

Kocatepe Veterinary Journal

Kocatepe VetJ (2019) 12(2):150-157

DOI: 10.30607/kvj.526068

RESEARCH ARTICLE

Investigation of The Microbiological Quality of Sea Breeding (*Sparus aurata*) and Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fishes in Afyonkarahisar Province

Şebnem PAMUK*, Yağmur Nil DEMİREL, Zeki GÜRLER

Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Turkey, Afyonkarahisar

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the microbiological quality levels of fish (*Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*) sold in fishermen in Afyonkarahisar. In this study, 82 fish samples randomly selected and purchased from 14 different retail points were microbiologically analyzed. According to this; the microorganism ranges isolated from 43 *Sparus aurata* and 39 *Dicentrarchus labrax* were; 5.0-7.88/4.90-7.34 log₁₀ mL⁻¹ TVBC; 3.30-7.17/ 3.90-7.54 log₁₀ mL⁻¹ psychrophilic microorganism; 1.30-5.89/ 1.30-4.53 log₁₀ mL⁻¹ staphylococcus / micrococcus, only in *Sparus aurata* 2.30-4.14 log₁₀ mL⁻¹ *S. aureus*; 1.30-6.49/1.30-6.11 log₁₀ mL⁻¹ lactic acid bacteria (LAB); 1.30-6.55/ 1.30-7.14 log₁₀ mL⁻¹ enterobacteria, 1.30-6.62/1.30-6.60 log₁₀ mL⁻¹ total coliform and 1.30-4.30/1.30-4.47 log₁₀ mL⁻¹ levels *E. coli* and 1.2% of the samples (from *Sparus aurata*) *Salmonella* spp., were identified respectively.

Keywords: Fish, Microbial contamination, Microbiological quality, Seafood

Afyonkarahisar İli'nde Satışa Sunulan Çupra (*Sparus aurata*) ve Levrek (*Dicentrarchus labrax*) Balıklarının Mikrobiyolojik Kalitelerinin Araştırılması

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, Afyonkarahisar'da balıkçılarda satışa sunulan balıkların (çupra ve levrek) mikrobiyolojik kalite düzeylerinin belirlenmesidir. Çalışmada, 14 farklı balıkçıdan rastgele seçilen 82 adet (43 çupra, 39 levrek) balık satın alınarak, mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Buna göre; çupra ve levrek balıklarından izole edilen mikroorganizma aralıkları sırasıyla; 5.0-7.88/4.90-7.34 log₁₀ mL⁻¹ AMGC; 3.30-7.17/3.90-7.54 log₁₀ mL⁻¹ psikofil mikroorganizma; 1.30-5.89/1.30-4.53 log₁₀ mL⁻¹ stafilocok/mikrokok; sadece çupra balığında 2.30-4.14 log₁₀ mL⁻¹ *S. aureus*; 1.30-6.49/1.30-6.11 log₁₀ mL⁻¹ laktik asit bakterisi (LAB); 1.30-6.55/1.30-7.14 log₁₀ mL⁻¹ enterobakteri, 1.30-6.62/1.30-6.60 log₁₀ mL⁻¹ total koliform ve 1.30-4.30/1.30-4.47 log₁₀ mL⁻¹ düzeylerinde *E. coli* izole edilmiştir. Örneklerin %1.2'sinden (çupra balığı) *Salmonella* spp. identifiye edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Balık, Deniz ürünü, Mikrobiyal kontaminasyon, Mikrobiyolojik kalite

To cite this article: Pamuk Ş. Demirel Y.N. Gürler Z. Investigation of The Microbiological Quality of Sea Breeding (*Sparus aurata*) and Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fishes in Afyonkarahisar Province. Kocatepe Vet J. (2019) 12(2):150-157.

Submission: 12.02.2019 Accepted: 07.05.2019 Published Online: 15.05.2019

ORCID ID; ŞP: 0000-0001-7227-3364, YND: 0000-0002-1309-0936, ZG: 0000-0002-9037-2945

*Corresponding author e-mail: spamuk@aku.edu.tr

GİRİŞ

Balık, denize kıyısı olan ülkelerde toplam hayvansal protein alımının %30-80'ini karşılayan önemli bir hayvansal gıdadır (Adenike 2014). Balık eti, yüksek oranda doymamış yağ asidi, vitamin, mineral, oldukça az miktarda doymuş yağ asidi ile karbonhidrat içermekte ve beslenmede önemli yer tutmaktadır (Boulares ve ark. 2011, Nelson 2016). Bununla birlikte, deniz ürünlerini avlandıktan sonra, transport sırasında ya da satışa sunuldukları yerlerde (Budiatı ve ark. 2015, Mol ve Tosun 2011) kontamine olabilmekte ve mikroorganizma gelişimiyle birlikte bozulma süreci başlamaktadır (Goja 2013). Bu sürecin sonunda, mikrobiyel aktivite nedeniyle balıkların %30'u bozulmaktadır (Ghaly ve ark. 2010). Balıkların mikroorganizma ile kontamine olması ya avlandıktan önceki süreçin doğru işlemediğini işaret etmektedir (Adeyemo 2003). Taze balığın bozulma sürecine, balığın yakalandığı suyun bakteriyolojik kalitesi, deniz suyu sıcaklığı, suyun tuz oranı gibi çeşitli çevresel faktörler etkili olmaktadır (Boulares ve ark. 2013). İlk mikrobiyal düzey (Boulares ve ark. 2011, Ligia ve ark. 2008, Tripathy ve ark. 2007), avlanmanın nerede yapıldığına, yerleşim bölgelerine yakınlığına, mevsime (Bojanic ve ark. 2009), işleme prosedürlerine (örn., baş ayırma, iç çikarma, kesme) hasata, (Attouchi ve Sadok 2010, Özden ve ark. 2007, Poli ve ark. 2001) ve depolama sıcaklığına (Gram ve Dalgaard 2002, Hernandez ve ark. 2009, Koutsoumanis ve ark. 2002) bağlıdır. Bu nedenle, soğuk muhafaza sıcaklığında aerob ortamda depolanan taze balık ve deniz ürünlerinin ana bozulma florasını, *Pseudomonas*, *Photobacterium*, *Flavobacterium* (Chytiri ve ark. 2004, Diop ve ark. 2010, Gram ve Huss 2000, Matamoros ve ark. 2006) dahil olmak üzere ağırlıklı olarak psikrotrofik Gram negatif türler olan *Aeromonas*, *Shewanella*, *Acinetobacter* ve *Moraxella*'nın (Cardinal ve ark. 2004, Franzetti ve ark. 2003, Joffraud ve ark. 2001, Lyhs ve ark. 2001) yer aldığı bildirilmiştir. Bu psikrotrofik bakteriler, kokusuz ve tatsız metabolitleri üretmek için balıkta çeşitli maddelere hücum ederler (Diop ve ark. 2010, Galvez ve ark. 2010, Ligia ve ark. 2008). Özellikle salamura fermenti balık ürünlerinde histamin biriminin başlıca sorumlularından biri olan ve yüksek ozmotik basınç şartlarında canlı kalabilen halofilik laktik asit bakterileri balıklardan sıklıkla izole edilen bakterilerdir (Satomi 2018). Bozulma sürecinin, balıkların başlangıçta sahip olduğu toplam mikroorganizma sayısı ile direkt ilişkisi bulunmaktadır (Gram ve Huss 1996).

Dünyanın farklı bölgelerinde deniz ürünlerinin güvenliği ve kalitesinin araştırıldığı çalışmalar mevcut olmakla birlikte, bu çalışmalar sağlık risklerinin bilinmesi açısından da önem teşkil etmektedir (Begum ve ark. 2010, Boulares ve ark. 2011, Boulares ve ark. 2013, Goja 2013, Kapute ve ark. 2012, Odu ve Imaku 2013, Popovic ve ark. 2010, Rahal ve ark. 1981). Bir

yarımada olan Türkiye, birçok iç su kaynağına da sahiptir. Resmi verilere göre; 2017 yılında su ürünleri üretimi 630.820 ton, iç tüketim miktarı 441.573 ton, çipura ve levrek üretim miktarı ise 61.090 ile 99.971 ton olarak bildirilmiştir (Anon 2018).

Bu çalışmanın amacı, balıkçı tezgahlarında satışa sunulan çipra ve levrek balıklarının kalite ve gıda güvenliği ile doğrudan ilişkili olan mikrobiyolojik kalitelerinin araştırılmasıdır.

MATERIAL ve METOT

Çalışmada, 2018 yılının Ekim-Kasım ve Ocak aylarında 10 farklı balıkçıdan satın alınan 43 adet çipra ve 39 adet levrek balığı mikrobiyolojik açıdan değerlendirildi. İncelenen toplam 82 adet balık örneği Aerob Mezofil Genel Canlı (AMGC), psikrofil mikroorganizma (PM), mikrokok/stafilokok (M/S), enterobakteri, total koliform, *E. coli* ve *Salmonella* spp. ve laktik asit bakterileri (LAB) yönünden analiz edildi. İşletmelerden satın alınan balık örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek 1-2 saat içerisinde analize alındı. Balıkların örneklenmesinde; her bir balık steril poşetlere alınarak, 225 ml Buffer Pepton Water (BPW, CM 0509) ile 2 dk. yıkandıktan sonra seri dilüsyonları yapılarak ilgili besi yerlerine yapıldı.

Mikrobiyolojik Analizler

Aerob Mezofil Genel Canlı (AMGC)

AMGC sayısının belirlenesinde Plate Count Agar (PCA-Oxoid CM0325) kullanıldı. Petriler $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda gelişen tüm koloniler sayılaraak düzeyleri belirlendi (ISO 2003).

Psikrofil Mikroorganizma (PM)

PM sayısını belirlemek için Plate Count Agar (PCA-Oxoid CM0325) kullanılarak, petriler 4°C 72 saat inkübasyona bırakılarak beyaz renkli koloniler sayılı (Cousin ve ark. 2001, ISO 2001).

Mikrokok/Stafilokok (M/S)

Örneklerinin M/S sayısı, BP Agar-Base (Oxoid CM0275, Egg Yolk Tellurite Emulsion Oxoid: SR0054) besi yerine ekim yapılarak 37°C 'de 24-48 saat inkübasyondan sonra üreyen siyah kolonilerin sayılmasıyla belirlendi (Bennett and Lancette 1992). Baird-Parker besi yerinde üreyen tipik ve atipik koloniler koagulaz test kiti kullanılarak doğrulandı (Staphytest test kit OXOID).

Enterobakteri, Total koliform ve *E. coli*

Bu bakteri türlerini tespit etmek amacıyla, Chromocult Coliform Agar (Merck, 1.10426) kullanılarak, $35-37^{\circ}\text{C}$ de 24 saat inkubasyon sonucunda tipik somon-kırmızı renk koloniler koliform grubu bakteri, koyu mavi-mor menekşe renginde olan koloniler *E. coli* ve renksiz koloniler ise

enterobakter olarak değerlendirildi (Blood ve Curtis 1995, De Boer 1998).

Salmonella spp.

Salmonella spp. izolasyonu için, ISO 6579 (ISO 2002) yöntemi uygulandı. Buffer Pepton Water'da (BPW, CM 0509), 2 dk. süreyle yıkanan balıkların, yıkama sıvıları 37°C'de 18±2 saat ön zenginleştirmeye kaldırıldı.

İnkübasyonun ardından herbir zenginleştirme sıvısından 0.1 mL alınarak, içerisinde 10 mL of Rappaport Vassiliadis (RV) enrichment broth (CM 0866), bulunan tüplere geçirilerek 41.5°C'de 24 saat inkübasyona kaldırıldı. Daha sonra, herbir kültür Xylose Lysine Deoxycholate (XLD, CM 0469) Agar'a çizme plak yöntemiyle ekilerek 37°C'de 48 saat inkübe edildi (ISO, 2002). İnkübasyonun ardından, siyah merkezli beş şüpheli koloni seçilerek, Nutrient Agar'a (CM 0003) subkültüre edildi. Kolonilere, Gram boyamanın ardından standart biyokimyasal testler uygulandı (triple sugar iron agar-CM 277; lysine iron agar-CM 381; urease test-CM 53; Simmons citrate-CM 155, ONPG-disc- DD13 ONPG, MR-VP test- CM 0043). Doğrulama testi, *Salmonella* antiserumu (O and H-Vi polyvalent antiserum, Difco 2264-47-2) (Flowers ve ark. 1992) ile gerçekleştirildi.

Laktik Asit Bakterileri

LAB için, MRS Agar'a (Oxoid CM0361) ekim yapılarak, petriler 37°C'de 72 saat anaerob (AnaeroGen Oxoid ANOO35A) ortamda inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyonun ardından boz/beyaz renkte üreyen kolonilerin sayımları yapıldı (ISO 1998).

BULGULAR

Balık örneklerinin tamamında (%100) aerob mezofil genel canlı ve psikrofil mikroorganizma, 39'unda (%47.5) M/S ve 33'ünde (%40.2) LAB izole edilirken, 66'sında (%80.4) enterobakteri, 58'inde (%70.7) koliform, 6'sında (%7.31) *E. coli* ve 10'unda (%12.1) *S. aureus* tespit edilmiştir. Sadece bir çupra balığı örneğinden (%1.2) *Salmonella* spp. identifiye edilmiştir. Balık türlerine göre; çupra balıklarının 32'sinden >6 \log_{10} mL⁻¹ (%74.4) AMGC, 42'sinden >2 \log_{10} mL⁻¹ (%97.6) psikrofil mikroorganizma, 20'sinden >2 \log_{10} mL⁻¹ (%46.5) S/M, 24'ünden >2 \log_{10} mL⁻¹ (%55.8) LAB; levrek balıklarının ise; 26'sından >6 \log_{10} mL⁻¹ (%66.6) AMGC, 38'inden >2 \log_{10} mL⁻¹ (%97.4) psikrofil mikroorganizma, 15'inden >2 \log_{10} mL⁻¹ (%38.4) S/M ve 15'inden >2 \log_{10} mL⁻¹ (%38.4) düzeylerinde LAB izole edilmiştir (Tablo 1). Enterobakteri, total koliform, *E. coli* ve *S. aureus* oranları ise çupra balıklarının sırasıyla; 37'sinde >4 \log_{10} mL⁻¹ (%86), 28'inde >4 \log_{10} mL⁻¹ (%65.1), 2'sinde >4 \log_{10} mL⁻¹ (%4.65), 9'undan >2 \log_{10} mL⁻¹ (%20.9) olarak; levrek balıklarında ise sırasıyla; 36'sından >4 \log_{10} mL⁻¹ (%92.3), 28'inde >4 \log_{10}

mL⁻¹ (%71.7), 1'inde >4 \log_{10} mL⁻¹ (%2.56) düzeylerinde seyrederken, levrek balıklarından *S. aureus* identifiye edilmemiştir (Tablo 2).

TARTIŞMA

Yetiştiricilikle balık üretimi küresel boyutta 2008 yılında 52.5 milyon tona ulaşarak, dünya gıda balık tüketiminin% 45.6'sından sorumlu sektör durumuna gelmiştir (FAO 2012). Üretimi bu derece fazla olan bu gida, avlanmadan sonraki aşamalarda uygun olmayan şartlarda muhafazası ve işlenmesi sebebiyle, gıda kaynaklı salgınların büyük bölümünden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Fagan ve ark. 2011, Jain ve ark. 2008, Piérard ve ark. 1999, Shao ve ark. 2011). *Vibrio* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* ve *Shigella* spp. gibi gıda patojenleri; gıda üretim zinciri sırasında kontaminasyon neticesinde balık dokusunda bulunabilmektedir (Roberts ve ark. 2005). Söz konusu patojenler, çevre şartlarında varlıklarını sürdürmeye ve balık tüketime hazır olana kadar dokularında canlı kalabilmektedir (Pillay 1992, Suhalima ve ark. 2008). Kirlemeş balık havuzları (örn. dölleme, insan ve hayvan atık suları nedeniyle yüksek bakteriyel yük içeren) patojenlerin balık dokusuna (örn. sindirim sistemi, solungaçlar, kaslar, böbrekler ve karaciğer) nüfuz etmesini sağlamaktadır (Junior ve ark. 2014).

Birçok çalışmada, *E. coli*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus*'un sudaki konsantrasyonunun, balık organ ve dokusundan elde edilen bakteri konsantrasyonu ile orantılı olduğu saptamıştır (Buras ve ark. 1987, El-Guzmán ve ark. 2004, Pal ve Gupta 1992, Shafai ve ark. 2004). Bu organizmalar, balıkların doğal mikrobiyotaları olmamakla birlikte, varlıkları balık besin ağı, konak-mikrobiyota etkileşimleri ve çevre belirleyicileri ile ilişkilendirilmektedir (Kostic ve ark. 2013). Örneğin, gıda kaynaklı hastalıkların nedenleri olarak rapor edilen *Salmonella* ve *S. aureus* gibi yaygın gıda kaynaklı patojenler, tipik çevresel kirleticiler olmamakla birlikte, genellikle gıda hazırlama veya işleme süreçlerinde gıdaları kontamine etmektedirler (Kasai ve ark. 2010, Vollaard ve ark. 2004). Nitekim; Kocatepe ve ark. (2011), balık tezgahlarının mikrobiyolojik kalitesini inceledikleri çalışmada, koliform sayısını 1.8×10^2 - 2.2×10^2 kob/cm², AMGC sayısını 8.5×10^2 - 0.6×10^2 kob/cm², Rahal ve ark. (1981) ise; tezgahlardan AMGC ve *S. aureus* düzeylerini sırasıyla 4.39 ± 0.17 , 1.69 ± 0.12 log kob/g aralığında saptadıklarını bildirilmişlerdir.

Ülkemizde farklı deniz ürünlerinde yapılan çalışmalarda, AMGC ve psikrofil sayısı sırasıyla; 2.30 ± 1.30 ile 3.36 ± 0.87 log kob/g (Inanlı ve ark. 2011), AMGC, psikrotrofik mikroorganizma, *Enterobacteriaceae* sayıları 5.65 ± 1.70 log kob/g, 6.90 ± 1.60 log kob/g, 4.24 ± 1.30 log kob/g, 3.61 ± 0.72 log kob/g (Alak ve ark. 2010), AMGC, psikrotrofik

mikroorganizma, koliform sayıları $2.8\text{-}4.3 \log \text{kob/g}$, $2.6\text{-}4.1 \log \text{kob/g}$, $<3\text{-}3.8 \text{ EMS/mL}$ (Alparslan ve ark. 2017), AMGC, total koliform ve fekal koliform sayıları 3.25 ± 1.26 - $5.42\pm0.91 \log \text{kob/g}$, 0.68 ± 0.48 - $2.08\pm1.34 \log \text{kob/g}$, 0.54 ± 0.16 - $0.49\pm0.04 \log \text{kob/g}$ (Mol ve Tosun 2011) düzeylerinde bulunmuştur. Benzer şekilde farklı balık türlerinde yapılan bir başka çalışmada, 50'şer adet sazan ve tırsı balığındaki *S. aureus*, *V. parahaemolyticus* ve *E. coli* oranları sırasıyla; %12, %4, %8 ve %4, %8, %4 olarak belirlenmiştir (Tavakoli ve ark. 2012). Junior ve ark. (2014), 40 balık örneğinden $>1100 \text{ MPN/g}$ termotolerant koliform ve $<1.0\times10^2\text{-}1.2\times10^6 \text{ kob/g}$ düzeylerinde *Staphylococcus* spp. saptadıklarını ve örneklerin %55'inin termotolerant koliform ile kontamine olduğunu bildirmiştir Nilla ve ark. (2012), balık örneklerindeki AMGC, toplam koliform, *E. coli* düzeylerini sırasıyla; 1.8 ± 0.25 - $6.5\pm0.75 \log \text{kob/g}$, 8.0 ± 0.55 - $6.1\pm0.40 \log \text{kob/g}$, 1.4 ± 0.10 - $4.8\pm0.45 \log \text{kob/g}$ olarak belirlediklerini ve örneklerin %83'ünün *Staphylococcus* spp. ile kontamine olduğunu vurgulamışlardır. Yapılan diğer çalışmalarda, balıklardan 2.8×10^3 - $9.8\times10^4 \text{ kob/g}$ stafilocok (Goja 2013), $<100 \text{ kob/g}$ *S. aureus* (Popovic ve ark. 2010), 4.4×10^3 - $9.7\times10^7 \text{ kob/g}$ stafilocok, 5.9×10^4 - $1.5\times10^8 \text{ kob/g}$ mikrokok, örneklerin (n=18) %46'sından *S. aureus* (Odu ve Imaku 2013) belirlenmiştir. Ayrıca, 15-120/3-95 MPN/100 g fekal koloform ve %13 oranında *Enterobacteriaceae* (Goja 2013), 0.9-240 MPN/g total koliform, 110 MPN/g fekal koliform (Begum ve ark. 2010), $<10 \text{ kob/g}$ *E. coli*, $>10^2 \text{ kob/g}$ *Enterobacteriaceae* (Popovic ve ark. 2010), $5.02\text{-}5.51 \log \text{kob/g}$ kolifom, 2.2×10^4 - $9.5\times10^7 \text{ kob/g}$ *E. coli*, örneklerin (n=18) %13.3'ünden *E. coli* (Odu ve Imaku 2013), 2.52-3.73 log kob/g koloform, 0.94-1.11 log kob/g fekal koloform (Budiatı ve ark. 2015) izole edilmiştir. AMGC düzeyleri ise; 1.9×10^8 - $2.0\times10^4 \text{ kob/g}$, 1.2×10^6 - $5.0\times10^6 \text{ kob/g}$ ile $6.29\text{-}6.78 \log \text{kob/g}$, örneklerin (n=15) %26.6'sında $>10^5 \text{ kob/g}$ (Odu ve Imaku 2013), 5.30-6.84 log kob/g (Budiatı ve ark. 2015) olarak belirlenirken, örneklerin (n=15) %6'sında $>10^3 \text{ kob/g}$ psikofil mikroorganizma, 5.07-6.15 log kob/g psikrotrofik mikroorganizma (Odu ve Imaku 2013) izole edilmiştir. LAB ise; 4.51-5.28 log kob/g düzeylerinde saptanmıştır (Odu ve Imaku 2013). Bu çalışmada elde edilen veriler literatürle uyumlu bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (Anon 2011) taze soğutulmuş balıkların mikrobiyolojik değerlerine ilişkin herhangi bir limit değere rastlanmamakla birlikte, sadece histamin düzeyine ilişkin limit değer verilmiştir.

Balıkların yüksek oranda koliform ve *E. coli* ile kontamine olması, çoğunlukla suyun kontaminasyon derecesi, balıkların beslenmesi gibi balık yetiştiriciliği ile ilgili çevresel faktörlerle ilişkilendirilmektedir. Koliformların sayısı ve gelişimi ortam sıcaklığına da bağlanmaktadır (Del Rio-Rodriguez ve ark. 1997).

Balık derisi oldukça yüksek konsantrasyonda mikroorganizma içerebilmektedir. Bu durum, işleme, balıkların muhafaza edildiği buzun kalitesi ile ilişkili olup, balık ve deniz ürünlerinin soğutulmasında kullanılan buz, halkın sağlığı için potansiyel bir tehlkiye dönüşebilmektedir (Gerokomou ve ark. 2011). Falcao ve ark. (2002), balık marketlerinde kullanılan buzun 4.0×10^2 - $5.3\times10^2 \text{ MPN}/100 \text{ mL}$ düzeyinde koliform, ayrıca *E. coli*'nin farklı serotipleri ile de kontamine olduğunu belirlemiştir.

Bu çalışmanın aksine, Fattal ve ark. (1992), Hejkal et al. (1983), Suhalima ve ark. (2008) ve El-Shafai ve ark. (2004), derideki koliform düzeyinin oldukça düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durum balıkların sudan alındıktan sonra oldukça hızlı bir şekilde analize alınması ile açıklanmaktadır. Balık derisi, birçok hayatı fonksiyona sahip olmakla birlikte, patojen ve çevresel ksenobiyotiklere karşı savunma sisteminin ilk basamağıdır. *Staphylococcus* ve *E. coli*'ye karşı (Kasai ve ark. 2010) antibakteriyel aktivite gösteren pek çok antibiyotik ve biyoaktif madde (peptit, lizozim, lektin ve proteaz) balık deri mukusundan identifiye edilmiştir (Alvarez-Pellitero 2008, Long ve ark. 2013, Rakers ve ark. 2010). Ayrıca, koliform ve stafilocokların düşük düzeyleri, balık kesim işlemi ve raflardaki yerini alana kadar geçen süredeki oldukça düşük muhafaza sıcaklıklar ile açıklanabilir (Junior ve ark. 2014). Aerob mezofil ve psikofil bakteriler, *Enterobacteriaceae*, sülfit indirgeyen clostridialar, *L. monocytogenes*, *Vibrio cholerae* ve *Vibrio parahaemolyticus* gibi bakteriler balık kalitesi hakkında fikir veren önemli gruplardır. Popovic ve ark. (2010) tarafından Hırvatistan'da yapılan bir çalışmada taze balık örneklerinin %66'sının mikrobiyolojik kriterler bakımından yasal limitlere uymadığını ve örneklerin %40'ında *Enterobacteriaceae* düzeylerinin kabul edilebilir sınırlar içerisinde bulunmadığı belirlenmiştir. Balıklardaki mikrobiyal bulaşmanın, çoğunlukla fileto işlemi sırasında, özellikle termostabil toksin üretimi nedeniyle gastroenterit vakaların en çok bilinen etkeni olan *S. aureus*'un rezervuarı olan insan tarafından çapraz kontaminasyona uğraması sonucu şekillendiği bildirilmektedir.

Balıklardaki mikrobiyal bulaşmanın, çoğunlukla fileto işlemi sırasında, özellikle termostabil toksin üretimi nedeniyle gastroenterit vakaların en çok bilinen etkeni olan *S. aureus*'un rezervuarı olan insan tarafından çapraz olarak kontamine edilmesi sonucu şekillendiği bildirilmektedir (Junior ve ark. 2014). Deniz ürünü ve balıklardan enterotoksijenik *E. coli* ve *S. aureus* (Ayulo ve ark. 1994), çalışanların ellerinden ve nazal mukozalarından izole edildiği bildirilmektedir (Acco ve ark. 2003). Almanya'da bir gıda çalışanının, balık hazırlama aşamasında ürünü *E. coli* (STEC) O104:H4 ile kontamine etmesi sonucu, 23 kişinin infeksiyonundan sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Diercke ve ark. 2014).

Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) shigellozis vakalarının %23’ünün infekte gıda çalışanlarından, %24’ünün ise çiğ gıda tüketilmesi sonucu şekillendiği kaydedilmiştir (Nygren ve ark. 2013). Mikroorganizmalar balıklara birçok yoldan bulaşmakla birlikte, uygun olmayan, sağıksız işlem ve muhafaza

şartları ve çapraz kontaminasyon öne çıkan etkenlerdir (Huang ve ark. 2001, Jablonski ve Bohach 2001). Tüketicilerin yetersiz hijyen alışkanlıkları da gıda hazırlama aşamasında meydana gelen çapraz kontaminasyon ve mikrobiyal gelişim ile direkt ilişkilidir (Redmond ve Griffith 2009).

Tablo 1. Balık Örneklerindeki AMGC, PS, M/S ve LAB Düzeyleri

Tablo 1. Levels of AMGC, PS, M/S and LAB in Fish Samples

Örnek	AMGC		PM		M/S		LAB	
	(>6 log kob/g)	n (%) b	(>2 log kob/g)	n (%) b	(>2 log kob/g)	n (%) b	(>2 log kob/g)	n (%) b
Çupra	32	74.4	42	97.6	20	46.5	24	55.8
Levrek	26	66.6	38	97.4	15	38.4	15	38.4

n: >6 log kob/g b: pozitif örnek oranı (%)

Tablo 2. Balık Örneklerindeki Enterobakteri, Total Koliform, *E. coli* ve *Salmonella* spp. Düzeyleri

Tablo 2. Levels of Enterobacter, Total of Coliforms, *E. coli* and *Salmonella* spp. in Fish Samples

Örnek	Enterobakteri		Total koliform		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Salmonella</i> spp.	
	(>4 log kob/g)	n (%) b	(>4 log kob/g)	n (%) b	(>4 log kob/g)	n (%) b	(>2 log kob/g)	n (%) b	n (%) b	
Çupra	37	86	28	65.1	2	4.65	9	20.9	1	1.2
Levrek	36	92.3	28	71.7	1	2.56	-	-	-	-

n: pozitif örnek sayısı b: pozitif örnek oranı (%)

SONUÇ

Avrupa Birliği’nde (AB) 2010 yılından itibaren, balıkların toptan alımı ve depolanması aşamasında mikrobiyolojik tehlikeleri kontrol etmeye yönelik olarak, alım aşamasında hammadde için “menşe belgesi” ve “sertifika alma” olarak adlandırılan yeni bir AB düzenlemesi uygulanmaktadır (EC, 2008; EC, 2010). Kalite kontrol/güvenlik personeli veya alımdan sorumlu diğer personeller hammaddenin (balık) güvenli bir alandan (çiftlik veya toplama alanı) gelip gelmediğini kontrol etmekle yükümlüdür. Balık ve diğer malzemelerle birlikte paketleme malzemeleri için de benzer bir tutum uygulanmaktadır. Gelen materyal güvenilir olmayan bir kaynaktan temin edildiyse, personel ürünü reddetme hakkına sahiptir. Her ne kadar gelen materyaller için gıda güvenliği açısından gereklili sertifikaları kontrol etmek önleyici tedbirler için yeterli olsa da, HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point-Tehlike Analizi Kritik Kontrol Noktası) planının bir parçası olan doğrulama prosedürleri için zaman zaman numunelerin akredite bir laboratuvara gönderilmesi önerilmektedir.

Balık, üretimden ya da avlanmadan itibaren tüketim noktalarına ulaşana kadar dağıtım, işleme ve muhafaza aşamalarında oldukça hızlı ve kolay bozulabilen bir gıdadır. Taze balığın ve deniz ürünlerinin bozulmasında kompleks bir mikroflora rol oynamaktadır. Taze balıkların, balıkçılarda işlem

öncesi faaliyetlere bağlı olarak bozulmaya başladığı ve bu balıkların donduruluktan sonraki aşamalarda yetersiz ve uygun olmayan satış koşullarında bulunması, bozulma sürecini hızlandıran önemli faktörler arasında değerlendirilmektedir. Balıkların genel mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrü üzerine etkili olan aerob mezofil ve psikrofil mikroorganizmalar saprofit nitelikte olduklarından balıklardaki düzeyleri bozulma sürecine direkt etki etmektedir. Spesifik patojenler ile indikatör mikroorganizmaların ürünündeki varlığı, özellikle az pişmiş ya da çiğ tüketim durumlarında ciddi halk sağlığı tehlikeleri ile ilişkilendirilmektedir. Yerel balıkçılarda, sağıksız depolama tesisleri ve uygun olmayan muhafaza sıcaklıklarına bağlı olarak şekillenen hızlı bakteriyel çoğalma, özellikle Afyonkarahisar gibi deniz balıklarının uzun transport süreçlerinden sonra geldiği şehirlerde, önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak, tüm taze balık satış noktalarında (örn., taze balık satıcılar, toptancılar, marketler) düzenli denetimlerin yapılmasının, kontaminasyon kaynaklarının en aza indirilebilmesi için hijyen eğitimlerinin verilmesinin, taze balığa ilişkin mikrobiyal limit değerlerin belirlenmesinin halk sağlığını korunması noktasında gerekli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Acco M, Ferreira FS, Henriques JAP, Tondo EC.** Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. *Food Microbiology*. 2003; 20(5): 489-493.
- Adenike OMojisola.** The effect of different processing methods on the nutritional quality and microbiological status of cat fish (*Clarias lezera*). *Food Processing and Technology*. 2014; 5:6.
- Adeyemo OK.** Consequences of Pollution and Degradation of Nigerian Aquatic environment on Fisheries Resources. *The Environmentalist* 2003; 23(4): 297-306.
- Alak G, Hisar SA, Hisar O, Kaban G, Kaya M.** Microbiological and chemical properties of bonito fish (*Sarda sarda*) fillets packaged with chitosan film, modified atmosphere and vacuum. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2010; 16: 73-80.
- Alparslan Y, Metin C, Hasanhocaoğlu Yapıcı H, Baygar T.** Köyceğiz lagününde avlanan kefal türlerinin duysal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*. 2017; 3(4): 160-170.
- Alvarez Pellitero P.** Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2008; 126: 171-198.
- Anon.** Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229m3-6.htm>. 2011; Ankara.
- Anon.** Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri İstatistikleri. www.turkstat.gov.tr/seb/Belgeler/SagM/enuVeriler/BSGM.pdf. 2018; Ankara.
- Attouchi M, Sadok S.** The effect of powdered thyme sprinkling on quality changes of wild and farmed gilthead sea bream fillets stored in ice. *Food Chemistry*. 2010; 119: 1527-1534.
- Ayulo AMR, Machado RA, Scussel VM.** Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *International Journal of Food Microbiology*. 1994; 24(1-2): 171-178.
- Begum M, Abu Ahmed AT, Das M, Parveen S.** A comparative microbiological assessment of five types of selected fishes collected from two different market. *Advances in Biological Research*. 2010; 4(5): 259-265.
- Bennett RW, Lancette GA:** *Staphylococcus aureus*. In, *Bacteriological Analytical Manual*. 7th ed. 1992; 161-164, AOAC, Arlington.
- Blood RM, Curtis GDW.** Media for 'total' enterobacteriaceae, coliforms and *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology*. 1995; 26(1): 93-115.
- Bojanic KL, Kozacinski I, Filipovic Z, Cvrtila N, Zdolec NB.** Quality of sea bass meat during storage on ice. *MESO*. 2009; 11: 70-74.
- Boulares M, Mejri L, Hassouna M.** Study of the microbial ecology of wild and aquacultured Tunisian fresh fish. *Journal of Food Protection*. 2011; 74(10): 1762-1768.
- Boulares M, Mankai M, Aoudhi C, Moussa Olfa B, Hassouna M.** Characterisation and identification of spoilage psychrotrophic Gram-negative bacteria originating from Tunisian fresh fish. *Annual of Microbiology*. 2013; 63: 733-744.
- Budiat T, Rusul G, Wan-Abdulla WN, Ahmad R, Mat Arip Y.** Microbiological Quality of Catfish (*Clarias Gariepinus*) and Tilapia (*Tilapia Mossambica*) Obtained from Wet Markets and Ponds in Malaysia. *Aquaculture Research and Development*. 2015; 6: 1.
- Buras N, Duek L, Niv S, Hepher B, Sandbank E.** Microbiological aspects of fish grown in treated wastewater. *Water Research*. 1987; 21(1): 1-10.
- Cardinal M, Gunnlaugsdottir H, Bjoernevik M, Ouisse A, Vallet JL.** Sensory characteristics of cold-smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) from European market and relationships with chemical, physical and microbiological measurements. *Food Research International*. 2004; 37: 181-193.
- Chytiri S, Chouliara I, Savvaidis IN, Kontominas MG.** Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*. 2004; 21: 157-165.
- Cousin MA, Jay JM, Vasavada PC.** Psychrotrophic microorganisms, In: Downes FP., Ito K. (Eds.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 2001; 159-166.
- De Boer E.** Update on media for isolation of enterobacteriaceae from foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1998; 45(1): 43-53.
- Del Rio-Rodriguez, Inglis V, Millar SD.** Survival of *Escherichia coli* in the intestine of fish. *Aquaculture Research*. 1997; 28: 257-264.
- Diercke M, Kirchner M, Claussen K, Mayr E.** Transmission of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 at a family party possibly due to contamination by a food handler, Germany 2011. *Epidemiology and Infection*. 2014; 142(1): 99-106.
- Diop MB, Destain J, Tine E, Thonart P.** Les produits de la mer au sénégal et le potentiel des bactéries lactiques et des bactériocines pour la conservation. *Biotechnology Agronomy Society and Environment*. 2010; 14: 341-350.
- EC.** Establishing a community system to prevent, deter and eliminate illegal, unreported and unregulated fishing, amending regulations (EEC) No 2847/93, (EC) No 1936/2001 and (EC) No 601/2004 and repealing regulations (EC) No 1093/94 and (EC) No 1447/1999. 2008; <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:286:0001:0032>.
- EC.** Summary record of the meeting of working group 3 (markets and trade policy) of the advisory committee on fisheries and aquaculture. 2010; http://ec.europa.eu/fisheries/dialog/acfa120608_en.pdf

- El-Shafai SA, Gijzen HJ, Nasr FA, El-Gohary FA.** Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. Environmental Research. 2004; 95(2): 231-238.
- Fagan RP, McLaughlin JB, Castrodale LJ, Gessner BD, Jenkerson SA, Funk EA, Hennessy TW, Middaugh JP, Butler JC.** Endemic Foodborne Botulism among Alaska Native Persons-Alaska, 1947–2007. Clinical Infectious Diseases. 2011; 52(5): 585–592.
- FAO.** Food and Drug Administration. Report of the global conference on Aquaculture 2010. Farming the waters for people and food. FAO Fisheries and Aquaculture. 2012; 84, Rome.
- Fattal B, Dotan A, Tchorsh Y.** Rates of experimental microbiological contamination of fish exposed to polluted water. Water Research. 1992; 26(12): 1621-1627.
- Flowers RS, D'aoust JY, Andrews WH, Bailcy JS.** *Salmonella*. In, Compendium of the Methods for the Microbiological Examination of Foods. 1992; 685.
- Franzetti L, Scarpellini M, Mora D, Galli A.** *Carnobacterium* spp. in seafood packaged in modified atmosphere. Annual of Microbiology. 2003; 53: 189-198.
- Galvez A, Abriouel H, Ben Omar N, Lucas R.** Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. Current Opinion Biotechnology. 2010; 21: 142-148.
- Gerokomou V, Voidarou C, Vatopoulos A, Velonakis E, Rozos G, Alexopoulos A, Plessas S, Stavropoulou E, Bezirtzoglou E, Demertzis PG, Akrida-Demertzis K.** Physical, chemical and microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in Greece and its public health implications. Anaerobe. 2011; 17(6): 351-353.
- Ghaly AE, Dave D, Budge S, Brooks MS.** Fish spoilage mechanism and preservation techniques review. American Journal of Applied Sciences. 2010; 7(7): 859-877.
- Gram L, Huss HH.** Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology. 1996; 33 121-137.
- Goja AM.** Microbiological assessment of three types of fresh fish (*Tilapia niloticus*, *Labeo niloticus* and *Hydrocynus* spp.) sold in Ed Dueim, Sudan. New York Science Journal. 2013; 6(4): 49-54.
- Gram L, Dalgaard P.** Fish spoilage bacteria – problems and solutions. Current Opinion Biotechnology. 2002; 13: 262-266.
- Gram L, Huss HH.** Fresh and processed fish and shellfish. In: Lund BM, Baird-Parker AC, Gould GW (eds) The microbiological safety and quality of foods, 1st edn. Chapman and Hall, London. 2000; 472-506.
- Guzman MC, Bistoni MA, Tamagni LM, Gonzalez RD.** Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. Water Research. 2004; 38(9): 2368-2374.
- Hernandez MD, Lopez MB, Alvarez A, Ferrandini E, Garcia GB, Garrido MD.** Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. Food Chemistry. 2009; 114: 237-245.
- Huang SL, Weng YM, Chiou RYY.** Survival of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as Affected by Ethanol and NaCl. Journal of Food Protection. 2001; 64(4): 546-550.
- International Organization for Standardization (ISO 15214).** Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal methods for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at 30°C. 1998; Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization (ISO/DIS 17410).** Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. 2001; Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization (ISO 6579).** Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizonal method for the detection of *Salmonella* spp. 2002; Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization (ISO 4833).** Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizonal methods for the enumeration of microorganisms. Colony-count technique at 30°C. 2003; Geneva, Switzerland.
- İnanlı AG, Karaton N, Çoban ÖE.** Sensoral, chemical and microbiological quality of anchovy cake. African Journal of Biotechnology. 2011; 10(48): 98-70-9874.
- Jain S, Chen L, Dechet A, Hertz AT, Brus DL, Hanley K, Wilson B, Frank J, Greene KD, Parsons M, Bopp CA, Todd R, Hoekstra M, Mintz ED, Ram PK.** An Outbreak of Enterotoxigenic Escherichia coli Associated with Sushi Restaurants in Nevada, 2004. Clinical Infectious Diseases 2008; 47:1-7.
- Jablonski LM, Bohach G.** *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. 2001; ASM Press, Washington, DC.
- Jacobsen C, Bekaert K, Saebo A and Oehlenschläger J.** Seafood Research from Fish to Dish - Quality, Safety & Processing of Wild and Farmed Seafood. Wageningen Academic Publishers. 2006; Netherlands.
- Joffraud JJ, Leroi F, Roy C, Berdagüé JL.** Characterization of volatile compounds produced by bacteria isolated from the spoilage flora of cold-smoked salmon. International Journal of Food Microbiology. 2001; 66: 175-184.
- Junior PG, Assunção AWA, Baldin JC, Amaral LA.** Microbiological quality of whole and filleted shelf-tilapia. Aquaculture. 2014; 433: 196-200.
- Kocatepe D, Taşkaya G, Kaya Y, Turan H, Erkoyuncu İ.** Farklı balıkçı tezgahlarının mikrobiyolojik yönünden incelenmesi. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi. 2011; 4(2): 73-77.
- Kapute F, Likongwe J, Kang'ombe J, Kiiyukia C, Mpeketula P.** Quality assessment of fresh lake *Malawi Tilapia* (Chambo) collected from selected local and super markets in Malawi. Internet Journal of Food Safety. 2012; 14: 112-120.
- Kasai K, Ishikawa T, Komata T, Fukuchi K, Chiba M, Nozaka H, Nakamura T, Sato T, Miura T.** Novel L-amino acid oxidase with antibacterial activity against methicillin-resistant *aureus* *Staphylococcus* isolated from epidermal mucus of the flounder *stellatus Platichthys*. The FEBS Journal. 2010; 277: 453-465.
- Kostic AD, Howitt MR, Garrett WS.** Exploring host-microbiota interactions in animal models and humans. Genes and Development. 2013; 27: 701-718.
- Koutsoumanis K, Giannakourou MC, Taoukis PS, Nychas GJE.** Application of shelf life decision system (SLDS) to

- marine cultured fish quality. International Journal of Food Microbiology. 2002; 73: 375-382.
- Ligia AS, Prinyawiwatkul W, King JM, Kyoong H, Bankston JD, Ge B.** Effect of preservatives on microbial safety and quality of smoked blue catfish (*Ictalurus furcatus*) steaks during roomtemperature storage. Food Microbiology. 2008; 8: 958-963.
- Long Y, Li Q, Zhou B, Song G, Li T, Cui Z.** De novo assembly of mud loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) skin transcriptome to identify putative genes involved in immunity and epidermal mucus secretion. Plos One. 2013; 8(2): 1-14.
- Lyhs U, Korkeala H, Vandamme P, Bjorkroth J.** *Lactobacillus alimentarius*: a specific spoilage organism in marinated herring. International Journal of Food Microbiology. 2001; 64: 355-360.
- Matamoros S, Pilet MF, Gigout F, Prevost H, Leroi F.** Selection of psychrotrophic bacteria active against spoilage and pathogenic micro-organisms relevant for seafood products. 2006; Wageningen Academic Publishers. 2006; Netherlands.
- Mol S., Tosun SY.** The quality of fish from retail markets in Istanbul, Turkey. Journal of Fisheries Sciences. 2011; 5(1): 16-25.
- Nelson JS, Grande TC, Wilson MVH.** Fishes of the World. John Wiley and Sons Publishers. 2016; Canada.
- Nilla SS, Khan AR, Khan MR, Ahsan DA, Mustafa G.** Bacteriological quality of marketed mola fish, *Amblypharyngodon mola* from Dhaka metropolis. Bangladesh Journal of Zoology. 2012; 40(1): 77-88.
- Nygren BL, Schilling KA, Blanton EM, Silk BJ.** Foodborne outbreaks of shigellosis in the USA, 1998-2008. Epidemiology and Infection. 2013; 141(2): 233-241.
- Odu NN, Imaku LN.** Assesment of the microbiological quality of street-vended ready-to-eat bole (roasted plantain) fish (*Trachurus Trachurus*) in port harcourt metropolis, Nigeria. Researcher. 2013; 5(3): 9-18.
- Ozden O, Inugur M, Erkan N.** Effect of different dose gamma radiation and refrigeration on the chemical and sensory properties and microbiological status of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Radiation Physics and Chemistry. 2007; 76: 1169-1178.
- Pal D, Gupta CD.** Microbial pollution in water and its effect on fish. Journal Aquatic Animal Health. 1992; 4: 32-39.
- Pierard D, Crowcroft N, De bock S, Potters D, Crabbe G, Van loock F, Lauwers S.** A case-control study of sporadic infection with O157 and non-O157 verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Epidemiology and Infection. 1999; 122(3): 359-365.
- Pillay TVR.** Water and wastewater use. In, Pillay TVR. Aquaculture and the environment. Cambridge University Press. 1992; 49-55, England.
- Poli MB, Parisi G, Zambacavallo G, Mecatti M, Lupi P, Gualtieri M, Franci O.** Quality outline of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in Italy: shelf life, edible yield, nutritional and dietetic traits. Aquaculture. 2001; 202: 303-313.
- Popovic NT, Skukan AB, Dzidara P, Coz-Rakovac R, Strunjak-Perovic I, Kozacinski L, Jadan M, Brlek-Gorski D.** Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. Veterinarni Medicina. 2010; 55(5): 233-241.
- Rakers S, Gebert M, Uppalapati S, Meyer W, Maderson P, Sell AF, Kruse C.** Fish matters': the relevance of fish skin biology to investigative dermatology. Experimental Dermatology. 2010; 19(4): 313-324.
- Rahal EG, Abd El Rahman H, Ismail SAS.** Bacteriological Quality Assessment of Pagha fish (*Trachurus Indicus*) in Suez city fish markets. Department of Food Hygiene and Control, Faculty of Veterinary Medicine. Suez Canal University. 1981; 1-9.
- Redmond EC, Griffith CJ.** The importance of hygiene in the domestic kitchen; implications for preparation and storage of food and infant Formula. Perspective Public Health. 2009; 129: 69-76.
- Roberts TA, Cordier JL, Gram L, Tompkin RB, Pitt JI, Gorris LGM, Swanson KMJ.** Fish and fish products microorganisms in food. Springer. 2005; 174-249, USA.
- Satomi M.** Scombrotoxic (histamine) poisoning associated with seafood. In, Bari L, Yamazaki K. Seafood Safety and Quality. 2018; Chapter 12, CRC Press, US. Shao D, Shi Z, Wei J , Ma Z. A brief review of foodborne zoonoses in China. Epidemiology and Infection. 2011; 139(10): 1497-1504.
- Suhalima R, Huang YW, Burttleb GJ.** Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in channel catfish pond and holding tank water. LWT. 2008; 41: 1116-1121.
- Tavakoli HR, Soltani M, Bahonar A.** Isolation of some human pathogens from fresh and smoked shad (*Alosa kessleri*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2012; 11(2): 424-429.
- Tripathy S, Kumar N, Mohanty S, Samanta M, Mandal RN, Maiti NK.** Characterisation of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from freshwater culture systems. Microbiology Research. 2007; 162: 391-396.
- Vollaard AM, Ali S, Van Asten HAGH , Ismid IS, Widjaja S, Visser LG, Surjadi Ch, Van Dissel JT.** Risk factors for transmission of foodborne illness in restaurants and street vendors in Jakarta, Indonesia. Epidemiology and Infection. 2004; 132(5): 863-872.