

ارزیابی کیفیت میکروبی بستنی‌های سنتی عرضه شده در سطح استان آذربایجان شرقی

رضا محمدزاده خلخالی^۱، مسعود فردین^۲، احمد سبزی بلخکانلو^۳، فرشاد فرهادی^۴، رامین ابری^{۱*}

چکیده

بستنی به عنوان یک محصول شیری پرطرفدار در فصل تابستان با توجه به ماهیت فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌ها است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی میزان آلودگی میکروبی بستنی‌های سنتی عرضه شده در سطح استان آذربایجان شرقی می‌باشد. در این مطالعه بررسی آلودگی‌های میکروبی بستنی‌های سنتی عرضه شده در سطح استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ انجام شد. تعداد ۲۷۴ نمونه بستنی به طور تصادفی از مراکز عرضه بستنی سنتی جمع‌آوری و از نظر شناسایی استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، اشرشیاکلی، سالمونلا و شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و انتروباکتریاسه نسبت به شرایط استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۰۶ مورد مطالعه قرار گرفت. تمامی آزمون‌ها طبق استاندارد ملی ایران کشت و با انجام تست‌های تاییدی شناسایی و شمارش گردید. تعداد ۳۳۴ نمونه (۸۵/۴٪) بر اساس حد مجاز تعیین شده از سوی اداره استاندارد ایران غیرقابل مصرف بودند. در ۱۸/۲٪ از نمونه‌ها استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، ۱۰/۹٪ اشرشیاکلی جداسازی شد و در ۷۲/۲٪ و ۸۰/۲٪ از نمونه‌ها به ترتیب از نظر شمارش انتروباکتریاسه و شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها بیشتر از حد مجاز بودند. هیچیک از نمونه‌ها به سالمونلا آلوده نبودند. نتایج تحقیق نشانگر آلودگی میکروبی بالای نمونه‌های مورد مطالعه داشت. از این رو ضرورت استفاده از استاندارد‌های سخت‌گیرانه از سوی ارگان‌های دخیل در مواد غذایی، نظارت دقیق بهداشتی و کنترل همه جانبه تمامی مراحل تولید را نشان می‌دهد و همچنین لزوم ارائه آموزشهای بهداشتی به پرسنل تولیدکنندگان بستنی را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: بستنی سنتی، آلودگی میکروبی، استان آذربایجان شرقی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۸۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۱

مقدمه

امروزه با افزایش آگاهی‌های عمومی نسبت به نقش تغذیه در سلامتی، تقاضا برای مصرف فرآورده‌های لبنی بیش از پیش فزونی یافته است. لبنیات به عنوان یک پایه غذایی اصلی در

بسیاری از رژیم‌های غذایی و منبعی غنی از مواد مغذی ضروری بدن انسان محسوب می‌شوند، یکی از جالب‌ترین و پرطرفدارترین فرآورده‌های لبنی، تولید بستنی است (۱). خوردن بستنی تجربه لذت بخشی است که ناشی از طعم مطلوب و بافت منحصر به فرد آن است. انواع بسیار زیادی از بستنی در طعم‌ها، رنگ‌ها و بافت‌های متفاوت در نقاط مختلف دنیا تولید می‌شوند. در کشور ما نیز تولید و مصرف بستنی از اواخر دوره ناصرالدین شاه در ایران شروع شده و دارای طرفداران بسیار زیادی است و از سالیان دور تولید بستنی سنتی مرسوم بوده است (۲، ۳). بستنی بدلیل ارزش غذایی بالا علاوه بر تأمین بخش قابل توجهی از منابع انرژی بدن از جمله انواع املاح و ویتامین‌ها، موجب تقویت سیستم ایمنی بویژه در کودکان می‌شود (۴).

فرآورده بستنی به دلیل داشتن محیط مغذی و pH (۶-۷) خنثی و دوره نگهداری طولانی مدت، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا و مولد فساد محسوب می‌گردد. در تولید صنعتی، مراحل پاستوریزاسیون، فریز کردن و سفت شدن، می‌تواند اکثر باکتری‌های بیماریزا را از بین ببرد. با این حال محصول نهایی بعد از پاستوریزاسیون نیز ممکن است از طریق افزودنی‌های آلوده و دستکاری نامناسب مجدداً آلوده شوند (۳، ۵). اما در تولید سنتی آن که در ایران هم بسیار رواج دارد، به دلیل استفاده از شیرهای غیر-پاستوریزه و عدم رعایت دمای پاستوریزاسیون و حرارت نا-کافی و یا تاخیر احتمالی که بین پخت شیر و مرحله انجماد روی می‌دهد، همچنین عدم رعایت موازین بهداشت فردی و محیطی در طول روند تولید و توزیع آن می‌تواند زمینه‌ساز

۱- مرکز تحقیقات ایمنی غذا و دارو، پژوهشکده مدیریت سلامت و ارتقای ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (abrir@tbzmed.ac.ir)

۲- گروه میکروبیولوژی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

۳- انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و علوم صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

مواد و روش کار

این مطالعه به صورت تحلیلی- توصیفی بوده و به شکل مقطعی انجام شده است. روش نمونه‌گیری در این پژوهش تمام‌شماری بود، لذا تمام بستنی‌های سنتی ارسالی به آزمایشگاه از اول سال ۱۳۹۷ تا پایان سال ۱۳۹۸ که جمعاً ۲۷۴ نمونه بود، به عنوان نمونه مورد آزمایش قرار گرفتند. نمونه‌برداری از قنادی، مغازه و کافی شاپ‌های تولید کننده بستنی سنتی در سطح استان آذربایجان شرقی صورت گرفت و نمونه‌ها در شرایط استریل و با استفاده از cold box و حفظ زنجیره سرما حداکثر طی دو ساعت به آزمایشگاه مرجع کنترل کیفی مواد غذایی در تبریز منتقل گردید.

تمامی آزمون‌های روتین بستنی شامل شناسایی باکتری‌های اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، سالمونلا و شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و اتریباکتریاسه، طبق استاندارد ملی ایران (استانداردهای ۲۹۴۶، ۳-۶۸۰۶، ۱۸۱۰، ۱-۵۲۷۲، ۲-۲۴۶۱) کشت و با انجام تست‌های تاییدی شناسایی و شمارش گردید (۹-۱۳). در پایان نتایج بدست آمده، با توجه به حد مجاز ویژگی‌های میکروبی مندرج در استاندارد ملی شماره ۲۴۰۶ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

آلودگی میکروبی بستنی‌های سنتی براساس آزمایشات میکروبی انجام شده به ترتیب شامل: استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت ۱۸/۲٪ (۵۰ نمونه)، اشریشیاکلی ۱۰/۹٪ (۳۰ نمونه) بوده و هیچ مورد آلودگی به سالمونلا مشاهده نگردید. و در ۷۲/۲٪ (۱۹۸ نمونه) از نمونه‌ها شمارش اتریباکتریاسه و در ۸۰/۲٪ (۲۲۰ نمونه) از نمونه‌ها شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بودند.

بسیاری از آلودگی‌های میکروبی شود. علاوه بر این با توجه به اینکه بستنی‌های سنتی غالباً به صورت فله‌ای به فروش می‌رسد، شرایط نگهداری نامناسب و عدم رعایت زنجیره سرما و نیز فروش دستی آن کیفیت میکروبی محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۶، ۷). تحقیقات فراوانی در مورد کیفیت میکروبی بستنی‌های سنتی انجام شده است. برخی از تحقیقات انجام شده در ایران توسط حسن‌زاد آذر و همکاران (۱۳۹۱)، میزان آلودگی در بستنی‌های سنتی شهرستان ارومیه بسیار بالا بود و ۷۸٪ از تولیدات مراکز تهیه و توزیع بستنی‌های سنتی، آلودگی داشتند.

در ۸۲٪ از نمونه‌های آلوده شمارش باکتری‌های اتریباکتریاسه بیش از ۱۰ CFU/g بود، ۵۲/۲٪ نمونه‌ها به اشریشیاکلی، ۲/۸٪ به استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت آلوده بودند. آلودگی به سالمونلا در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد (۴). سادات امامی و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد از ۸۰ نمونه بستنی سنتی شهر کرمانشاه ۱۳۸۷، بطور کلی ۷۷/۵٪ از نمونه‌ها دارای آلودگی باکتریایی بیش از حد مجاز بودند. ۷۳/۷۵٪ از نمونه‌ها شمارش کلی میکروارگانیسم و ۶۷/۵٪ از نمونه‌ها شمارش کلیفرم بیش از حد مجاز داشتند. همچنین ۳۷/۵٪ از نمونه‌ها به اشریشیاکلی و ۲۸/۷۵٪ به استافیلوکوکوس اورثوس آلوده بودند. در این مطالعه نیز هیچ نمونه آلوده به سالمونلا یافت نشد (۸).

بنابراین با توجه به پتانسیلی که این استان در جذب گردشگری غذایی دارد، توجه به ارتقای بهداشت مواد غذایی، پایش و کنترل مستمر آلودگی‌های میکروبی بستنی‌های سنتی، در راستای به حداقل رساندن مخاطرات جانی و کاهش زیان‌های اقتصادی ناشی از این آلودگی‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

جدول ۱-۱: نتایج مقایسه آزمون‌های میکروبی در بستنی سنتی نسبت به استاندارد ملی ایران

آزمون	تعداد نمونه آلوده	نمونه غیر آلوده	حداکثر مجاز استاندارد	تطابق
شناسایی استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت	۵۰	۲۲۴	منفی	غیر قابل قبول
شناسایی اشرشیاکلی	۳۰	۲۴۴	منفی	غیر قابل قبول
شمارش انتروباکتریاسه	۱۹۸	۷۶	۱×۱۰	غیر قابل قبول
شمارش کلی میکروارگانیسیم‌ها	۲۲۰	۵۴	۵×۱۰ ^۴	غیر قابل قبول
شناسایی سالمونلا	۰	۲۷۴	منفی	قابل قبول

بحث

می‌باشد. شمارش انتروباکتریاسه و کلی‌فرم‌ها در مواد غذایی به عنوان یک شاخص بهداشت غذایی قابل توجهی دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که ۷۲/۲٪ از نمونه‌های بستنی سنتی از نظر شمارش انتروباکتریاسه بالاتر از حد استاندارد ملی ایران (۱۰ کلنی در گرم) بود. در مطالعات انجام گرفته توسط قدیمی و همکاران (۸۹/۴۸٪) از نمونه‌ها و در مطالعه صالحیان و همکاران نیز ۷۰٪ از نمونه‌ها از نظر شمارش انتروباکتریاسه آلوده گزارش شدند، که با مطالعه حاضر همخوانی داشتند (۷، ۱۵). بطور کلی مقادیر بالای آلودگی به انتروباکتریاسه در محصولات یک واحد تولیدی، نشان‌دهنده وضعیت نامناسب اصول بهداشتی در آن واحد می‌باشد، که ممکن است آلودگی به علت استفاده از شیر غیرپاستوریزه، آب و افزودنی‌های آلوده، ظروف آلوده، احتمال آلودگی در حد فاصل بین حرارت دادن تا فرآوری و همچنین به علت عدم رعایت بهداشت فردی و محیطی در طول تهیه و عرضه این فرآورده‌ها می‌باشد. همچنین ۱۸/۲٪ از بستنی‌های مورد آزمایش، آلوده به استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت بودند. در مطالعات مشابه Gundogan و همکاران در کشور ترکیه ۳۶٪ نمونه‌ها و قدیمی و همکاران در همدان ۵۰٪ از نمونه‌ها را آلوده به استافیلوکوکوس‌های

امروزه میزان تولید و مصرف سرانه بستنی در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران به سرعت افزایش یافته است. بستنی به عنوان یک فرآورده لبنی مغذی، محیط مناسبی برای رشد و تکثیر میکروارگانیسیم‌های مختلف و انتقال عوامل میکروبی ایجاد کننده عفونت یا مسمومیت غذایی به مصرف کنندگان است. یافته‌های حاصل از بررسی حاضر، نشان‌دهنده بالا بودن احتمال بروز آلودگی‌های میکروبی مختلف در بستنی‌های سنتی و انتقال آن به مصرف کنندگان را تایید می‌نماید. بر اساس نتایج این مطالعه، ۸۵/۴٪ از نمونه‌ها از نظر استاندارد ملی ایران، صلاحیت مصرف خوراکی را نداشتند. در اکثر مطالعات مشابه در ایران و سایر کشورها نیز، آلودگی قابل توجهی را در بستنی‌های سنتی گزارش کردند. در یک بررسی توسط Yaman و همکاران میزان آلودگی در بستنی‌های سنتی را ۷۸٪ اعلام کردند (۱۴). در مطالعات مشابه دیگر در سایر شهرهای ایران نیز نتایج مشابه با مطالعه حاضر گزارش کردند (۶، ۱۵). نتایج حاصل از مطالعه حاضر و سایر مطالعات مشابه، نشانگر وضعیت غیربهداشتی و غیرقابل قبول بستنی‌های سنتی عرضه شده

همکاران آلودگی بستنی‌های سنتی را به ترتیب ۵۰/۲٪ و ۵۰٪ اعلام کردند (۴، ۱۵). اکثر نتایج این مطالعات به مراتب بالاتر از نتایج مطالعه حاضر بود. آلودگی زیاد به این باکتری می‌تواند نشان دهنده آلودگی‌های ثانویه از طریق دست‌های آلوده و عدم استفاده از دستکش در مراکز تهیه و توزیع، آب آلوده و یا از طریق سرد کردن شیر در شرایط نامناسب یا ظرف آلوده باشد (۱۶، ۱۹). همچنین ۸۰/۲٪ از بستنی‌های مورد آزمایش از نظر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها غیرقابل مصرف بوده‌اند. تحقیقات در نقاط مختلف دنیا نتایج مشابهی از آلودگی و غیرقابل مصرف بودن بستنی‌های سنتی را در کشورهایی که به صورت فله‌ای و غیر بسته‌بندی عرضه می‌شود نشان می‌دهد. در مطالعات انجام شده به وسیله صالحیان و همکاران در مازندران و ابوالحسن‌نژاد و همکاران در بیرجند به ترتیب ۷۴٪ و ۷۳/۹۵٪ از نمونه‌های آلوده از نظر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها بالاتر از حد مجاز (5×10^4) بودند، که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۶، ۱۵). در این مطالعه در هیچ کدام از نمونه‌ها سالمونلا شناسایی نشد. عدم جداسازی این باکتری در دیگر مطالعات نیز گزارش شده است (۴، ۷)، که ممکن است دلیل تراکم سایر میکروارگانیسم‌ها و تاثیر ممانعت کننده آن‌ها بر روی رشد سالمونلا باشد و همچنین نباید مشکلات جداسازی و کشت آن‌ها را بی‌تاثیر دانست. با وجود این مشکلات، در بعضی از مطالعات میزان جداسازی این باکتری را از ۳/۷٪ تا ۴۶٪ گزارش کردند (۲۰، ۲۱). به نظر می‌رسد، از آنجایی که در کشور ما این فرآورده‌های لبنی در واحدهای کوچک و بدون نظارت کافی از سوی سازمان‌های متولی بهداشت مواد غذایی تولید می‌شوند و افرادی هم که در این واحدهای تولیدی کار می‌کنند، بدون گذراندن آموزش‌های بهداشتی لازم پا به عرصه تولید و عرضه این فرآورده لبنی پرطرفدار گذاشته‌اند. بنابراین این فرآورده‌های لبنی از وضعیت میکروبی مطلوبی برخوردار نمی‌باشند، که ارزیابی نتایج این

کواگولاز مثبت گزارش کردند (۷، ۱۶)، که نتایج این مطالعات با پژوهش حاضر تا حد زیادی همخوانی دارند. بر خلاف این مطالعات در یک مطالعه مشابه دیگر توسط حسن‌زاد آذر و همکاران، فقط در ۲/۸٪ از نمونه‌ها شناسایی کردند (۴). با توجه به اینکه در افراد زیادی این باکتری به عنوان فلور نرمال در بینی و اطراف بینی وجود دارد، می‌تواند بطور مستقیم از طریق جراحات پوستی آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس کارگران و یا از طریق عطسه و سرفه منتقل شود، بنابراین عدم رعایت بهداشت فردی کارگران، استفاده نکردن از دستکش و ماسک در حین تولید و فروش، موجب انتقال این باکتری به این محصولات خواهد شد. همچنین از طریق آب، خاک، گرد و غبار و هوا نیز منتشر می‌شود، از طرفی با توجه به اینکه شیر و دیگر فرآورده‌های شیری مانند بستنی، یک محیط غنی و ایده‌آل برای رشد اکثر باکتری‌های بیماری‌زا و مولد فساد می‌باشد، لذا در شیر دام‌های مبتلا به ورم پستان استافیلوکوکوسی احتمال آلودگی و انتقال آن به فرآورده‌های شیری حاصل از آن بسیار بالا می‌باشد (۱۷). اشیریشیاکلی به عنوان یک شاخص آلودگی‌های مدفوعی در مواد غذایی بکار می‌رود. در سال ۱۹۸۲، شاردینگر پیشنهاد نمود که به جهت آسان بودن جداسازی اشیریشیاکلی نسبت به سایر پاتوژن‌های روده‌ای، به عنوان یک باکتری اندیکاتور برای تعیین آلودگی مدفوعی مواد غذایی به کار گرفته شود. وجود اشیریشیاکلی در غذا می‌تواند بیانگر احتمال وجود سایر میکروارگانیسم‌های روده‌ای در غذا باشد. بر اساس نتایج این مطالعه، ۱۰/۹٪ از بستنی‌های سنتی آلوده به اشیریشیاکلی بوده‌اند. در مطالعه Gundogan و همکاران در کشور ترکیه، آلودگی بستنی‌های سنتی به اشیریشیاکلی را ۵۶٪ گزارش کردند (۱۶). در دیگر مطالعات انجام گرفته در کشور ترکیه نیز در ۲۹/۲٪ و ۲۰/۵٪ از بستنی‌ها آلودگی به اشیریشیاکلی را گزارش کردند (۱۴، ۱۸). در مطالعه حسن‌زاد و همکاران و صالحیان و

فهرست منابع

1. Samir H, Younis W, Sultan S, Abd El-Azeem M. Isolation of Staphylococcus aureus from Ice-Cream Samples. *J Vet Ani Res.* 2018;1:204.
2. Movassagh MH, Movassagh A, Mahmoodi H, Servatkah F, Sourorbakhsh MR. Microbiological contamination of the traditional chocolate Ice cream sold in the Northwest Region of Iran. *Global Vet.* 2011;6(3):269-71.
3. Homayouni A, Javadi M, Ansari F, Pourjafar H, Jafarzadeh M, Barzegar A. Advanced methods in ice cream analysis: A review. *Food Anal Methods.* 2018;11(11):3224-34.
4. Hassanzadazar H, Abdollahi R, Haj Gholizadeh G, Dalir Rad M, Mehdizadeh T. Investigating of the bacteriological contamination in traditionally manufactured ice creams in Urmia city. *Food Hyg.* 2012;2(1 (5)):1-9.
5. Kanbakan U, Con A, Ayar A. Determination of microbiological contamination sources during ice cream production in Denizli, Turkey. *Food Control.* 2004;15(6):463-70.
6. Abolhasannezhad M, Sharifzadeh G, Naseri K, Abedi A, Yosefi S, Nakhaei A. Prevalence of microbial contamination of traditional ice-creams in ice-cream supplier trade units in Birjand in 2015. *J Birjand Uni Med Sci.* 2017;24(1):73-8.
7. Ghadimi S, Heshmati A, Shafa MA, Nooshkam M. Microbial Quality and Antimicrobial Resistance of Staphylococcus aureus and Escherichia coli Isolated from Traditional Ice Cream in Hamadan City, West of Iran. *Avicenna J Clin Microb Infec.* 2017;4(1).
8. Emami S, Aky A, Hossain Zadeh A, Barkhordar S. Bacterial contamination of traditional ice creams in Kermanshah in 2008. *Iranian J Med Microbiol.* 2013;7(2):59-62.
9. ISO S. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of salmonella spp. 2015. p. 1-38.

مطالعه و مطالعات گذشته نیز به وضوح این وضعیت نامطلوب بهداشتی را نشان می‌دهند و سلامتی افراد جامعه مخصوصاً افراد دارای نقص ایمنی را تهدید می‌کنند. همانطور که در مطالعات مشابه نیز اشاره شده است، در مجموع در این محصولات استفاده از شیر غیرپاستوریزه، نگهداری نامناسب شیر پس از حرارت دادن تا زمان فرآوری، عدم رعایت بهداشت محیط، عدم رعایت اصول بهداشتی در شستشو و ضدعفونی ظروف، وسایل کار، مخزن دستگاه بستنی ساز، فریزر و غیره از عوامل سبب‌ساز ایجاد آلودگی در این محصولات است. همچنین با توجه به نحوه عرضه آن، تماس دست با این محصولات زیاد بوده و احتمال آلودگی نیز زیاد می‌باشد. در کل این مطالعه نشان دهنده کیفیت بهداشتی پایین و آلودگی باکتریایی این محصولات و قابل قبول نبودن آنها از نظر استاندارد ملی ایران می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نقش و اهمیت سلامت غذا در برقراری امنیت غذایی، نظارت بهداشتی بر روند تهیه و توزیع این محصول پرمصرف ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین پیشنهاد می‌شود علاوه بر نظارت کافی و دقیق بر روی این محصولات و الزام این واحدهای تولیدی به رعایت اصول بهداشت فردی و محیطی، پاستوریزاسیون شیر، استفاده از آب بهداشتی و ارائه آموزش‌های مداوم بهداشتی و چگونگی مدیریت بهداشتی در این واحدها نیز می‌تواند نقش موثری در ارتقاء کیفیت محصول و کاهش آلودگی باکتریایی آن داشته باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مدیریت و کارشناسان آزمایشگاه میکروبی-شناسی معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که در انجام این مطالعه، همکاری نموده‌اند، بسیار سپاسگزاریم.

10. ISO S. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with per-enrichment. 2007. p. 1-16.11.
11. ISO S. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Detection and enumeration of presumptive Escherichia coli - Most probable number technique. 2005. p. 1-20.
12. ISO S. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the Detection and enumeration of positive Staphylococci - coagulase Part3: Detection and MPN technique for low numbers. 2007. p. 1-22.
13. ISO S. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part1: Colony count at 30°C by the pour plate technique. 2015. p. 1-12.
14. Yaman H, Elmali M, Ulukanli Z, Tuzcu M, Genctav K. Microbial quality of ice cream sold openly by retail outlets in Turkey. *Revue Med Vet.* 2006;157(10):457.
15. Salehian M, Salehifar E, Esfahanizadeh M, Karimzadeh L, Rezaei R, Molanejad M. Microbial Contamination in Traditional Ice cream and Effective factors. *J Mazandaran Uni Med Sci.* 2013;23(99):18-33.
16. Gundogan N, Avci E. Occurrence and antibiotic resistance of Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Bacillus cereus in raw milk and dairy products in Turkey. *Int J Dairy Tech.* 2014;67(4):562-9.
17. Shahbazi Y, Emarat A, Ebrahimi F. Microbial quality and chemical composition of traditional ice cream collected from Kermanshah province, Iran. *Res Opinions Animal Vet Sci.* 2015;5(5):237-41.
18. Çağlayanlar GE, Kunduhoğlu B, Çoksöyler N. Comparison of the microbiological quality of packed and unpacked ice creams sold in Bursa, Turkey. *Cankaya Uni J Law.* 2009;12(2).
19. Mokhtarian H, Shariatifar N, Mohamadzadeh M, Ghahramani M. The survey on the bacterial contamination of traditional ice cream produced in Gonabad city. *Quart Hori Med Sci.* 2009;15(1):45-51.
20. Ambily R, Beena A. Bacteriological quality of icecream marketed in Thrissur town, Kerala, India. *Vet World.* 2012;5(12):738.
21. Jadhav A, Raut P. Evaluation of microbiological quality of ice creams marketed in Kolhapur city, Maharashtra, India. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2014; 3(9):78-84.