

comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 2b) del programa

CX/FFP 03/2-Add.1

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE PESCADO Y PRODUCTOS PESQUEROS

26ª reunión

Ålesund, Noruega, 13 – 17 de octubre de 2003

ASUNTOS SOMETIDOS A EXAMEN DEL COMITÉ

CUESTIONES PLANTEADAS POR LA FAO Y LA OMS: EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS MICROBIOLÓGICOS DE *VIBRIO* SPP

1. ANTECEDENTES

1. En el 25ª reunión del Comité del Codex sobre Pescado y Productos Pesqueros (CCPPP), la FAO y la OMS informaron al Comité acerca de sus actividades sobre la evaluación de los riesgos de *Vibrio* spp. en los mariscos. Dicha labor se llevó a cabo en respuesta a la petición del Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos. Al examinar dicha cuestión, el CCPPP determinó una serie de cuestiones en relación con las estrategias de gestión de las enfermedades transmitidas por alimentos y producidas por el *V. parahaemolyticus* y el *V. vulnificus*, que podrían contribuir al “Anteproyecto de Norma para los Moluscos Bivalvos Vivos, Congelados Rápidamente y en Conserva”. Dichas cuestiones se plantearon a la FAO y la OMS para que las examinaran en el marco de la labor de evaluación de riesgos, y fueron analizadas por una consulta de expertos sobre evaluación de riesgos de *Vibrio* spp. en los mariscos y de *Campylobacter* spp. en pollos de asar, que se celebró en la Oficina Regional de la FAO para Asia y el Pacífico en Bangkok en agosto de 2002. Posteriormente, fueron examinadas por el grupo de redacción, compuesto por expertos, sobre evaluación de riesgos de *Vibrio* spp. en los mariscos. A continuación se incluye una respuesta a esas cuatro preguntas, basada en la opinión de los expertos participantes en la consulta de expertos que se celebró en Bangkok y en la labor realizada en el marco de la evaluación de riesgos, llevada a cabo por la FAO/OMS, de *Vibrio* spp. en los mariscos.

2. RESPUESTAS A LAS PREGUNTAS FORMULADAS POR EL COMITÉ DEL CODEX SOBRE PESCADO Y PRODUCTOS PESQUEROS

2. **Pregunta nº 1:** ¿Son eficaces las siguientes medidas de control previas a la captura (prueba/seguimiento de los siguientes parámetros y consiguiente cierre del caladero) para controlar el *Vibrio parahaemolyticus* y el *Vibrio vulnificus* en los moluscos bivalvos:
- prueba de la carne de molusco bivalvo en relación con el *Vibrio parahaemolyticus* y el *Vibrio vulnificus*;
 - control de la temperatura del agua en que se desarrollan;
 - control del agua para el *Vibrio parahaemolyticus* y el *Vibrio vulnificus*;
 - control de la salinidad

3. **Respuesta:** La concentración de *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en los mariscos puede medirse directamente o preverse mediante el control de la temperatura y la salinidad. No existe necesariamente una relación directa entre estas variables de sustitución y las concentraciones medidas

de vibriones patógenos en un área determinada debido a la incertidumbre y la variabilidad existente en los modelos actuales. Se mejoraría la capacidad de previsión de los modelos incorporando datos locales y teniendo en cuenta factores adicionales, como los efectos hidrodinámicos y la luz solar. La eficacia de dichas medidas para controlar las enfermedades dependería de la propiciación de una mitigación adecuada (o mitigaciones múltiples), lo cual no se limita al cierre de un caladero.

4. Los modelos actuales no incluyen módulos relacionados con la concentración de estos dos patógenos en el agua de mar y, por consiguiente, no puede estimarse la utilidad de dicha medición. Si se recopilaran los datos adecuados, los modelos podrían ampliarse en consecuencia.

5. **Cuestión 2:** ¿Son eficaces las siguientes tecnologías de tratamiento posteriores a la pesca, por sí solas o combinadas, para reducir o eliminar la presencia de *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en los moluscos bivalvos:

- presión hidrostática
- enfriamiento rápido
- irradiación
- tratamiento térmico suave (pasterización)
- congelación y descongelación
- depuración

6. **Respuesta:** Todas estas técnicas pueden dar lugar a una reducción del número de vibriones patógenos, pero su eficacia dependerá de las condiciones de utilización, y puede ser necesario hallar un equilibrio entre la mayor reducción posible del contenido bacteriano y el mantenimiento de la aceptación por el consumidor, ya sea del producto, ya sea del proceso. Se ha realizado una evaluación cualitativa de las tecnologías susceptibles de reducir la contaminación de las ostras por vibriones (cuadro 1). También se ha efectuado un estudio especializado para intentar determinar la eficacia de dichas mitigaciones en términos más cuantitativos. Asimismo, se están examinando y evaluando algunas de estas mitigaciones en la evaluación de riesgos de la FAO/OMS sobre *Vibrio* spp. en los mariscos, que estará disponible en 2004.

Cuadro 1: Eficacia comparativa de una serie de estrategias de mitigación para reducir los *Vibrio* spp.

<i>Mitigación</i>	<i>Eficacia comparativa en la reducción de los Vibrio spp.</i>
Presión hidrostática	+++
Enfriamiento rápido	+ / +++
Irradiación	+++
Pasterización	+++
Congelación y descongelación	++
Depuración	+ / -
Reinstalación en un medio de salinidad elevada	++
Tratamiento comercial por calor	+++
-	ningún efecto
+	cierta reducción
++	reducción moderada
+++	reducción significativa

7. **Regulación de la mitigación:** En los últimos años, dos países por lo menos, el Japón y los Estados Unidos de América, han establecido una reglamentación para reducir los efectos de los vibriones en los mariscos. En el Japón, la normativa impide eficazmente la pesca de ostras en los meses cálidos mediante la estipulación de un límite de 100 NMP/g de *V. parahaemolyticus* en los mariscos destinados al consumo crudo. En los Estados Unidos de América, la matriz tiempo/temperatura para el *V. vulnificus* del Programa nacional de higiene de los mariscos exige a los pescadores de ostras de cualquier Estado en el que se hayan producido dos o más casos confirmados de *V. vulnificus* que refrigeren la ostras en un plazo de 10 horas después de su captura en los meses de verano, dependiendo de la temperatura del agua. El efecto neto de dicha norma es una división por 10 de la concentración de

V. parahaemolyticus, respecto de la concentración existente si dicha refrigeración se efectúa 20 horas después de la pesca.

8. Con respecto al *V. parahaemolyticus*, la Conferencia interestatal sobre la higiene de los mariscos (ISSC) en los Estados Unidos de América ha aplicado un plan provisional de control, basado en un control del lugar y el momento en que se producen los casos; la detección del *V. parahaemolyticus* patógeno (tdh+) en ostras acarrea el cese de las capturas hasta que se deja de detectar el patógeno en los controles.

9. Paralelamente a las normas destinadas a impedir el desarrollo de vibriones o la captura cuando los niveles son elevados, existen numerosas intervenciones que permiten reducir la concentración de vibriones en las ostras. Casi todas las operaciones de mitigación se han realizado en los Estados Unidos de América sobre la base de la creciente preocupación suscitada por el *V. vulnificus*, en particular. La industria de los mariscos, a través de la ISSC, ha buscado métodos de minimizar las enfermedades causadas por los vibriones, entre las que cabe destacar la educación de las poblaciones de riesgo, la limitación de la pesca de ostras en determinados períodos del año, la minimización del intervalo de tiempo entre la captura y la refrigeración del marisco y el tratamiento posterior a la captura del mismo.

10. Las prácticas pesqueras y las intervenciones posteriores a la captura examinadas en el presente documento incluyen:

- el enfriamiento rápido
- el tratamiento con presión hidrostática elevada
- la irradiación
- la pasterización por choque térmico (agua caliente/frío)
- la congelación
- la reinstalación en condiciones de salinidad elevada
- la depuración

11. La norma establecida por la ISSC para un tratamiento eficaz posterior a la captura impone una reducción del número de vibriones en 5-log, siendo el resultado final un nivel no detectable (<3 NMP/g para el *V. vulnificus* y <10 UFC/g para el *V. parahaemolyticus*). En los Estados Unidos de América, las industrias que aplican este tratamiento a los mariscos están autorizadas para utilizar un etiquetado sobre el producto que indique su inocuidad.

12. **Enfriamiento rápido:** Los vibriones se desarrollan en la carne y el jugo de algunas ostras. En la ostra *C. virginica*, la densidad del *V. vulnificus* y del *V. parahaemolyticus* se multiplica por entre 10 y 100 en 10 horas a la temperatura ambiente normal en la costa del Golfo de los Estados Unidos entre los meses de abril y octubre. Por este motivo, se ha establecido el enfriamiento rápido como punto de control para impedir la multiplicación y como directriz reglamentaria (ordenanza modelo de la ISSC) con el fin de que, cuando la temperatura de las aguas de pesca exceda de 28° C, sea obligatorio someter a refrigeración (10°C) en un plazo de 10 horas desde la captura, las ostras pescadas en las aguas de aquellos Estados en que se haya confirmado la presencia de dos o más enfermedades transmitidas por el *V. vulnificus*, (DHSS, 1999).

13. No todas las ostras constituyen un medio favorable para el desarrollo de vibriones tras la captura. Por ejemplo, la ostra de Sydney (*Crassostrea commercialis*) tiene una vida comercial de unas semanas a temperatura ambiente (15-20°C), lo que implica que, en dicho caso, el número de bacterias no aumenta significativamente.

14. Las temperaturas de refrigeración no sólo impiden el desarrollo, sino que también tienen un efecto vibriocida, y al enfriarse las ostras durante un período de 14 días se logra una reducción de 0,8 log (Gooch *et al.* 2002).

15. El efecto del enfriamiento rápido también se examina en la evaluación de los riesgos de *V. vulnificus*, realizada por la FAO/OMS, que se publicará a principios de 2004. Un resumen de dicho trabajo está disponible actualmente en el informe de la consulta de expertos de la FAO/OMS, celebrada en agosto de 2002, sobre la evaluación de riesgos de *Campylobacter* spp. en los pollos de asar y *Vibrio*

spp. en los mariscos que se puede consultar en las páginas web de la FAO y la OMS (ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/cv_02e.pdf y http://www.who.int/fsf/Documents/Bangkok_Campy_02_En.pdf).

16. **Presión hidrostática:** Se está utilizando el tratamiento de alta presión (HPP), conocido también como presión ultra alta (UHP), para reducir la concentración de vibriones en las ostras a niveles no detectables (Cuadro 2). Se dispone actualmente de equipo para procesar volúmenes relativamente amplios (150L) de producto. Se ha demostrado que la aplicación de una presión de 200-300mPa a ostras durante hasta 300s origina una reducción de 3,5-6 log del número de vibriones sin causar por ello la menor disminución de la calidad sensorial (Berlin *et al.*, 1999; Calik *et al.*, 2002; Cook, en imprenta).

Cuadro 2: Efecto de la duración y la presión del tratamiento sobre los vibriones en ostras contaminadas de forma natural

	Presión/duración (mPa/s)	Reducción (log)	Referencia
<i>V. vulnificus</i>	241/120	>4,8	Cook (en imprenta)
	200/600	6	Berlin <i>et al.</i> (1999)
<i>V. parahaemolyticus</i>	275/180	3,5	Cook (en imprenta)
	300/120	4	
	345/30	6	Calik <i>et al.</i> (2002)

17. El tratamiento de alta presión se ha convertido en un proceso comercial de descontaminación para las ostras en los Estados Unidos de América y Australia. Por lo que respecta a las ostras del Golfo de México, la combinación de presión y duración se utiliza para lograr una reducción de 5-log del *V. vulnificus* mientras que, en Australia, se utilizan presiones de 265mPa/45s para desbollar las ostras y de 265mPa/180s para ampliar su vida comercial. No se han realizado estudios sobre la reducción del nivel de contaminación de las ostras por vibriones en Australia, pero se considera que la combinación de presión y duración permite reducir los vibriones en 5-log.

18. **Irradiación:** Se ha demostrado que una dosis de 3kGy elimina el *V. cholerae* en los camarones congelados (Rashid *et al.* 1992; Ito *et al.* 1993). Más recientemente, Jakabi *et al.* (2003) han confirmado que la dosis de 3kGy permite una reducción de la *Salmonella* Enteritidis y *V. parahaemolyticus* de 5 a 6-log en las ostras sin desbollar. Aparentemente, el tratamiento no acarrió una pérdida de calidad sensorial y las ostras permanecieron vivas.

19. **Pasterización por choque térmico (agua caliente/frío):** La pasterización por baja temperatura ha resultado ser eficaz para eliminar los vibriones en la carne de ostra (Cook and Ruple, 1992) así como en las ostras sin desbollar, y se ha obtenido una reducción en 5 log de *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* en ostras vivas sin desbollar del Golfo de México tratándolas a 50°C durante 10 a 15 minutos (Andrews *et al.*, 2000). Dichos autores también han demostrado que los vibriones se extinguían progresivamente conservando las ostras en hielo, aunque probablemente el proceso era más largo que el habitual en la cadena comercial. Por lo que respecta a la calidad sensorial, no hay diferencia entre las ostras pasterizadas y crudas.

20. Más recientemente, Andrews *et al.* (2003) han estudiado el efecto de dicha técnica sobre el *V. parahaemolyticus* O3:K6, cepa patógena con mayor resistencia al calor. Los investigadores han descubierto que, mediante un calentamiento a 50-52°C durante 6 minutos, se reducía el nivel de contaminación de 4 log a niveles no detectables (<3 NMP/g). Cuando el patógeno estaba presente en concentraciones de 5-6 log, era necesario un tiempo de calentamiento de 22 minutos para alcanzar niveles no detectables. Los autores observan que, si bien aún no se ha aislado la cepa O3:K6 de las aguas de los Estados Unidos de América, ésta estuvo relacionada, no obstante, con el brote de 1998 causado por el consumo de ostras procedentes de la Bahía de Galveston en los Estados Unidos.

21. Hesselman *et al.* (1999) han descrito una técnica para ayudar a desbollar las ostras mediante su inmersión en tanques de agua a 67°C durante unos 5 minutos y su posterior rociado con agua fría. Si dicha técnica se combina con procedimientos de la cadena de comercialización, como el enfriamiento, el

envasado y el almacenamiento en frío, se reduce el *V. vulnificus* en 2-4 log, dependiendo del nivel original de contaminación, pero ello no es suficiente para alcanzar niveles no detectables (<3 NMP/g).

22. Esta técnica también ha resultado eficaz en otros bivalvos. Los berberechos (*Anadara granosa*) calentados en agua a 99°C alcanzaron una temperatura interna de 42-58°C después de 10 segundos y de 56-69°C después de 30 segundos, lográndose en este último caso una reducción de 5-log de los *V. Cholerae* inoculados en los berberechos (Liewe *et al.* 1998). Nótese que en Tailandia, el *A. granosa* también se conoce como almeja roja y en la evaluación de riesgos realizada por la FAO/OMS sobre los *Vibrio* spp. en los mariscos se incluye información sobre una evaluación de riesgos del *V. parahaemolyticus* en las almejas rojas.

23. **Congelación y descongelación:** Es bien sabido que los vibriones, en general, no sobreviven fácilmente a temperaturas inferiores a las que permiten su desarrollo cuando se someten a temperaturas de refrigeración, experimentan un choque térmico, mientras que las temperaturas de congelación constituyen un segundo elemento de inactivación. Muntada-Garriga *et al.* (1995) estudiaron la inactivación del *V. parahaemolyticus* en la carne de ostra a distintas temperaturas de conservación comercial en frío y observaron una extinción progresiva de las bacterias con el tiempo, que fue más rápida en el congelador que en el refrigerador. Dicho estudio es muy útil para la carne de ostra congelada almacenada durante unos meses y es improbable que a temperaturas de refrigeración durante los períodos normales de comercialización (inferior a dos semanas) se reduzca la concentración del organismo en cuestión hasta niveles no detectables en las ostras sin desbullar.

24. La congelación y la conservación en congelador durante 70 días también redujeron la concentración de *V. vulnificus* en la carne de ostra en 3-4 log, sobreviniendo más rápidamente la muerte del organismo en el vacío que en condiciones de envasado convencional (Parker *et al.*, 1994). Cook y Ruple (1992) estudiaron la supervivencia del *V. parahaemolyticus* en las ostras a -20°C; se produjo una reducción de 2-log al cabo de 30 días, siendo similar la respuesta de las cepas patógenas y no patógenas a la conservación en congelador. El efecto de la congelación y descongelación también se examina en la evaluación de los riesgos de *V. vulnificus* en las ostras realizada por la FAO/OMS.

25. **Reinstalación en condiciones de salinidad elevada:** En Australia, Son y Fleet (1980) demostraron la eficacia de reinstalar, en aguas de elevada salinidad, ostras (*C. commercialis*) situadas en estuarios. En los Estados Unidos, Kaspar y Tamplin (1993) demostraron que, cuando la salinidad disminuía por debajo de 25ppt, la concentración de *V. vulnificus* aumentaba en las aguas de mar, mientras que, en condiciones de salinidad elevada (30-38ppt), dicha cantidad disminuía en 1-2 log. El efecto de la reinstalación de ostras en condiciones de salinidad elevada también ha sido probado por Motes y DePaola (1996): dichos autores demostraron que la reinstalación de *C. virginica* situadas en aguas de baja salinidad, en condiciones de salinidad más elevada (30-34ppt) durante 1-2 semanas, permitía una reducción de 3-4 log. La reinstalación como medida de mitigación también se examina en la evaluación de riesgos realizada por la FAO/OMS sobre el *V. parahaemolyticus* y el *V. vulnificus* en las ostras.

26. **Depuración:** La depuración es un proceso que permite a los mariscos eliminar microorganismos ingeridos como alimentos, mediante un proceso de “lavado” del aparato alimentario y digestivo del molusco con agua no contaminada. Los vibriones forman parte de la microbiota natural de los mariscos y suelen estar presentes en las vísceras, las células sanguíneas y los tejidos del manto de las ostras (Olafsen *et al.*, 1993). Por consiguiente, la depuración es relativamente ineficaz para eliminar los *Vibrio* spp. en los moluscos bivalvos (Tamplin y Capers, 1992).

27. La depuración ha resultado ineficaz para reducir el *V. parahaemolyticus* y el *V. vulnificus* en las ostras de Sydney contaminadas de forma natural (Eyles y Davey, 1984). Desmarchelier (1997) cita informes en los que se muestra que la depuración es ineficaz contra el *V. cholerae*, el *V. parahaemolyticus* y el *V. vulnificus*. Jackson y Ogburn (1996) realizaron un estudio detallado de la cuestión, en el que apoyaban las conclusiones generales mencionadas. Dichos autores también informan de que varios estudios revelan un incremento del número de vibriones en los mariscos durante la depuración. Dicho proceso se examina en las evaluaciones de riesgos, realizadas por la FAO/OMS, sobre el *V. parahaemolyticus* y el *V. vulnificus* en las ostras.

28. **Resumen de la eficacia de las tecnologías de inactivación:** En el cuadro 3 se presenta un resumen del grado de inactivación de los vibriones en las ostras que deberían originar las intervenciones descritas anteriormente.

Cuadro 3: Inactivación de vibriones en ostras gracias a tecnologías de intervención

<i>Inactivación</i>	<i>Reducción (log)</i>	<i>Observaciones</i>
Tratamiento por alta presión	4-5	reducción de 4-log lograda para la cepa O3:K6
Irradiación	>5	
Pasterización por choque térmico (agua caliente/frío)	5	
Congelación	3-4	
Reinstalación en condiciones de salinidad elevada	3-4	
Depuración	ninguna/incierta	

29. **Conclusiones:** Del estudio citado se desprende que existen varias prácticas e intervenciones comerciales para mitigar el riesgo de infecciones transmitidas por vibriones a raíz del consumo de ostras crudas. En primer lugar, la práctica del enfriamiento de las ostras inmediatamente después de su captura impide un incremento de 1-2 log en las especies que constituyen un medio favorable para el desarrollo de bacterias, v.gr. *C. virginica*. En segundo lugar, las intervenciones tales como el tratamiento de alta presión o la pasterización a baja temperatura permiten una reducción de 5 log. La reinstalación y la congelación también permiten una inactivación considerable de los vibriones contaminantes. Por último, la conservación en condiciones de refrigeración en la cadena de comercialización-servicio alimentario-consumo puede permitir una reducción adicional próxima a 1 log.

30. El efecto neto es la existencia de prácticas e intervenciones, cuya combinación permite eliminar eficazmente el riesgo de infecciones por vibriones en consumidores vulnerables, transmitidas por ostras capturadas, incluso en meses cálidos, en aguas caracterizadas por la presencia natural de vibriones patógenos. De ello se desprende que los pescadores y elaboradores deberían incluir dichas prácticas e intervenciones en los planes de inocuidad de los alimentos. Para las etapas que constituyan Puntos Críticos de Control (PCC), es necesario validar primero su eficacia, y verificar posteriormente la aplicación de los PCC durante el proceso.

31. **Pregunta 3:** En relación con el *Vibrio parahaemolyticus*, ¿las enfermedades transmitidas por los alimentos están causadas por la toxina resistente al calor producida por el patógeno o por el patógeno en sí?

32. **Respuesta:** La enfermedad es producida por la toxina pero sólo si ésta es generada en el intestino a raíz de su colonización por una cepa productora de hemolisina directa termoestable (TDH), hemolisina relacionada con la hemolisina directa termoestable (TRH) o ambas toxinas.

33. **Pregunta 4:** ¿De qué métodos se dispone para analizar el gen de la toxina *V. parahaemolyticus* (*tdh*)?

34. **Respuesta:** Tanto el gen *tdh* como *trh* pueden detectarse utilizando la RCP con iniciadores adecuados y mediante métodos de hibridación-filtración basados en membranas con oligonucleótidos no isotópicos o sondas generadas mediante RCP. A efectos de cuantificación, pueden aplicarse métodos de RCP en un formato NMP, mientras que la filtración-hibridación con membrana puede utilizarse directamente para el recuento bacteriano. La RCP y los procedimientos de hibridación de colonias también se pueden aplicar al gen de la hemolisina termolabil (*tlh*) para la determinación de especies de *V. parahaemolyticus*. Al igual que con los métodos convencionales, existen posibilidades de estandarizar y/o determinar la eficacia relativa de los métodos actuales.

35. Referencias

- Andrews, L., Park, D. & Chen, Y-P. 2000. Low temperature pasteurisation to reduce the risk of *Vibrio* infections from raw shell-stock oysters. *Food Additives and Contaminants* 19: 787-791.
- Andrews, L., DeBlanc, S., Veal, C. & Park, D. 2000. Response of *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 to a hot water/cold shock pasteurization process. *Food Additives and Contaminants* 20: 331-334.
- Berlin, D. L., Herson, D. S., Hicks, D. T. & Hoover, D. G. 1999. Response of pathogenic *Vibrio* species to high hydrostatic pressure. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2776-2780.
- Calik, H., Morrissey, M. T., Reno, P. W. & An, H. 2002. Effect of high-pressure processing on *Vibrio parahaemolyticus* strains in pure culture and Pacific oysters. *J. Food Sci.* 67: 1506-1510.
- Cook, D.W. Sensitivity of *Vibrio* species in phosphate-buffered saline and in oysters to high hydrostatic pressure treatment (submitted to *J. Food Science*).
- Cook, D. W. & Ruple, A. D. 1992. Cold-storage and mild heat-treatment as processing aids to reduce the numbers of *Vibrio vulnificus* in raw oysters. *J. Food Prot.* 55: 985-989.
- Department of Health and Human Services (US). Public Health Services. FDA. 1999. National Shellfish Sanitation Program Guide for the Control of Molluscan Shellfish. U.S. Department of Health and Human Services, Washington, DC.
- Desmarchelier, P.M. 1997. Pathogenic Vibrios. pp 285 -312 in A.D. Hocking, G. Arnold, I. Jenson, K. Newton and P. Sutherland (Eds). *Foodborne Microorganisms of Public Health Significance* 5th Edition. Australian Institute of Food Science and Technology Inc., North Sydney.
- Eyles, M. & Davey, G. 1984. Microbiology of commercial depuration of the Sydney Rock Oyster, *Crassostrea commercialis*. *J. Food Prot.* 47: 703-706.
- Gooch, J. A., DePaola, A., Bowers, J. & Marshall, D. L. 2002. Growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus* in postharvest American oysters. *J. Food Prot.* 65: 970-974.
- Hesselman, D., Motes, M. & Lewis, J. 1999. Effects of a commercial heat-shock process on *Vibrio vulnificus* in the American oyster, *Crassostrea virginica*, harvested from the Gulf coast. *J. Food Prot.* 62: 1266-1269.
- Ito, H., Rashid, H. O., Sangthong, N., Adulyatham, P., Rattagool, P. & Ishigaki, I. 1993. Effect of gamma-irradiation on frozen shrimps for decontamination of pathogenic bacteria. *Radiat. Phys. Chem.* 42: 279-282.
- Jackson, K.L. & Ogburn, D.M. 1996. Review of depuration and its role in shellfish quality assurance. NSW Fisheries Reports Series, (96/355). 78 pp.
- Jakabi, M., Gelli, D., Torre, J. *et al.* 2003. Inactivation by ionising radiation of *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Infantis* and *Vibrio parahaemolyticus* in oysters (*Crassostrea brasiliana*). *J. Food Prot.* 66: 1025-1029.
- Kaspar, C. & Tamplin, M. 1993. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 2425-2429.
- Liewe, W., Leisner, J., Rusul, G. *et al.* 1998. Survival of *Vibrio* spp including inoculated *V. cholerae* O139 during heat-treatment of cockles (*Anadara granosa*) *Int. J. Food Microbiol.* 42: 167-173.
- Motes, M. L. & DePaola, A. 1996. Offshore suspension relaying to reduce levels of *Vibrio vulnificus* in oysters (*Crassostrea virginica*). *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 3875-3877.
- Muntada-Garriga, J., Rodrigues-Jerez, J., Lopes-Sabater, E. & Mora-Ventura, M. 1995. Effect of chill and freezing temperatures on survival of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenates of oyster meat. *Lett. appl. Microbiol.* 20:225-227.
- Olafsen, J.A., Mikkelsen, H.W., Glaever, H.M. & Hansen, G.H. 1993. Indigenous bacteria in hemolymph and tissues of marine bivalves at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 1848 - 1854.
- Parker, R., Maurer, E., Childers, A. & Lewis, D. 1994. Effect of frozen storage and vacuum-packaging on survival of *Vibrio vulnificus* in Gulf coast oysters (*Crassostrea virginica*). *J. Food Prot.* 57: 604-606.
- Rashid, H., Ito, H, Ishigaki, I. 1992. Distribution of pathogenic vibrios and other bacteria in imported frozen shrimp and their decontamination by gamma radiation. *World J. Microbiol. Biotech.* 8: 494-499.
- Tamplin, M. & G. Capers. 1992. Persistence of *Vibrio vulnificus* in tissues of Gulf Coast oysters, *Crassostrea virginica*, exposed to seawater disinfected with UV light. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 1506-1510.

3. FURTHER READING SURVIVAL OF VIBRIOS

Inactivation/Survival-non-specific

- Chaiyanan, S., Huq, A., Mangel, T. & Colwell, R. R. 2001. Viability of the nonculturable *Vibrio cholerae* O1 and O139. *Syst. Appl. Microbiol.* 24, 331-341.

- Munro, P. M., Brahic, G. & Clement, R. L., 1994. Seawater effects on various *Vibrio* species. *Microbios*. 77, 191-198.
- Munro, P. M. & Colwell, R. R., 1996. Fate of *Vibrio cholerae* O1 in seawater microcosms. *Water Res.* 30, 47-50.
- Odugbo, M. O., Onuorah, S. I. & Adesiyun, A. A. 1990. Survival and multiplication of *Vibrio cholerae* serotype Ogawa in reconstituted infant milk. *J. Food Prot.* 53, 1071-1072.
- Sato, M. I. Z., Sanchez, P. S., Rivera, I. G. & Martins, M. T. 1995. Survival of culturable *Vibrio cholerae* O1 and non O1 in seawater, fresh-water and wastewater and effect of the water environment on enterotoxin production. *Rev. Microbiol.* 26, 83-89.
- Siddique, A. K., Baqui, A. H., Eusof, A., Haider, K., Hossain, M. A., Bashir, I. & Zaman, K. 1991. Survival of classic cholera in Bangladesh. *Lancet.* 337, 1125-1127.
- Wu, Y. C., Kimura, B. & Fujii, T. 1999. Fate of selected food-borne pathogens during the fermentation of squid shiokara. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 40, 206-210.
- Yildiz, F. H. & Schoolnik, G. K., 1998. Role of rpoS in stress survival and virulence of *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 180, 773-784.

Heat

- Torres-Vitela, M. R., Castillo, A., Ibarra-Velazquez, L. M., Navarro-Hidalgo, V., Rodriguez-Garcia, M. O., Martinez-Gonzales, N. E. & Perez-Montano, J. A. 2000. Survival of *Vibrio cholerae* O1 in ceviche and its reduction by heat pretreatment of raw ingredients. *J. Food Prot.* 63, 445-450.

Temperature

- Corrales, M. T., Bainotti, A. E. & Simonetta, A. C. 1994. Survival of *Vibrio cholerae* O1 in common foodstuffs during storage at different temperatures. *Lett. Appl. Microbiol.* 18, 277-280.
- Wong, H. C., Chen, L. L. & Yu, C. M. 1995. Occurrence of vibrios in frozen seafoods and survival of psychrotrophic *Vibrio cholerae* in broth and shrimp homogenate at low temperatures. *J. Food Prot.* 58, 263-267.

Antimicrobials

- Chythanya, R. & Karunasagar, I. 2002. Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by a marine *Pseudomonas* I-2 strain. *Aquaculture.* 208, 1-10.
- Nayak, B. B. & Karunasagar, I. 2000. The survival of different vibrios in association with a laboratory culture of the red-tide-causing organism *Amphidinium carterae*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16, 99-101.
- Sousa, O. V., Vieira, R., Patel, T. R., Hofer, E. & Mesquita, V. P. 2001. Effects of chlorine on cells of *Vibrio cholerae*. *Food Microbiol.* 18, 355-359.

Combinations

- McCarthy, S. A. 1996. Effects of temperature and salinity on survival of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 in seawater. *Microb. Ecol.* 31, 167-175.
- Nascimento, D. R., Vieira, R., Almeida, H. B., Patel, T. R. & Iaria, S. T. 1998. Survival of *Vibrio cholerae* O1 strains in shrimp subjected to freezing and boiling. *J. Food Prot.* 61, 1317-1320.

VIBRIO VULNIFICUS REFERENCES

Pressure

- Berlin, D. L., Herson, D. S., Hicks, D. T. & Hoover, D. G. 1999. Response of pathogenic *Vibrio* species to high hydrostatic pressure. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2776-2780.

Irradiation

- Ito, H., Rashid, H. O., Sangthong, N., Adulyatham, P., Rattagool, P. & Ishigaki, I. 1993. Effect of gamma-irradiation on frozen shrimps for decontamination of pathogenic bacteria. *Radiat. Phys. Chem.* 42, 279-282.
- Pitonzo, B. J., Amy, P. S. & Rudin, M. 1999a. Effect of gamma radiation on native endolithic microorganisms from a radioactive waste deposit site. *Radiat. Res.* 152, 64-70.
- Pitonzo, B. J., Amy, P. S. & Rudin, M. 1999b. Resuscitation of microorganisms after gamma irradiation. *Radiat. Res.* 152, 71-75.

Pasteurisation

Andrews, L. S., Park, D. L. & Chen, Y. P. 2000. Low temperature pasteurization to reduce the risk of vibrio infections from raw shell-stock oysters. *Food Addit. Contam.* 17, 787-791.

Freeze/Thaw

Bang, W. & Drake, M. A. 2002. Resistance of cold- and starvation-stressed *Vibrio vulnificus* to heat and freeze-thaw exposure. *J. Food Prot.* 65, 975-980.

Heat

Ama, A. A., Hamdy, M. K. & Toledo, R. T. 1994. Effects of heating, pH and thermoradiation on inactivation of *Vibrio vulnificus*. *Food Microbiol.* 11, 215-227.

Amaro, C., Hor, L. I., Marco-Noales, E., Bosque, T., Fouz, B. & Alcaide, E. 1999. Isolation of *Vibrio vulnificus* serovar E from aquatic habitats in Taiwan. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1352-1355.

Hesselman, D. M., Motes, M. L. & Lewis, J. P. 1999. Effects of a commercial heat-shock process on *Vibrio vulnificus* in the American oyster, *Crassostrea virginica*, harvested from the Gulf Coast. *J. Food Prot.* 62, 1266-1269.

Kim, C. M., Jeong, K. C., Rhee, J. H. & Choi, S. H. 1997. Thermal-death times of opaque and translucent morphotypes of *Vibrio vulnificus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3308-3310.

Temperature

Bryan, P. J., Steffan, R. J., DePaola, A., Foster, J. W. & Bej, A. K. 1999. Adaptive response to cold temperatures in *Vibrio vulnificus*. *Curr. Microbiol.* 38, 168-175.

Cook, D. W. 1994. Effect of time and temperature on multiplication of *Vibrio vulnificus* in postharvest Gulf-Coast shellstock oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 3483-3484.

Cook, D. W. & Ruple, A. D. 1992. Cold-storage and mild heat treatment as processing aids to reduce the numbers of *Vibrio vulnificus* in Raw Oysters. *J. Food Prot.* 55, 985-989.

Birkenhauer, J. M. & Oliver, J. D. 2003. Use of diacetyl to reduce the load of *Vibrio vulnificus* in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *J. Food Prot.* 66, 38-43.

Johnston, M. D. & Brown, M. H. 2002. An investigation into the changed physiological state of *Vibrio* bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing. *J. Appl. Microbiol.* 92, 1066-1077.

Murphy, S. K. & Oliver, J. D. 1992. Effects of temperature abuse on survival of *Vibrio vulnificus* in oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2771-2775.

pH

Koo, J., DePaola, A. & Marshall, D. L. 2000a. Effect of simulated gastric fluid and bile on survival of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio vulnificus* phage. *J. Food Prot.* 63, 1665-1669.

Koo, J., DePaola, A. & Marshall, D. L. 2000b. Impact of acid on survival of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio vulnificus* phage. *J. Food Prot.* 63, 1049-1052.

Koo, J., Marshall, D. L. & DePaola, A. 2001. Antacid increases survival of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio vulnificus* phage in a gastrointestinal model. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2895-2902.

Atmosphere

Parker, R. W., Maurer, E. M., Childers, A. B. & Lewis, D. H. 1994. Effect of frozen storage and vacuum-packaging on survival of *Vibrio vulnificus* in Gulf-Coast oysters (*Crassostrea virginica*). *J. Food Prot.* 57, 604-606.

Antimicrobials

Sugita, H., Okano, R., Suzuki, Y., Iwai, S., Mizukami, M., Akiyama, N. & Matsuura, S. 2002. Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larval and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. *Fish. Sci.* 68, 1004-1011.

Sun, Y. & Oliver, J. D. 1994a. Antimicrobial action of Some GRAS compounds against *Vibrio vulnificus*. *Food Addit. Contam.* 11, 549-558.

Sun, Y. & Oliver, J. D. 1994b. Effects of GRAS compounds on natural *Vibrio vulnificus* populations in oysters. *J. Food Prot.* 57, 921-923.

Sun, Y. & Oliver, J. D. 1995a. Hot sauce - no elimination of *Vibrio vulnificus* in oysters. *J. Food Prot.* 58, 441-442.

Tang, H. J., Chang, M. C., Ko, W. C., Huang, K. Y., Lee, C. L. & Chuang, Y. C. 2002. In vitro and in vivo activities of newer fluoroquinolones against *Vibrio vulnificus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 3580-3584.

Combinations

- Armada, S. P., Farto, R., Perez, M. J. & Nieto, T. P. 2003. Effect of temperature, salinity and nutrient content on the survival responses of *Vibrio splendidus* biotype I. *Microbiology.* 149, 369-375.
- Cook, D. W. 1997. Refrigeration of oyster shellstock: conditions which minimize the outgrowth of *Vibrio vulnificus*. *J. Food Prot.* 60, 349-352.
- Hijarrubia, M. J., Lazaro, B., Sunen, E. & FernandezAstorga, A. 1996. Survival of *Vibrio vulnificus* under pH, salinity and temperature combined stress. *Food Microbiol.* 13, 193-199.
- Kaspar, C. W. & Tamplin, M. L. 1993. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 2425-2429.
- Marco-Noales, E., Biosca, E. G. & Amaro, C. 1999. Effects of salinity and temperature on long-term survival of the eel pathogen *Vibrio vulnificus* biotype 2 (serovar E). *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1117-1126.

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS REFERENCES

Inactivation/Survival-non-specific

- Aryanta, R. W., Fleet, G. H. & Buckle, K. A. 1991. The occurrence and growth of microorganisms during the fermentation of fish sausage. *Int. J. Food Microbiol.* 13, 143-155.
- Chao, W. L. & Tai, C. L. 1990. Influence of cations and anions on the survival of *Vibrio parahaemolyticus* in freshwater. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 36, 445-450.
- Ingham, S. C. & Potter, N. N. 1988a. Survival and growth of *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Staphylococcus aureus* on cooked mince and surimis made from Atlantic Pollock. *J. Food Prot.* 51, 829-829.
- Ingham, S. C. & Potter, N. N. 1988b. Survival and growth of *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Staphylococcus aureus* on cooked mince and surimis made from Atlantic Pollock. *J. Food Prot.* 51, 634-638.
- Karunasagar, I., Venugopal, M. N. & Nagesha, C. N. 1987. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in estuarine and seawater and in association with clams. *Syst. Appl. Microbiol.* 9, 316-319.
- Karunasagar, I., Venugopal, M. N. & Segar, K. 1986c. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in cold smoked fish. *Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology.* 52, 145-152.
- Kumazawa, N. H., Iwao, K. & Kato, E. 1991. Survivals of *Vibrio parahaemolyticus* and *Escherichia coli* in a gastropod mollusk, *Heminerita japonica*. *J. Vet. Med. Sci.* 53, 69-71.
- Kumazawa, N. H., Kato, E., Takaba, T. & Yokota, T. 1988. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in 2 gastropod mollusks, *Clithon retropictus* and *Nerita albicilla*. *Japan. J. Vet. Sci.* 50, 918-924.
- Wong, H. C., Chung, Y. C. & Yu, J. A. 2002. Attachment and inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* on stainless steel and glass surface. *Food Microbiol.* 19, 341-350.
- Wu, Y. C., Kimura, B. & Fujii, T. 1999. Fate of selected food-borne pathogens during the fermentation of squid shiokara. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 40, 206-210.

Growth

- Gooch, J. A., DePaola, A., Bowers, J. & Marshall, D. L. 2002. Growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus* in postharvest American oysters. *J. Food Prot.* 65, 970-974.
- Lin, J. F., 1988. Effect of pH, NaCl, temperature and time of incubation on the probability of *Vibrio parahaemolyticus* growth initiation in a model broth. *Acta Vet. Scand.* 283-286.
- Miles, D. W., Ross, T., Olley, J. & McMeekin, T. A. 1997. Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *Int. J. Food Microbiol.* 38, 133-142.
- Pace, J. & Chai, T. J. 1989. Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* grown in estuarine water and rich medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1877-1887.

Pressure

- Berlin, D. L., Herson, D. S., Hicks, D. T. & Hoover, D. G. 1999. Response of pathogenic *Vibrio* species to high hydrostatic pressure. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2776-2780.

- Calik, H., Morrissey, M. T., Reno, P. W. & An, H. 2002. Effect of high-pressure processing on *Vibrio parahaemolyticus* strains in pure culture and Pacific oysters. *J. Food Sci.* 67, 1506-1510.
- Fujii, T., Satomi, M., Nakatsuka, G. & Yamaguchi, T. 1995. Effect of media on the detection rate of pressure-injured bacteria. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 36, 17-21.
- He, H., Adams, R. M., Farkas, D. & Morrissey, M. T. 2002. Use of high-pressure processing for oyster shucking and shelf- life extension. *J. Food Sci.* 67, 640-645.
- Satomi, M., Yamaguchi, T., Okuzumi, M. & Fujii, T. 1995. Effect of several conditions on the recovery of pressure-injured bacteria. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 36, 344-351.
- Styles, M. F., Hoover, D. G. & Farkas, D. F. 1991. Response of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* to high hydrostatic pressure. *J. Food Sci.* 56, 1404-1407.

Electric Current

- Park, J. C., Lee, M. S., Lee, D. H., Park, B. J., Han, D. W., Uzawa, M. & Takatori, K. 2003. Inactivation of bacteria in seawater by low-amperage electric current. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 2405-2408.

Chilling

- Muntadagarriga, J. M., Rodriguezjerez, J. J., Lopezsabater, E. I. & Moraventura, M. T. 1995. Effect of chill and freezing temperatures on survival of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenates of oyster meat. *Lett. Appl. Microbiol.* 20, 225-227.

Irradiation

- Ahmed, I. O., Alur, M. D., Kamat, A. S., Bandekar, J. R. & Thomas, P. 1997. Influence of processing on the extension of shelf-life of Nagli-fish (*Sillago sihama*) by gamma radiation. *Int. J. Food Sci. Technol.* 32, 325-332.
- Bandekar, J. R., Chander, R. & Nerkar, D. P. 1987. Radiation Control of *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp. *J. Food Safety.* 8, 83-88.
- Bandekar, J. R., Nene, S. P. & Nerkar, D. P. 1988. Effect of ionizing radiation on macrophage stimulating property of *Vibrio parahaemolyticus* lipopolysaccharide. *Indian J. Exp. Biol.* 26, 661-664.
- Dion, P., Charbonneau, R. & Thibault, C. 1994. Effect of ionizing dose-rate on the radioresistance of some food pathogenic bacteria. *Can. J. Microbiol.* 40, 369-374.
- Ito, H., Rashid, H. O., Sangthong, N., Adulyatham, P., Rattagool, P. & Ishigaki, I. 1993. Effect of gamma irradiation on frozen shrimps for decontamination of pathogenic bacteria. *Radiat. Phys. Chem.* 42, 279-282.
- Rashid, H. O., Ito, H. & Ishigaki, I. 1992. Distribution of pathogenic vibrios and other bacteria in imported frozen shrimps and their decontamination by gamma- irradiation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 8, 494-499.

Pasteurisation

- Andrews, L. S., DeBlanc, S., Veal, C. D. & Park, D. L. 2003. Response of *Vibrio parahaemolyticus* 03 : K6 to a hot water/cold shock pasteurization process. *Food Addit. Contam.* 20, 331-334.
- Andrews, L. S., Park, D. L. & Chen, Y. P. 2000. Low temperature pasteurization to reduce the risk of *Vibrio* infections from raw shell-stock oysters. *Food Addit. Contam.* 17, 787-791.

Freeze/Thaw

- Nascimento, D. R., Vieira, R., Almeida, H. B., Patel, T. R. & Iaria, S. T. 1998. Survival of *Vibrio cholerae* 01 strains in shrimp subjected to freezing and boiling. *J. Food Prot.* 61, 1317-1320.
- Vasudevan, P., Marek, P., Daigle, S., Hoagland, T. & Venkitanarayanan, K. S. 2002. Effect of chilling and freezing on survival of *Vibrio parahaemolyticus* on fish fillets. *J. Food Safety.* 22, 209-217.

Heat

- Koga, T. & Takumi, K. 1997. The recovery of heat-stressed *Vibrio parahaemolyticus* in artificial seawater and artificial seawater supplemented with chitin microcosms. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 43, 121-123.

Temperature

- Boutin, B. K., Reyes, A. L., Peeler, J. T. & Twedt, R. M. 1985. Effect of temperature and suspending vehicle on survival of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. *J. Food Prot.* 48, 875-878.

- Jiang, X. P. & Chai, T. J., 1996. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* at low temperatures under starvation conditions and subsequent resuscitation of viable, nonculturable cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1300-1305.
- Kumazawa, N. H., Ikura, K. & Kawasaki, Y., 1996. Selective growth of thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in the alimentary tract of a gastropod, *Clithon retropictus*, at a selected estuary in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 58, 921-923.
- Kumazawa, N. H. & Kawasaki, Y. 1997. Selective survival of a thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in the alimentary tract of a juvenile estuarine gastropod (*Clithon retropictus*). *J. Vet. Med. Sci.* 59, 277-279.
- Magalhaes, T. F., Vieira, R., Facanha, S. H. F., Hofer, E. & Martin, A. M. 2000. Note. Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in lobster homogenates at different temperatures. *Food Sci. Technol. Int.* 6, 145-150.
- Mizunoe, Y., Wai, S. N., Ishikawa, T., Takade, A. & Yoshida, S. 2000. Resuscitation of viable but nonculturable cells of *Vibrio parahaemolyticus* induced at low temperature under starvation. *FEMS Microbiol. Lett.* 186, 115-120.
- Wolf, P. W. & Oliver, J. D. 1992. Temperature Effects on the Viable but Non-Culturable State of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 101, 33-39.
- Wong, H. C., Chen, L. L. & Yu, C. M. 1994. Survival of psychrotrophic *Vibrio mimicus*, *Vibrio fluvialis* and *Vibrio parahaemolyticus* in culture broth at low temperatures. *J. Food Prot.* 57, 607-610.

pH

- Hasegawa, J., Hara-Kudo, Y., Nishina, T., Konuma, H. & Kumagai, S. 2002. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* serovar O3:K6 strains under acidic conditions. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 43, 90-94.
- Koga, T., Katagiri, T., Hori, H. & Takumi, K. 2002. Alkaline adaptation induces cross-protection against some environmental stresses and morphological change in *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol. Res.* 157, 249-255.
- Koga, T., Sakamoto, F., Yamoto, A. & Takumi, K. 1999. Acid adaptation induces cross-protection against some environmental stresses in *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 45, 155-161.
- Nojoumi, S. A., Smith, D. G. & Rowbury, R. J. 1995. Tolerance to acid in pH 5.0-grown organisms of potentially pathogenic Gram-negative bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 21, 359-363.
- Nose, M., Kazato, M. & Sakai, S. 1985. Effect of several organic acids and Sodium-Chloride on the viability of *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 26, 579-584.
- Nose, M., Kazato, M. & Sakai, S. 1986. Cooperative inhibition by Sodium citrate and Sodium cholate of the growth of acid-injured cells of *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 27, 492-500.
- Wong, H. C., Peng, P. Y., Han, J. M., Chang, C. Y. & Lan, S. L. 1998. Effect of mild acid treatment on the survival, enteropathogenicity, and protein production in *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect. Immun.* 66, 3066-3071.

Atmosphere

- Kimura, B., Murakami, M. & Fujii, T. 1997. Growth of selected food spoilage and pathogenic bacteria under modified atmosphere. *Fish. Sci.* 63, 1030-1034.
- Ramos, M. & Lyon, W. J. 2000. Reduction of endogenous bacteria associated with catfish fillets using the Grovac process. *J. Food Prot.* 63, 1231-1239.
- Youngrengrimes, B. L., Grimes, D. J. & Colwell, R. R. 1988. Growth of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio vulnificus* under strict anaerobic conditions. *Syst. Appl. Microbiol.* 11, 13-15.

Antimicrobials

- Al-Jedah, J. H., Ali, M. Z. & Robinson, R. K. 2000. The inhibitory action of spices against pathogens that might be capable of growth in a fish sauce (mehiawah) from the Middle East. *Int. J. Food Microbiol.* 57, 129-133.
- Bhattacharya, M., Choudhury, P. & Kumar, R. 2000. Antibiotic- and metal-resistant strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimps. *Microb. Drug Resist.-Mechan. Epidemiol. Dis.* 6, 171-172.
- Bisignano, G., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Crisafi, G., Uccella, N. & Saija, A. 1999. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J. Pharm. Pharmacol.* 51, 971-974.
- Chang, S. T., Chen, P. F. & Chang, S. C. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Ethnopharmacol.* 77, 123-127.

- Chauhan, B. S., Shaikh, N. M., De, S. P., Sil, S., Ganguly, P. K. & Kumar, R. 1997. Arsenate resistance as a possible marker in the differentiation of environmental and clinical isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. Zent.bl. Bakteriologie-Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis. 285, 486-490.
- Christophersen, C., Crescente, O., Frisvad, J. C., Gram, L., Nielsen, J., Nielsen, P. H. & Rahbaek, L. 1998. Antibacterial activity of marine-derived fungi. Mycopathologia. 143, 135-138.
- Clement, R. L., Flatau, G. N., Mahdyoun, F. & Gauthier, M. J. 1989. Influence of some environmental parameters on the resistance to Cadmium in *Vibrio parahaemolyticus*. Environ. Technol. Lett. 10, 669-674.
- Datta, A. R. & Macquillan, A. M. 1987. Salt tolerance of lactose-grown *Vibrio parahaemolyticus* carrying *Escherichia coli* Lac genes. Appl. Environ. Microbiol. 53, 466-469.
- Dias, J., Hernandez, D. & Hofer, E. 1991. Antibiotic resistance in non-01 *Vibrio cholerae* and *V. parahaemolyticus*. Rev. Microbiol. 22, 28-33.
- Gordon, A. S., Howell, L. D. & Harwood, V. 1994. Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated Copper concentrations. Can. J. Microbiol. 40, 408-411.
- Hasegawa, N., Matsumoto, Y., Hoshino, A. & Iwashita, K. 1999. Comparison of effects of *Wasabia japonica* and allyl isothiocyanate on the growth of four strains of *Vibrio parahaemolyticus* in lean and fatty tuna meat suspensions. Int. J. Food Microbiol. 49, 27-34.
- Hosoi, M., Yoshida, M., Takahata, T., Hoshino, T. & Imada, K. 1990. Growth inhibitory activity of Sodium chlorite on several food poisoning bacteria. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 31, 469-473.
- Karunasagar, I., Venugopal, M. N. & Segar, K. 1986b. Role of chitin in the survival of *Vibrio parahaemolyticus* at different temperatures. Can. J. Microbiol. 32, 889-891.
- Khan, B. T., Bhatt, J., Najmuddin, K., Shamsuddin, S. & Annapoorna, K. 1991. Synthesis, antimicrobial, and antitumor activity of a series of Palladium (II) mixed-ligand complexes. J. Inorg. Biochem. 44, 55-63.
- Koga, T., Hirota, N. & Takumi, K. 1999. Bactericidal activities of essential oils of basil and sage against a range of bacteria and the effect of these essential oils on *Vibrio parahaemolyticus*. Microbiol. Res. 154, 267-273.
- Koga, T. & Takumi, K., 1996. Inducible resistance to zinc and the effect of this ion on the composition of outer membrane proteins in *Vibrio parahaemolyticus*. J. Gen. Appl. Microbiol. 42, 493-500.
- Li, J., Yie, J., Foo, R. W. T., Ling, J. M. L., Xu, H. S. & Woo, N. Y. S. 1999. Antibiotic resistance and plasmid profiles of vibrio isolates from cultured silver sea bream, *Sparus sarba*. Mar. Pollut. Bull. 39, 245-249.
- Nagayama, K., Iwamura, Y., Shibata, T., Hirayama, I. & Nakamura, T. 2002. Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. J. Antimicrob. Chemother. 50, 889-893.
- Newbold, R. W., Jensen, P. R., Fenical, W. & Pawlik, J. R. 1999. Antimicrobial activity of Caribbean sponge extracts. Aquat. Microb. Ecol. 19, 279-284.
- No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H. & Meyers, S. P. 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. Int. J. Food Microbiol. 74, 65-72.
- Nose, M., Hirata, I., Arai, T., Nishijima, M., Sakai, S. & Miyazaki, T. 1988. Antibacterial action of *Bainiku ekisu* (Japanese apricot fruit extracts), a traditional drug, on *Vibrio parahaemolyticus* and its organic acid components. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 29, 402-407.
- Pace, J. L., Chai, T. J., Rossi, H. A. & Jiang, X. P. 1997. Effect of bile on *Vibrio parahaemolyticus*. Appl. Environ. Microbiol. 63, 2372-2377.
- Puente, M. E., Vegavillasante, F., Holguin, G. & Bashan, Y. 1992. Susceptibility of the brine shrimp *Artemia* and its pathogen *Vibrio parahaemolyticus* to chlorine dioxide in contaminated seawater. J. Appl. Bacteriol. 73, 465-471.
- Ramesh, N., Viswanathan, M. B., Saraswathy, A., Balakrishna, K., Brindha, P. & Lakshmanaperumalsamy, P. 2002. Phytochemical and antimicrobial studies of *Begonia malabarica*. J. Ethnopharmacol. 79, 129-132.
- Sagripanti, J. L., Eklund, C. A., Trost, P. A., Jinneman, K. C., Abeyta, C., Kaysner, C. A. & Hill, W. E. 1997. Comparative sensitivity of 13 species of pathogenic bacteria to seven chemical germicides. Am. J. Infect. Control. 25, 335-339.
- Sato, A., Terao, M. & Ishibashi, M. 1993. Antibacterial effects of garlic extract on *Vibrio parahaemolyticus* in fish meat. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 34, 63-67.
- Thakur, A. B., Vaidya, R. B. & Suryawanshi, S. A. 2003. Pathogenicity and antibiotic susceptibility of *Vibrio* species isolated from moribund shrimps. Indian J. Mar. Sci. 32, 71-75.

Combinations

- Johnston, M. D. & Brown, M. H. 2002. An investigation into the changed physiological state of *Vibrio* bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing. *J. Appl. Microbiol.* 92, 1066-1077.
- Koga, T. & Takumi, K. 1995a. Comparison of cross-protection against some environmental stresses between Cadmium-adapted and heat-adapted cells of *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 41, 263-268.
- Koga, T. & Takumi, K. 1995b. Nutrient starvation induces cross-protection against heat, osmotic, or H₂O₂ challenge in *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol. Immunol.* 39, 213-215.
- Tsai, G. J., Wu, Z. Y. & Su, W. H. 2000. Antibacterial activity of a chitooligosaccharide mixture prepared by cellulase digestion of shrimp chitosan and its application to milk preservation. *J. Food Prot.* 63, 747-752.
- Venugopal, M. N., Karunasagar, I. & Varadaraj, M. C. 2000. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in presence of chlorine. *J. Food Sci. Technol.-Mysore.* 37, 517-519.
- Zhu, B. C. R., Lo, J. Y., Li, Y. T., Li, S. C., Jaynes, J. M., Gildemeister, O. S., Laine, R. A. & Ou, C. Y. 1992. Thermostable, salt tolerant, wide pH range novel chitobiase from *Vibrio parahaemolyticus* - isolation, characterization, molecular cloning, and expression. *J. Biochem. (Tokyo).* 112, 163-167.

Acknowledgment

Dr Lyndal Mellefont (University of Tasmania) undertook the literature survey (above).