

مطالعه آلودگی میکروبی بستنی‌های سنتی (مطالعه موردی: شهرستان ارومیه)

ناهید نویدجوی^۱، سیما کریم زاده صادق^{۱*}، آناهیتا دهقانی^۱، فرشاد بهرامی اصل^۲

۱. گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

۲. گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

*نویسنده مسئول: sima.karimzade@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۰

چکیده

با توجه به اینکه در کشور ما تولید بستنی‌های غیرپاستوریزه و سنتی بسیار رایج می‌باشد و از طرفی مصرف این فرآورده در فصول گرم سال در بین گروه‌های مختلف سنی به ویژه کودکان زیاد می‌باشد، لذا آلودگی این فرآورده به میکروارگانیسم‌های پاتوژن می‌تواند منجر به مسمومیت غذایی در مصرف کننده شود. در این تحقیق نمونه‌های بستنی سنتی از مناطق چهارگانه شهر ارومیه (هر منطقه ۱۰ نمونه) جمع‌آوری و با رعایت شرایط استاندارد به آزمایشگاه منتقل گردید و سپس تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی و *انتروباکتریاسه* در نمونه‌های بستنی شمارش شده و حضور باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* مطابق با روش‌های استاندارد بررسی گردید. نتایج نشان داد که در شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی ۸۰ درصد نمونه‌ها و در شمارش *انتروباکتریاسه* ۹۲/۵ درصد بیش از حد استاندارد بود و باکتری‌های *اشرشیا کلی* ۴۷/۵ درصد، *استافیلوکوکوس اورئوس* ۴۵ درصد و *سالمونلا* ۴۰ درصد از نمونه‌ها جداسازی شدند. با توجه به نتایج بدست آمده، استفاده از شیر سالم و پاستوریزه در ساخت بستنی، ایجاد شرایط مناسب برای حمل و نقل و نگهداری شیر، آموزش کارگران تولیدکنندگان بستنی سنتی برای رعایت بهداشت فردی در تمام مراحل ساخت و توزیع بستنی لازم و ضروری است.

واژگان کلیدی: بستنی سنتی، *اشرشیا کلی*، *انتروباکتریاسه*، شهرستان ارومیه.

مقدمه

بستنی یک محصول لبنی منجمد شده است که از ترکیب و فرآیند مناسب خامه و بعضی از فرآورده‌های لبنی با شکر و مواد طعم‌دهنده به دست می‌آید (میرنظامی، ۱۳۷۵؛ Norman, 1993). طبق آمار منتشر شده به وسیله سازمان بهداشت جهانی همه ساله در حدود ۱۵۰۰ میلیون مورد ابتلا به اسهال در کودکان زیر ۵ سال در سراسر جهان اتفاق می‌افتد. حدود ۱۲ میلیون کودک بر اثر بیماری‌های مختلف جان خود را از دست می‌دهند که ۵ میلیون مورد آن مربوط به بیماری‌های معده‌ای - روده‌ای است (WHO, 1991). این آمار و ارقام بیشتر مربوط به کشورهای در حال توسعه است و مواد غذایی آلوده نقش بسیار مهمی را (حدود ۷۰ درصد) در ایجاد این‌گونه بیماری‌ها دارا می‌باشند (WHO, 1990). امروزه بستنی‌ها را منحصراً از شیر تهیه می‌کنند و انواعی از بستنی‌های شیری که به آنها چربی نباتی اضافه می‌گردد که مجموعاً ۸۰ الی ۹۰ درصد تولید بستنی را در دنیا تشکیل می‌دهد

(کریم، ۱۳۸۰). بستنی به دو صورت صنعتی و سنتی تهیه می‌شود. در روش صنعتی بستنی معمولاً پاستوریزه می‌شود. با این وجود، آلودگی میکروبی می‌تواند در مراحل پاستوریزاسیون، فریزکردن و سخت شدن روی دهد. درحالی‌که در روش سنتی احتمال بروز آلودگی بیشتر است. از طرفی بستنی به دلیل میزان pH نزدیک به خنثی، بالا بودن میزان مواد مغذی و مدت ماندگاری یکی از منابع بالقوه مستعد برای بقا و انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشد (هژیر و همکاران ۱۳۸۴). طبق استاندارد ایران ویژگی‌های باکتریولوژیکی فرآورده‌های بستنی مطابق زیر می‌باشد: شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی (CFU/gr) $10^4 \times 5$ ، *انتروباکتریاسه* (MPN/g) ۱۰، *کواگولاز استافیلوکوکوس (منفی)*، *اشرشیا کلی (منفی)*، *سالمونلا (منفی)* (کریم، ۱۳۷۰).

میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی از طریق حمل و نقل نامناسب و نگهداری در شرایط نامناسب بهداشتی

کننده مسمومیت و عفونت‌های غذایی ناشی از غذا می‌باشند (Daniels et al., 2002)، بنابراین لزوم سلامت و عاری بودن بستنی از عوامل بیماری‌زا، نمود بیشتری پیدا می‌کند (Frazier et al., 2001). تاکنون مطالعه‌ای جامع در مورد کیفیت میکروبی بستنی‌های عرضه شده در ارومیه صورت نگرفته است، لذا بر آن شدیم با انجام این مطالعه کیفیت میکروبی این نوع بستنی را از نظر میکروارگانیزم‌های ذکر شده بررسی نمائیم.

مواد و روش کار

این مطالعه از نوع توصیفی بوده که در فصل تابستان ۱۳۹۰ بر روی بستنی‌های سنتی شهر ارومیه انجام گردید. در مجموع ۴۰ نمونه بستنی سنتی، بطور تصادفی از مغازه‌های بستنی فروشی موجود در مناطق چهارگانه شهر ارومیه (هر منطقه ۱۰ نمونه) مطابق با استانداردهای نمونه‌برداری جمع‌آوری و در یخچال در کنار کیسه‌های یخ در حداقل زمان ممکن به آزمایشگاه شیمی و میکروبیولوژی دانشکده بهداشت منتقل گردید. ظروف نمونه برداری از ظروف یک بار مصرفی بود که فروشندگان به وسیله آن بستنی را به مردم عرضه می‌کردند که بعد از خریداری مشخصات نمونه بر روی آن الصاق گردید و جهت انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه ارسال می‌شد. در آزمایشگاه تعداد باکتری‌های مزوفیل‌هوازی و انتروباکتریاسه در نمونه‌های بستنی شمارش شده و حضور باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* بررسی می‌گردید.

جهت انجام آزمایشات ابتدا نمونه بستنی را به خوبی بهم زده و ۵ گرم از آن را در ۴۵ سی‌سی رینگر استریل حل کرده تا ۵۰ سی‌سی مخلوط حاصل شود. انجام کشت نمونه بستنی در محیط کشت‌های اختصاصی با استفاده از این مخلوط صورت گرفت. برای شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل‌هوازی (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شماره ۵۲۷۲) از محیط کشت PCA^۱ استفاده شد که برای دقت بیشتر نمونه با

به مواد غذایی منتقل می‌گردند (Masudt, 1983; Tamsutls et al., 1989). *اشرشیا کلی* نیز در آب آلوده و یا در شیری که به هنگام دوشیدن آلوده شده - است یافت می‌گردد و *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌تواند توسط پوست دست، دهان و بینی افرادی که با ماده غذایی سر و کار دارند و یا در اثر عطسه و سرفه وارد ماده غذایی شود. همچنین کلی‌فرم‌ها نیز در اثر عدم رعایت بهداشت در مرحله تولید و نگهداری وارد ماده غذایی می‌شود. بنابراین جهت پایش کیفیت آلودگی میکروبی بستنی‌ها و اطمینان از سالم بودن آنها بایستی میکروارگانیزم‌های ذکر شده در نمونه‌های بستنی مورد بررسی قرار گیرد (کریم، ۱۳۷۰). در سال ۲۰۰۰ میلادی در کشور کاستاریکا کیفیت آلودگی میکروبی بستنی‌ها بررسی گردید و حضور کلی‌فرم، کلی‌فرم‌های مدفوعی و سالمونلا در ۶۵ نمونه بستنی‌های تجاری و سنتی تعیین گردید. طبق نتایج مشخص شد که در ۳۷/۷ درصد بستنی‌های سنتی و ۲۰ درصد بستنی‌های تجاری تعداد کلی‌فرم‌ها بیشتر از استاندارد بوده است و ۸۲/۹ درصد از نمونه‌های سنتی و ۵۶/۹ درصد از نمونه‌های تجاری دارای کلی‌فرم‌های مدفوعی بوده‌اند و ۵۱/۴ درصد نمونه‌های سنتی و ۲۶/۷ درصد نمونه‌های تجاری آلوده به *اشرشیا کلی* بودند. در این مطالعه پیشنهاد شده تحقیقات و بازرسی‌های بیشتری به منظور افزایش امنیت مواد غذایی انجام شود (Windrantz et al., 2000). کیفیت میکروبی یخ و بستنی در مطالعه دیگری طی یک سال در ۱۹۹۶ تا ۱۹۹۷ بررسی گردید. در این مطالعه تعداد ۲۱۰ نمونه یخ و بستنی به صورت تصادفی جمع‌آوری شد. طبق نتایج مشخص شد که نمونه‌های حاوی باکتری (کل باکتری‌های شمارش شده) برابر با ۸۳/۳ درصد، کل کلی‌فرم‌ها ۷۰ درصد، کلی‌فرم‌های گرم‌پای ۳۰ درصد، *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۲/۲ درصد و گونه‌های مختلف *سالمونلا* ۱/۹ درصد می‌باشند (Kruy et al., 2001). آنجا که شیر و فراورده‌های آن از مهمترین عوامل ایجاد

1. Plate count agar

نتایج

نمونه‌های بستنی سنتی جمع آوری شده از ۴۰ مغازه بستنی فروشی، قنادی و بستنی-آبمیوه فروشی تحت آزمایشات جداسازی و جستجوی *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا* و آزمایشات شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی و انتروباکتریاسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی ۸۰ درصد نمونه‌ها و جمعیت انتروباکتریاسه در ۹۲/۵ درصد از نمونه‌های بررسی شده بیش از حد استاندارد است و باکتری‌های *اشرشیا کلی* ۴۷/۵ درصد، *استافیلوکوکوس* ۴۵ درصد و *سالمونلا* از ۴۰ درصد از نمونه‌ها جداسازی شدند. میزان آلودگی میکروبی بستنی‌های سنتی شهر ارومیه به تفکیک نوع باکتری در جدول شماره ۱ آورده شده است. در شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه بستنی‌های سنتی شهر ارومیه مشخص گردید که ۵۷/۵ درصد از نمونه‌ها، دارای ≥ 2400 MPN بوده که این بیانگر آلودگی زیاد کلی فرم در بستنی‌های سنتی بوده که می‌تواند ناشی از عدم رعایت بهداشت در مراحل تهیه، توزیع و نگهداری بستنی سنتی می‌باشد. تجزیه و تحلیل نتایج نشان داد که میانگین شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها (باکتری‌های مزوفیل هوازی) در نمونه‌های بستنی $17/85 \times 10^4$ CFU/gr می‌باشد، در صورتی که سطح استاندارد بهداشتی این میکروارگانیزم برای بستنی 5×10^4 CFU/gr می‌باشد.

ضریب رقت 10^{-2} و 10^{-3} رقیق و کشت گردید. برای جستجوی *اشرشیا کلی* (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۴) ابتدا نمونه در محیط لوریل سولفات برات^۱ کشت شد و در صورت تولید گاز با استفاده از محیط کشت EC^۲ و آب پپتونه و معرف کواکس تایید می‌شد. و برای جستجوی *استافیلوکوکوس اورئوس* (استاندارد موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شماره ۳-۶۸۰۶) از جیولیت کانتونی برات^۳ و محیط کشت اختصاصی بردپارکر^۴ استفاده شد. برای جستجوی *سالمونلا* (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۱) ابتدا مرحله پیش غنی‌سازی انجام گرفت به این صورت که ۵ گرم بستنی در ۴۵ سی‌سی آب پپتونه مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد، سپس با استفاده از محیط کشت تتراتیونات برات^۵ و SSA^۶ یا BGB^۷ مراحل بعدی انجام گرفت. برای شمارش انتروباکتریاسه (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶) از لوله‌های ۹ تایی (سه سری سه تایی) آب پپتونه^۸ استفاده کرده و برای مرحله تشخیصی بر روی محیط VRBG^۹ کشت داده و در صورت رشد با استفاده از جدول مربوط به روش تخمیر چند لوله‌ای عدد مربوط به نمونه را بر حسب MPN^{۱۰} قرائت می‌شد. داده‌های حاصله از آزمایشات برای تمامی شاخص‌های باکتریایی با استفاده از نرم افزار SPSS آنالیز و میزان آلودگی میکروبی و میانگین شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی و انتروباکتریاسه برای بستنی‌های سنتی شهر ارومیه مشخص گردید.

1. Lauryl Sulfate broth
2. EC broth
3. Juliet Cantoni Broth
4. Bired Parker
5. Tetrathionat Broth
6. Salmonella Shigelle Agar
7. Brilliant Green Bile Broth
8. Peptone Water
9. Violet Red Bile Glucose Agar
10. Must Probable Number

جدول ۱- درصد آلودگی میکروبی بستنی‌های سنتی شهر ارومیه

نوع میکروارگانیسم	تعداد کل نمونه	تعداد و درصد نمونه‌های غیر بهداشتی
باکتری‌های مزوفیل هوازی	۴۰	۳۲ (۸۰ درصد)
انتروباکتریاسه	۴۰	۳۷ (۹۲/۵ درصد)
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	۴۰	۱۸ (۴۵ درصد)
<i>اشریشیا کلی</i>	۴۰	۱۹ (۴۷/۵ درصد)
<i>سالمونلا</i>	۴۰	۱۶ (۴۰ درصد)

بحث

حسب مراکز تهیه و توزیع بستنی‌های سنتی ۴۰ درصد و نمونه‌های بستنی ۲۸/۶ درصد اعلام نموده کاملاً مطابقت داشته است (پورمحمدی و همکاران، ۱۳۸۱). مطالعه بستنی‌های سنتی در شهر زاهدان و شهرکرد به ترتیب درصد آلودگی با *استافیلوکوکوس اورئوس* ۶/۴ درصد و ۱/۹ درصد را بیان کرده‌اند (شادان و همکاران، ۱۳۸۰، پیشکار و همکاران، ۱۳۸۶).

نتایج این مطالعه نشان داد ۴۰ درصد از نمونه‌های بستنی سنتی به *سالمونلا* آلوده بوده و غیر قابل مصرف می‌باشند که در مطالعه مشابهی میزان آلودگی ۱/۹ درصد گزارش شده است (Kruy et al., 1997) ولی در مطالعه انجام شده در یاسوج و زاهدان نمونه‌ها فاقد *سالمونلا* بودند (جزایری و همکاران، ۱۳۸۳، هژیر و همکاران، ۱۳۸۴).

نتایج شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی و انتروباکتریاسه حاکی از آلودگی زیاد میکروبی بستنی‌های سنتی می‌باشد. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در ۸۰ درصد نمونه‌ها بیش از حد استاندارد بود و میانگین شمارش 10^4 CFU/gr \times ۱۷/۸۵ حاصل شده است. بر اساس نتایج حاصل ۹۲/۵ درصد از نمونه‌ها آلودگی با انتروباکتریاسه دارند. نتایج حاصله از سایر مطالعات بررسی شده با این مطالعه مشابهت دارد. طی بررسی‌های مختلف صورت گرفته در سال‌های ۱۳۷۱ لغایت ۱۳۷۳ در شهر تهران بر روی نمونه‌های بستنی سنتی درصد آلودگی به انتروباکتریاسه ۸۱/۳ درصد و در سال ۱۳۷۵ در خصوص آب‌میوه‌های سنتی ۱۰۰ درصد گزارش شده -

در این مطالعه با در نظر گرفتن هدف پژوهش که تعیین میزان آلودگی میکروبی بستنی‌های سنتی شهر ارومیه بود، مشخص گردید که ۴۷/۵ درصد نمونه‌ها از نظر وجود *اشریشیا کلی* آلوده بود و برای مصرف مناسب نمی‌باشند که این نتیجه با نتایج مطالعه انجام شده در کاستاریکا در سال ۲۰۰۰ مشابهت دارد که میزان آلودگی بستنی سنتی به *اشریشیا کلی* را ۵۱/۴ درصد اعلام شده است (Windrantz et al., 2000). همچنین در بررسی‌هایی که در خصوص آلودگی میکروبی بستنی‌های سنتی شهر تهران صورت گرفته است، شایعترین آلودگی باکتریایی را ناشی از کلی‌فرم‌ها و *اشریشیا کلی* اعلام کردند که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر کاملاً هم‌خوانی دارد (جزایری و همکاران، ۱۳۸۳). اگرچه در مطالعات صورت گرفته بر روی بستنی‌های سنتی در شهرهای زاهدان و شهرکرد درصد آلودگی به *اشریشیا کلی* به ترتیب ۴ و ۶/۶ درصد گزارش شده که بیان‌گر میزان آلودگی کم در شهرهای ذکر شده است (شادان و همکاران، ۱۳۸۰، پیشکار و همکاران، ۱۳۸۶). وجود مقادیر بالای کلی‌فرم نشان‌گر عدم رعایت شرایط بهداشتی تولید و آلودگی بستنی و مواد اولیه تشکیل دهنده آن با مدفوع حیوان و یا انسان طی مراحل مختلف تولید و نگهداری است (هژیر و همکاران، ۱۳۸۴).

در مطالعه دیگری در ارومیه، درصد جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* از بستنی‌های سنتی ۴۵ درصد بوده که با نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته در یاسوج که درصد آلودگی به *استافیلوکوکوس* را بر

با در نظر گرفتن نتایج این مطالعه و بررسی‌های صورت گرفته در سالهای گذشته بایستی تا حد ممکن از مصرف بستنی‌های سنتی که در شرایط غیر بهداشتی تهیه و توزیع می‌گردند خودداری شده و مسئولین تمهیدات لازم جهت ایجاد صنایع برای تولید بستنی‌های تجاری در منطقه را اتخاذ نمایند. همچنین مسئولین بهداشتی با انجام نمونه‌برداری مستمر از تولیدات بستنی سنتی بر فعالیت و کیفیت بستنی‌های عرضه شده در مغازه‌ها و قنادی‌ها و مراکز تفریحی نظارت کامل داشته و متصدیان را به رعایت اصول و مقررات بهداشتی تشویق و با متخلفین برخورد جدی و قانونی صورت گیرد. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده آلودگی میکروبی در بستنی‌های صنعتی نیز مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان با مقایسه نتایج حاصله از این دو نوع محصول اقدامات لازم بهداشتی جهت کاهش آلودگی‌ها در جامعه صورت گیرد.

تشکر و تقدیر

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، کمیته تحقیقات دانشجویی، همکاران آزمایشگاه شیمی و میکروبیولوژی و معاونت غذا و دارو و تمامی عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند سپاسگزار می‌شود.

منابع

۱. پور محمدی، عزیزالله، محمدی، جمشید، میرزایی، علی، مومنی نژاد، محسن و افشار، رحمت‌الله. (۱۳۸۱). بررسی میزان آلودگی میکروبی در بستنی‌های سنتی یاسوج. ارمغان دانش. سال هشتم، شماره ۲۹، صفحه ۲۹-۳۱.
۲. پیشکار، احمدرضا، بیگی، رضا. (۱۳۸۵). بررسی میزان آلودگی میکروبی در بستنی‌های شهرکرد. دهمین همایش ملی بهداشت محیط ایران، همدان، ۱۰-۸ آبان ۱۳۸۶.
۳. جزایری، ابوالقاسم، صادقی پور، حمیدرضا، عفت پناه، محمد، مهرداد، رامین، نظری‌نیا، عبدالله و محسن،

است. میزان آلودگی به انتروباکتریاسه و شمارش کلی مزوفیل‌های هوازی در شهر زاهدان به ترتیب ۶۷/۲ درصد و ۵۴/۳ درصد بوده و در شهر شهرکرد ۷۰/۴ درصد نمونه‌ها از نظر باکتری‌های مزوفیل هوازی و ۵۳/۳ درصد از نظر شمارش انتروباکتریاسه بیش از حد استاندارد بوده است. نتایج مطالعه صورت گرفته در سال ۱۳۸۳ در مورد آلودگی باکتریایی بستنی‌های شهر مشهد نشان داد که ۶۷ درصد از نمونه‌ها آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۸۴ درصد از نمونه‌ها آلوده به انتروباکتریاسه بودند که هر دو بیش از حد مجاز بودند (مختاریان و همکاران، ۱۳۸۳). با توجه به نتایج بدست آمده ایجاد شرایط مناسب برای حمل و نقل و نگهداری مواد اولیه بستنی مانند شیر، استفاده از شیر سالم و پاستوریزه، نظارت و کنترل از نظر بهداشت فردی و مهم‌تر از همه آموزش بهداشت به تولیدکنندگان ضروری می‌باشد.

نتایج حاصله حاکی از شیوع زیاد آلودگی باکتریایی در بستنی‌های سنتی یا دست‌ساز می‌باشد. بستنی‌های سنتی شهر ارومیه از لحاظ شمارش انتروباکتریاسه‌ها و شمارش کلی مزوفیل‌های هوازی شرایط بهداشتی نداشته و درصد آلودگی *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* در نمونه‌ها زیاد می‌باشد. عدم رعایت اصول بهداشتی در ظروف تولید، نگهداری بستنی و شیر، افزودنی‌های غیرمجاز و آلوده، استفاده از شیر ناسالم، عدم آشنایی کارگران تولید و توزیع‌کننده بستنی با موازین بهداشتی و نداشتن کارت بهداشتی و همچنین عدم استفاده از دستکش یکبار مصرف توسط کارگران، منبع اصلی انتقال بسیاری از آلودگی‌های میکروبی به بستنی‌های سنتی می‌باشد. در این خصوص نظارت دلسوزانه و مستمر سیستم ناظر بهداشتی بر روند تولید، توزیع و نگهداری بستنی سنتی و الزام تمام کارگران بر داشتن کارت معاینه بهداشتی می‌تواند در کاهش آلودگی میکروبی بستنی‌ها بسیار مؤثر باشد.

۱۴. میر نظامی ضیابری، حسن. (۱۳۷۸). از شیر چه می دانید؟ چاپ اول، انتشارات مرسا، دانشگاه تهران، صفحه ۴۵-۵۰.
۱۵. هژیر، محمد صالح، رشیدی، کیومرث، طاهائی، نجم-الدین صنوبر، رشادمنش، ناصر و مفرح، نسرین. (۱۳۸۴). بررسی نوع و میزان آلودگی بستنی های سنتی در استان کردستان و ارتباط آن با وضعیت بهداشت فردی و محیط اماکن. مجله علوم پزشکی کردستان. سال دهم، شماره ۳، صفحه ۵۶-۶۰.
16. Anne, N. 1993. Food science. Second Edition. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
17. Daniels, N.A., MacKinnon, L., Rowe, S.M., Bean, N.H., Griffin, P.M., and Mead, P.S. 2002. Food borne disease outbreaks in United States schools. *Ped Inf Dis J.* 21: 623-628.
18. Frazier, W.C., and Westhoff, D.C. 2001. Food Microbiology. 4th Edition, Tata MacGraw-Hill edition, New York, USA.
19. Kruiy, S.L., Soares, J.L., Ping, S., and Sainte Marie, F.F. 2001. Microbiological quality of "Ice, Icecreamsorbet" sold on the streets of Phnom Penh. 94: 411-414
20. Masudt, H. (1989). Microbiological quality and public health significance of ice cream. *J Pak Med Assoc.* 39: 4-102
21. Tamsutls Garcia, C.E. 1989. Microbiological quality of Vannilla ice cream manufactured in Caracas, Venezuela. *Archlatinoam Nutr.* 39: 46-56
22. WHO. (1990). Global estimates for health situation: Assessment and projections. WHO Document.; WHO/HST/90-2.
23. WHO. (1991). Diarrheal and acute respiratory disease: The Current Situation. WHO Document.; Fact Sheet, no. 76.
24. Windrantz, P., and Arias, ML. 2000. Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica: *Arch Latinoam Nutr.* 50: 301-303.
- محمدجواد. (۱۳۸۳). آلودگی میکروبی بستنی های و آب میوه های دست ساز (آب هویج و شیر نارگیل) در واحد های صنفی قنادی و آب میوه فروشی در تهران. مجله علمی پژوهشی حکیم. سال ششم، شماره ۲، صفحه ۳۶-۳۱.
۴. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۱). روش جستجو و شناسایی سالمونلاها. استاندارد شماره ۱۸۱۰.
۵. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۴). روش جستجو و شناسایی اشریشیا کلی. استاندارد شماره ۲۹۴۶.
۶. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۵). روش شناسایی و شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی. استاندارد شماره ۶۸۰۶-۳.
۷. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). روش شناسایی و شمارش انتروباکتریاسه. استاندارد شماره ۱-۲۴۶۱.
۸. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). شمارش کلی میکروارگانیسرها. استاندارد شماره ۵۲۷۲.
۹. شادان، محمدرضا، خوشایبی، فهیمه و صفاری، فریبا. (۱۳۸۰). بررسی میزان آلودگی میکروبی در بستنی های سنتی زاهدان. طبیب شرق. سال چهارم، شماره ۴، صفحه ۲۱۵-۲۲۱.
۱۰. کریم گیتی. (۱۳۷۰). آزمونهای میکروبی مواد غذایی. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۱۴ و ۱۲۴.
۱۱. کریم، گیتی. (۱۳۸۰). شیر و فرآورده های آن. چاپ دوم، انتشارات سپهر تهران، صفحه ۲۵۹.
۱۲. کریم، گیتی و رضوی لر، ودود. (۱۳۷۳). بررسی آلودگی بستنی های سنتی ایران به باکتری های مهم حامل عفونت و مسمومیت های غذایی. مجموعه مقالات هفتمین کنگره ملی صنایع غذایی، چاپ اول، صفحه ۹۵-۱۰۶.
۱۳. مختاریان دلویی، حسین، محسنزاده، محمد و خضری، محمد. (۱۳۸۳). بررسی میزان آلودگی باکتریایی بستنی های سنتی شهرستان مشهد. افق دانش. سال دهم، شماره ۱، صفحه ۴۶-۴۲.