

Türkiye’de İlk Defa Saptanan Gıda Kaynaklı *Vibrio Parahaemolyticus* Olguları*

Nilgün Kansak 

Rıza Adaleti 

Belkis Levent 

Sebahat Aksaray 

First Food-Borne Cases of *Vibrio Parahaemolyticus* in Turkey

Öz

Vibrio parahaemolyticus, dünyanın birçok bölgesinde saptanmaktadır. Asya ülkelerinde ve Japonya’da gıda kaynaklı enfeksiyonların en yaygın sebeplerinden biri olup genellikle ondan az vakayı içeren küçük salgınlar şeklinde görülür.

Bu çalışmada laboratuvarımızda ishal etkeni olarak saptadığımız *V.parahaemolyticus* olgularına istinaden, artan kabuklu deniz ürünleri tüketimine bağlı olarak ülkemizde de *V.parahaemolyticus* olgularının görülebileceğine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

Temmuz-Ağustos 2018 döneminde; deniz ürünleri tüketimi sonrası gelişen gastrointestinal sistem enfeksiyon semptomları ile hastanemiz acil servisine başvuran hastalara rutin incelemeler kapsamında gaita mikroskopisi ve kültürü yapılmıştır. Dışkı örnekleri Hektoen Enterik Agar, MacConkey agar ve koyun kanlı agar besiyerlerine ekilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Kültürde saptanan laktöz negatif, oksidaz pozitif kolonilere klasik biyokimyasal testler, VITEK 2 ve MALDI-TOF MS (bioMérieux, Fransa) ile tanımlama yapılmıştır.

Yaşları 12-59 arasında değişen yedi hastanın dördünde midye dolması, birinde balık, birinde ise “fast-food” tarzı gıda tüketimi sonrası ishal ile başlayan gastrointestinal sistem şikayetleri saptanmıştır. Bir hastaya ulaşılamadığından bilgi alınamamıştır. Makroskopik olarak sulu ve mukuslu olan dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesinde bol lökosit, bir örnekte lökosit yanında bol eritrosit görülmüştür. Kültürde üreyen bakteriler, konvansiyonel testler ve otomatize sistemle yapılan tanımlamalarda VITEK 2 cihazı ile % 96 doğruluk ve MALDI-TOF MS ile % 99 doğrulukla *V.parahaemolyticus* olarak isimlendirilmiştir. Sonuçlar Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı’nda konvansiyonel testler, API 20 E ve MALDI-TOF MS (BrukerDaltonics, ABD) ile doğrulanmıştır.

Yaz aylarında gelişen ishal vakalarında, özellikle deniz ürünleri tüketimi öyküsü varlığında *V. parahaemolyticus*’un gastroenterit etkeni olarak izole edilebileceği akılda tutulmalı ve bu yönde ileri incelemeler yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Gastroenterit, gıda kaynaklı olgu, TCBS besiyeri, *Vibrio parahaemolyticus*

ABSTRACT

Vibrio parahaemolyticus (*V.parahaemolyticus*) is detected in many parts of the world. It is one of the most common causes of food-borne infections in Asian countries and Japan, and is usually seen as minor outbreaks involving less than ten cases.

In this study, it is aimed to investigate *V.parahaemolyticus* in diarrhea cases in our laboratory in order to draw attention to the possible cases of this agent due to the increase in the consumption of shellfish.

In the period of July-August 2018; patients who applied to the emergency service of our hospital with gastrointestinal tract infection symptoms following seafood consumption were investigated by stool microscopy and culture as part of routine procedures. Stool samples were cultured on Hektoen enteric agar, MacConkey agar, and sheep blood agar and were incubated at 37°C for 24 hours. After the incubation period, lactose negative and oxidase-positive colonies were identified by classical biochemical tests, VITEK 2 and MALDI-TOF MS (bioMérieux, France).

In seven patients aged between 12-59, clinical symptoms associated with gastroenteritis started after consuming stuffed mussels in four, eating fish in one, and in a patient after consuming fast food. One patient could not be contacted. In the microscopic examination of the macroscopically watery and mucous stool samples, abundant leukocytes in all samples, and abundant erythrocytes in addition to leukocytes in one sample were seen. The bacteria grown in culture were identified as *V.parahaemolyticus* by conventional methods and automated systems, Vitek 2 with 96 % and MALDI-TOF MS with 99 % accuracy. The results were also confirmed by the General Directorate of Public Health, National Enteric Pathogens Reference Laboratory by conventional methods, API 20 E and MALDI-TOF MS (BrukerDaltonics, USA).

It should be kept in mind that *V.parahaemolyticus* can be isolated as a cause of gastroenteritis in diarrhea cases during the summer months, especially in the presence of a history of seafood consumption, and further investigations should be performed in this direction.

Keywords: Food-borne cases, Gastroenteritis, TCBS media, *Vibrio parahaemolyticus*

Received/Geliş: 15.12.2020

Accepted/Kabul: 29.03.2021

Published Online/Online Yayın: 29.04.2021

Atf/Cite as: Kansak N, Adaleti R, Levent B, Aksaray S. Türkiye’de ilk defa saptanan gıda kaynaklı *Vibrio parahaemolyticus* olguları. ANKEM Derg. 2021;35(1):28-32.

Rıza Adaleti

Haydarpaşa Numune Eğitim ve
Araştırma Hastanesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı,
İstanbul, Türkiye
✉ rizaadaleti@gmail.com

ORCID: 0000- 0002- 1117- 3906

N.Kansak 0000- 0002- 1117- 3906

Haydarpaşa Numune Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı,
İstanbul, Türkiye

B.Levent 0000-0002-2866-0823

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü,
Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları
ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı
Ulusal Enterik Patojenler Referans
Laboratuvarı,
Ankara, Türkiye

S.Aksaray 0000- 0002- 0552- 1337

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye
Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
İstanbul, Türkiye

*Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti
Kongresi’nde sunulmuştur. Sözlü bildiri
No.SS- 093 (4-8 Kasım 2018, Antalya)

GİRİŞ

Deniz ürünleri tüm dünyada yaygın olarak tüketilmekte ve gıda pazarında önemli oranlara ulaşmaktadır. *Vibrio* cinsi bakteriler deniz ürünlerini enfekte ederek, insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. *Vibrio* türleri içinde önemli yeri olan *Vibrio parahaemolyticus* ilk olarak 1950’de Fujino tarafından Japonya’daki 272 kişiyi etkileyen, 20 ölümlü sonuçlanan büyük salgının ardından gıda kaynaklı hastalık etkeni olarak bildirilmiştir⁽⁶⁾.

V.parahaemolyticus nehir ağızı, deniz ve kıyı bölgelerinde bulunan, halofilik, kıvrık Gram negatif çomak şekilli, oksidaz pozitif, fakültatif anaerob bir bakteridir. *V.parahaemolyticus* çiğ, az pişmiş veya uygun olmayan şekilde hazırlanmış deniz ürünlerinin tüketimini takiben insanlarda akut gastroenterite sebep olmaktadır⁽⁸⁾. Nadir vakalarda ise yara, kulak enfeksiyonu ve immünkompromize hastalarda bakteriyemi etkeni olabilir⁽¹⁷⁾.

Vibrio parahaemolyticus, çeşitli çevresel koşullarda ürettikleri somatik (O) ve kapsüler (K) antijenlerine göre serotiplendirilir⁽¹⁰⁾.

V.parahaemolyticus deniz ürünleri tüketiminin yaygın olduğu çoğu ülkede global düzeyde bildirilmesine rağmen^(9,13,16) ülkemizde 2005 yılına kadar saptanmamıştır. Son yıllarda deniz suyu örnekleri, midyeler, tezgahtan satın alınan balık örnekleri ve balık çiftliklerinde izole edilmiş olmasına rağmen gastroenterit etkeni olarak bildirim yapılmamıştır^(2,14).

Bu çalışmada, deniz ürünleri tükettikten sonra, gastroenterit şikayeti ile hastanemize başvuran hastaların gaita örneklerinde, ülkemizde ilk defa saptanan *V.parahaemolyticus* olguları sunulmuştur.

GEREÇ VE YÖNTEM

Temmuz- Ağustos 2018 tarihleri arasında bulantı, karın ağrısı ve ishal şikayetleri ile hastanemiz acil servisine başvuran ve muayene edilen hastalardan gaita kültürü ve direkt mikroskopi istenmiştir. Laboratuvarımıza ulaşan örneklerden lökosit, eritosit ve parazit varlığı açısından direkt mikroskopik inceleme yapılmıştır.

Gaita örnekleri Hektoen Enterik agar (HE) (RTA, Türkiye), MacConkey agar (RTA, Türkiye) ve koyun kanlı agar (bioMérieux-Fransa) besiyerlerine ekim yapılarak 37°C’de bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda MacConkey agar ve HE besiyerinde laktoz negatif olan koloniler şüpheli kabul edilmiştir. Bu koloniler üç şekerli demirli besiyeri (Triple Sugar Iron Agar, TSI), Simmon’s Sitrar Agar, üre agar ve triptofan içeren sıvı besiyerlerine ekim yapılmış ve

bir gece inkübe edilmiştir. Ayrıca Gram boyama ve oksidaz testi yapılmış, lam- lamel arası yöntemi ile hareket incelenmiştir. Şüpheli olan koloniler için ileri tanımlama VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) ve MALDI-TOF MS (bioMérieux, Fransa) ile yapılmıştır. Tanımlama sonrası kolonilerden, Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS, Oxoid İngiltere) agara ekim yapılmış, ayrıca laboratuvarımızda hazırlanan Wagatsuma besiyerinde⁽³⁾ Kanagawa fenomeni araştırılmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için 0.5 McFarland bulanıklıkta bakteri süspansiyonu (1-1,5x 10⁸ koloni/ml) hazırlanarak Mueller Hinton agara (MHA) ekim yapılmış ve ampicilin, sefotaksim, siprofloksasin, tetrasiklin ve trimetoprim/sülfametoksazol (Bioanalyse, Türkiye) diskleri agar yüzeyine yerleştirilerek 37°C’de 20-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi sonucu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Doküman M45-A2⁽⁴⁾ önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir.

İzolatlar doğrulama amaçlı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarına da gönderilmiştir. Referans Laboratuvarında izolatlar koyun kanlı agar ve TCBS agar (Oxoid, İngiltere) besiyerlerine ekilmiş ve 37°C’de aerobik olarak bir gece inkübe edilmiştir. Şüpheli koloniler konvansiyonel yöntemler (Koloni özellikleri, katalaz, oksidaz, Gram boyama, Kligler Iron Agar (KIA), IMViC testleri, üreaz, karbonhidrat fermentasyon testleri, lizin, arjinin ve ornitin aminoasit dekarboksilasyon testleri, hareket, O129 duyarlılığı, NaCl’de üreme) kullanılarak tanımlanmıştır⁽¹⁾. Ayrıca API 20E (bioMérieux, Fransa) ve MALDI-TOF MS (BrukerDaltonics, ABD) ile de tanımlama yapılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testi CLSI⁽⁴⁾ önerilerine göre Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile çalışılmış ve değerlendirilmiştir. Kalite kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

BULGULAR

Hastaların beşi erkek, ikisi kadın olup 12- 59 yaş aralığındadır. Hasta öykülerinden dört hastanın midye dolması, bir hastanın eşinin yakaladığı olta balığını ve bir hastanın “fast food” yediği öğrenilmiştir. Olgularda yemek yedikten 8- 15 saat sonra bulantı, mide ağrısı ve ishal şikayetleri başlamıştır. Bir hastaya ulaşılamadığından bilgi alınamamıştır.

Hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılan incelemede gaita örneklerinin makroskopik olarak sulu ve mukuslu olduğu görülmüştür. Mikroskopik incelemede tüm örneklerde bol lökosit, bir örnekte

lökosit yanında bol eritrosit görülmüş, protozoon, protozoon kisti, helmint ve helmint yumurtası saptanmamıştır.

Besiyerlerinde üreyen şüpheli kolonilerden, TSI besiyerinde yatık kısımda alkali, dipte sarı olan gaz ve H₂S oluşturmayan, sitrat negatif, katalaz, oksidaz, indol ve metil kırmızısı pozitif, hareketli Gram negatif çomaklar VITEK 2 cihazı % 96 ve MALDI-TOF MS % 99 doğruluk oranları ile *V.parahaemolyticus* olarak tanımlamıştır. Tüm izolatlar TCBS besiyerinde yeşil renkli koloniler şeklinde üremiş (Resim 1A) ve Wagatsuma besiyerinde Kanagawa fenomeni pozitif (İnsan eritrositini hemoliz eden, sitotoksik ve kardiyotoksik özellik) bulunmuştur (Resim 1B)⁽¹²⁾. Antibiyotik duyarlılık testine göre, tüm suşlar ampisiline dirençli, trimetoprim/sülfametoksazol, tetrasiklin, sefotaksim ve siprofloksasine duyarlı bulunmuştur.

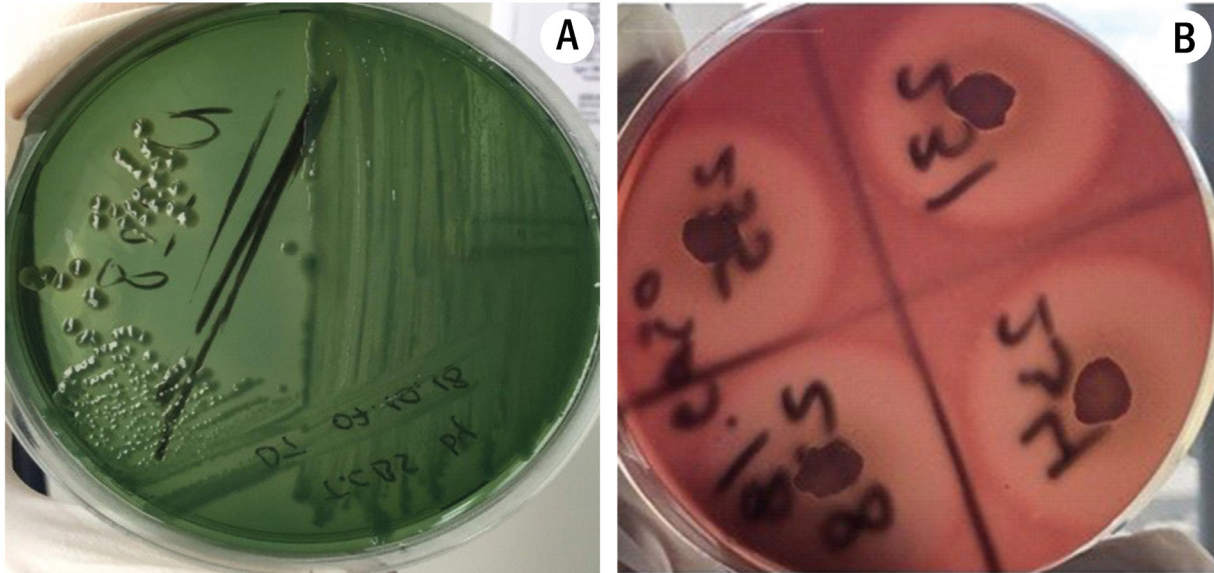
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Enterik Patogenler Referans Laboratuvarında koyun kanlı agarda üreyen ve oksidaz pozitif oldukları belirlenen kolonilerden yapılan Gram preparatlarında; Gram negatif, hafif kıvrık çomaklar gözlenmiştir. İzolatların TCBS agar besiyerinde yeşil renkli koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Biyokimyasal testler sonucunda KIA'da laktozu kullanmayıp, gaz ve H₂S üretmedikleri saptanmıştır. İndol ve metil kırmızısı pozitif, Voges Proskauer, sitrat ve üre testleri negatif olarak değerlendirilmiştir. Tüm izolatların hareketli olduğu, lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz testleri pozitif,

arjinin dehidrolaz testlerinin negatif olduğu gözlenmiştir. Ayrıca laktoz ve sukroz negatif, mannitol pozitif oldukları saptanmıştır. O129 (pteridin) duyarlılığı incelendiğinde, izolatların 10 µg'lık diske dirençli, 150 µg'lık diske duyarlı oldukları belirlenmiştir. % 0 ve % 10 NaCl konsantrasyonlarında üreme gözlenmezken, % 3 ve % 6 NaCl konsantrasyonlarında üreme saptanmıştır. API 20E testi ve MALDI-TOF MS analizi sonucunda, izolatlar *V. parahaemolyticus* olarak değerlendirilmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testleri sonucunda, izolatlar ampisiline dirençli, kloramfenikol, sülfonamid, tetrasiklin, trimetoprim/sülfametoksazol ve siprofloksasine duyarlı bulunmuştur.

TARTIŞMA

Deniz ürünleri sağlıklı beslenmenin önemli bir parçasıdır. Dünya çapında denizlerdeki patojen bakterilerin varlığı ve çevresel koşullara bağlı olarak salgınların ortaya çıkması, insanların gıda koşullarına ilişkin endişelerini artırmaktadır⁽⁸⁾.

V.parahaemolyticus enfeksiyonları lokal üretilen kabuklu deniz hayvanlarının tüketimi ile ilişkili olarak genellikle sporadik vakalar halinde görülür. *V.parahaemolyticus* dağılımı buldukları ortamın sıcaklığı, tuz oranı ve coğrafi konum gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir⁽⁷⁾. *V.parahaemolyticus*'a bağlı gastroenterit salgınları, dünyanın birçok bölgesinde görülmektedir. Özellikle son yirmi yılda iklim değişikliği nedeniyle enfeksiyon küresel çapta genişleme



Resim 1. A. TCBS besiyerinde *V.parahaemolyticus* kolonileri.
B. Wagatsuma besiyerinde Kanagawa fenomeni pozitifliği.

göstermiştir.

Ülkemizde 2005 yılına kadar deniz ürünleri ile yapılan çalışmalarda farklı *Vibrio* türleri saptanmış olmasına rağmen *V.parahaemolyticus* bildirimi yapılmamıştır. Terzi ve ark.⁽¹⁴⁾ 2006-2010 yılları arasında yaptıkları çalışmada, Karadeniz bölgesinde inceledikleri toplam 114 midye, deniz suyu ve balık örneğinde % 39 oranında *V.parahaemolyticus* tespit etmişlerdir. Son dönemlerde Güneydoğu Karadeniz bölgesinde 2010- 2015 yılları arasında ağ kafeslerde kültürü yapılan levrek balıklarında % 30'a varan ölümler yaşanmıştır. Bu salgınlar esnasında 520 hastalıklı balık incelenmiş ve 52 adet *Vibrio* spp. izole edilmiştir. Yapılan tanımlama çalışmasında bunların 18'inin *V.parahaemolyticus* olduğu saptanmıştır⁽²⁾.

Qu ve ark.⁽¹³⁾ Pekin'de Nisan 2010- Aralık 2011 tarihleri arasında 4803 akut diyareli örneği inceledikleri çalışmada örneklerin 968'inde (% 20,2) enfeksiyon etkeni saptamışlar; sıklık sırasına göre *Shigella* spp.'den sonra ikinci sırada % 5,2 oranı ile *V.parahaemolyticus* izole etmişlerdir. Aynı çalışmada 55 ko-enfeksiyonun 28'inde (% 50,9) *V.parahaemolyticus*, ve bu bakteri ile birlikte en sık *Salmonella* spp. saptamışlardır.

Fildişi Sahili'nde, 322 kabuklu ile yapılan çalışmada, örneklerin % 7,8'inden *Vibrio* spp. izole etmişlerdir. *Vibrio* türlerinden en sık *Vibrio alginolyticus* (% 40) ve *V.parahaemolyticus* (% 36) saptanmıştır⁽¹⁵⁾. New ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından Malezya'da yapılan çalışmada deniz ürünlerinde % 33,3, sebzelerde % 10 oranında *V.parahaemolyticus* tespit edilirken tavuk ve meyvelerde saptanmamıştır.

Literatürde *V.parahaemolyticus*'un enfeksiyöz dozu 10^5 - 10^7 olarak bildirilmektedir⁽⁵⁾. Olgularımızda aynı ürünü tüketen fakat semptom göstermeyen hasta yakınlarında, dışkı örneği temin edilemediğinden *V.parahaemolyticus* üremesi olup/olmadığı ve semptom görülmemesinin enfeksiyöz dozun düşüklüğüne bağlı olup olmadığı yorumu yapılamamıştır.

Çalışmamızda ampisiline duyarlılık gözlenmemiş, trimetoprim/sülfametoksazol, tetrasiklin, sefotaksim ve siprofloksasine karşı % 100 oranında duyarlılık saptanmıştır. Balta ve ark.⁽²⁾ balıklardan izole ettikleri 18 *V.parahaemolyticus*'ta benzer şekilde ampisiline % 100 direnç, sülfametoksazol ve trimetoprim/sülfametoksazole % 100 duyarlılık saptamıştır. Dünyanın birçok bölgesinde insanlarda *V.parahaemolyticus* kaynaklı enfeksiyonlar bildirilirken, iklim koşullarının değişimi ve artan deniz ürünleri tüketimi ile birlikte ülkemizde de vakaların görülmesi kaçınılmazdır. Rutin mikrobiyolojik çalışmalar sırasında özel olarak aranmadığı takdirde vakaların

atlanma olasılığı mevcuttur. Söz konusu dönemde bölgemiz dışında bildirim yapılmamış olması böyle bir ihtimali akla getirmektedir.

Laboratuvarımızda rutin çalışma kapsamında 2019 ve 2020 yaz aylarında *V.parahaemolyticus* saptanmamış olmakla birlikte, olgularımız nedeniyle ülkemizde yaz aylarında gastroenterit etkeni olarak *V.parahaemolyticus* izole edilme potansiyeli mevcuttur. Deniz ürünleri tüketim öyküsü olan veya laboratuvar olarak şüpheli durumlarda ileri tanımlama yapılmasının *V.parahaemolyticus* vakalarının atlanmaması açısından önemli olduğu düşüncesindeyiz.

Etik Kurul Onayı: Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 26.04.2021 tarih ve 2021/136 no.lu etik kurul onayı alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: The approval of the Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital Clinical Research Ethics Committee dated 26.04.2021 and numbered 2021/136 was obtained.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Abbott SL, Janda M, Farmer III JJ. *Vibrio* and Related Organisms, Carroll KC, Funke G (eds). Manual of Clinical Microbiology, 10. baskı" kitabında s.666- 676, ASM Press, Washington (2011).
2. Balta F, Yılmaz H. Kültür levreklerinde (*Dicentrarchus labrax*) *Vibrio parahaemolyticus* enfeksiyonu. JAES. 2019;4(2):104-10.
3. <https://doi.org/10.35229/jaes.544439>
4. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 41. Bölüm. Besiyerleri, Ayraçlar ve Deneyler, 2. baskı, s.641- 704, Barış yayınları, İzmir (1995).
5. CLSI. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated fastidious bacteria. 2nd edition. CLSI guideline M45. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011;30(18):36-8.
6. Daniels NA, MacKinnon L, Bishop R, et al. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998. J Infect Dis. 2000;181(5):1661-6. <https://doi.org/10.1086/315459>
7. Fujino T, Okuno Y, Nakada D et al. On the bacteriological examination of shirasu food poisoning. Med J Osaka Univ. 1953;4(2/3):299-304.
8. Kaneko T, Colwell RR. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. J Bacteriol. 1973;113(1):24-32. <https://doi.org/10.1128/JB.113.1.24-32.1973>

9. Letchumanan V, Chan KG, Lee LH. *Vibrio parahaemolyticus*: a review on the pathogenesis, prevalence, and advanced molecular identification techniques. *Front Microbiol.* 2014;5:705.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00705>
10. Martinez-Urtaza J, Trinanes J, Abanto M, et al. Epidemic dynamics of *Vibrio parahaemolyticus* illness in a hot spot of disease emergence, Galicia, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(5): 852-9.
<https://doi.org/10.3201/eid2405.171700>
11. Nair GB, Ramamurthy T, Bhattacharya SK et al. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 and its serovariants. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(1):39-48.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00025-06>
12. New CY, Übong A, Nur Hasria K, et al. Risk of transmission of *Vibrio parahaemolyticus* in foods. *IFRJ.*2016;23(5):2249-57.
13. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenber PC, Woods GL. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 8th Chapter Curved Gram negative bacilli and oxidase positive fermenters, Seventh edition, s. 432- 471, Wolters Kluwer Health. Philadelphia (2017).
14. Qu M, Deng Y, Zhang X, et al. Etiology of acute diarrhea due to enteropathogenic bacteria in Beijing, China. *J Infect.* 2012;65(3):214-222.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2012.04.010>
15. Terzi-Gulel G, Martinez-Urtaza J. Molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood from Black Sea, Turkey. *Lett Appl Microbiol.* 2016; 62(6):494-500.
<https://doi.org/10.1111/lam.12579>
16. Traore SG, Bonfoh B, Krabi R et al. Risk of *Vibrio* transmission linked to the consumption of crustacean in coastal towns of Coted'Ivoire. *J Food Prot.* 2012;75(6):1004-11.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-472>
17. XU F, Gonzalez-Escalona N, Haendiges J, et al. Sequence Type 631 *Vibrio parahaemolyticus*, an emerging food borne pathogen in North America. *J Clin Microbiol.* 2017;55(2):645-8.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02162-16>
18. Zhang L, Orth K. Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Curr Opin Microbiol.* 2013;16(1):70-7.
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.02.002>