, bu tüplerin 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonunda MPN tablosuna göre *V. parahaemolyticus* sayısı hesaplanır²⁶.

İdentifikasyonda önemli olan özelliklerini şöyle sıralayabiliriz^{5,7,23-25,27,28}.

TCBS Agar	yeşil koloni
Hareket	+
Oksidaz Testi	+
Arginin Dihidrolaz Testi (ADH)	-
Ornitin Dekarboksilaz Testi (ODC)	+
Lisin Dekarboksilaz Testi (LDC)	+
Triptofan Deaminaz Testi (TDA)	-
Laktoz	-
Glukoz	+
Glukoz, Gaz	-
D-Mannitol	+
Sukroz	-
Arabinoz	(+/-)
Salicin	-
Cellobioz	-
Arbutin	-
Xylose	-
ONPG	-
H ₂ S	-
Üre	(+/-)
Nitrat Redüksiyonu	+
Voges Proskaover (VP)	-
Ethanol	+
Glikozun fermentasyonu ve oksidasyonu	+
L-Leucine	+
%0 NaCl'li ortamda üreme	-
%6 NaCl'li ortamda üreme	+
%8 NaCl'li ortamda üreme	+
%10 NaCl'li ortamda üreme	-
42°C'de üreme	+
0/129 (150µ) Vibriostat Disk'e	Duyarlı
Kanagawa fenomeni	(+/-)

Son yıllarda geliştirilen yeni teknikler gıdalarda *V. parahaemolyticus* aranmasını kısmen kolaylaştırmıştır. Bu amaçla geliştirilen yöntemlerden hem hızlı hem de ekonomik olması nedeniyle en çok tercih edilenlerinden biri Hidrofobik Grid Membran Filtre Tekniği, diğeri ise Elektrik İmpedans Yöntemi'dir^{6,26}. Ayrıca *V. parahaemolyticus*'un patojenite mekanizmasında etkili olduğu bildirilen termostabil direk hemolizinin varlığını saptamak amacıyla ELISA ve Gen Prob'u uygulamaları geliştirilmiştir⁶.

Kaynaklar

1. JAY, J.M.: Modern Food Microbiology. Fourth Edition. An Avi Book. Reinhold, V.N., Newyork, 583-590 (1992).
2. TWEDT, R.M.: In Section 13. Vibrio parahaemolyticus. Foodborne Bacterial Pathogens. Ed. by Doyle, M.P., Dekker, M., 544-568 (1989).

3. DOYLE, M.P.: Foodborne Illness. Pathogenic *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* and *Vibrio parahaemolyticus*. *The Lancet*, 336,1111-1115 (1990).
4. BAUMANN, P., SCHUBERT, R.H.W.: Section 5. Facultatively Anaerobic Gram-Negative Rods, Family II. Vibrionaceae. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Holt, J.G. and Krieg, N.R., Williams and Wilkins, Baltimore (Hong Kong, London, Sydney) 516-550 (1984).
5. ELLIOT, E.L., KAYSNER, C.A., JACKSON, L., TAMPLIN, M.L.: Chapter 9. *Vibrio cholera*, *V.parahaemolyticus*, *V.vulnificus* and Other *Vibrio* spp. *Bacteriological Analytical Manual*. 8th Edition. Food and Drug Administration (1995).
6. ANONYMOUS: Microorganisms in Food. Their Significance and Methods of Enumeration. A Publication of the International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) of the International Association of Microbiological Societies. University of Toronto Press, Toronto (1982).
7. BARROW, G.I., FELTHAM, R.K.A.: *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cowan and Steel's. Third Edition. 121-126 (1993).
8. ŞENTÜRK, A.: Kum Midyelerinin (*Chamelea gallina* L.1758) İşlenmesi ve Mikrobiyolojik Kriterlerinin Belirlenmesi. Y. Lisans Tezi, İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı İşleme Teknolojisi Programı. İstanbul (1999).
9. ÜNLÜTÜRK, A., TURANTAŞ, F.: Gıda Mikrobiyolojisi, Ege Üniv., Mengi Tan Basımevi, 128-132 (1998).
10. ADAMS, M.R., MASS, M.O.: Food Microbiology. University of Surrey, Guildford, UK. The Royal Society of Chemistry, 210-214 (1995).
11. HAYES, P.R.: Food Microbiology and Hygiene. Department of Microbiology, University of Leeds, U.K. Elsevier Applied Science Publishers, 44-47 (1985).
12. DEMİRER, M.A.: Besin Hijyeni Genel Bölüm. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. A.Ü. Vet. Fak. Ders Notları, 90-91 (1995).
13. WONG, H.C., CHEN, M.C., LIU, S.H., LIU, D.P.: Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *Int. J. Food Microbiol.* 52 (3), 181-188 (1999).
14. SANJEEV, S., STEPHEN, J.: Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in fish and shellfish marketed in Cochin. *Indian Journal of Marine Science*. 22, 70-71 (1993).
15. İNAL, T.: Besin Hijyeni. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset, 466-467 (1992).
16. ÇAKLI, Ş., HİNDİOĞLU, A., ARDA, M.: İzmir Körfezinden Farklı İstasyonlardan Toplanan *Akivades* (*Tapes decussatus*, 1758)'lerin Mikrobiyolojik Kalite Kontrolleri. Akdeniz Balıkçılık Kongresi. 9-11 Nisan 1997, İzmir (1997).
17. MURAMATSU, K.: Comparison of epidemiological markers for *Vibrio parahaemolyticus* isolated from food poisoning. *Kansenshogaku Zasshi*. 73 (2), 179-186, 1999.
18. MOLERO, X., BARTOLOME, R.M., VINUESA, T., GUARNER, L., ACCARINO, A., CASELLAS, F., GARCIA, R.: Acute gastroenteritis due to *Vibrio parahaemolyticus* in Spain. Presentation of 8 cases. *Med. Clin (Barc)*. Jan 14, 92 (1), 1-4 (1989).
19. MATSUMOTO, C., OKUDA, J., ISHIBASHI, M., IWANAGA, M., GARG, P., RAMMAMURTHY, T., WONG, H.C., DEPAOLA, A., KIM, Y.B., ALBERT, M.J., NISHIBUCHI, M.: Pandemic spread of an O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and *toxRS* sequence analyses. *J. Clin. Microbiol.* 38 (2), 578-585 (2000).
20. DANIELS, N.A., MACKINNON, L., BISPOP, R., ALTEKRUSE, S., RAY, B., HAMMOND, R.M., THOMPSON, S., WILSON, S., BEAN, N.H., GRIFFIN, P.M., SLUTSKER, L.: *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998. *J. Infectious Diseases*. 181, 1661-1666 (2000).
21. ANONYMOUS: Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with eating raw oysters- Pacific Northwest, 1997. *MMWR*, June 12, 47 (22), 457-462 (1998).
22. HORNSTRUP, M.K., GAHRN-HANSEN, B.: Extraintestinal infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in a Danish county, 1987-1992. *Scand J. Infect Dis*. 25 (6), 735-740 (1993).
23. ROBERTS, D., HOOPER, W., GREENWOOD, M.: *Practical Food Microbiology*. Public Health Lab. Service. 61 Colindale Avenue London. 155-210 (1995).
24. QUINN, P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G.R.: *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing. Mosby-Year Book Europe Limited (1994).
25. KONEMAN, E., ALLEN, S.D., JANDA, W.M., SCHRECKENBERGER, P.C., WINN, Jr. M.C.: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fifth Edition. Lippincott. Philadelphia. Newyork, 339-361 (1997).
26. AYDAR, L.Y.: Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 21. *Vibrio parahaemolyticus* Aranması. Armoni Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara. 277-280 (1999).
27. HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T., WILLIAMS, S.T.: Facultatively Anaerobic Gram Negative Rods. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams and Wilkins (1994).
28. AKALIN, N.: Su Ürünlerinde *V.cholera* ve *V.parahaemolyticus* Aranması Seminer Notları. Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir (1999).