



Identification of *Salmonella* contamination of traditional ice creams in Zabol City, Iran

Fatemeh Khammar¹, Majid Alipour Askndany², Dariush saadati²

1. Department of veterinary medicine, College of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Department of Food Hygiene and Public Health, College of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran

Article Information

Article history:

Received: 2016/03/18
Accepted: 2016/05/29
Available online: 2016/10/17

Article Subject:

Food Microbiology

IJMM 2017; 11(1): 83-89

Corresponding author at:

Dr. Fatemeh Khammar

Department of veterinary
medicine, College of
Veterinary Medicine,
University of Zabol, Zabol,
Iran

Tel: 0989151971181

Email:

khammar_fatemeh@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: The ice cream is consumed in abundance due to its high nutritional value and flavor. According to neutral pH and abundant nutrients, ice cream is a suitable environment for microbial growth. Some ice cream ingredients such as milk and egg can be contaminated with pathogenic microorganisms such as *salmonella*. Therefore ice cream consumption can cause food poisoning. The aim of this study was to determine the *salmonella* contamination of traditional ice creams in Zabol city.

Materials and Methods: In this descriptive-analytical study in 2015 years, 90 traditional ice cream samples were collected from different shops of Zabol city and then in sterile conditions were transferred to food laboratory food and microbiological tests were performed on samples

Results and Conclusion: In this study, 62 samples (68.8%) of 90 collected ice cream samples, were found positive for *Salmonella*. *Salmonella* contamination is prevalent in ice creams in Zabol. Main causes of contamination are using of unpasteurized milk, lack of attention to hygienic issues and lack of proper washing of dishes. So more accurate monitoring of ice cream shops in Zabol are required.

KeyWords: Traditional ice cream, *Salmonella spp.*, Zabol

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Khammar F, Alipour Askndany M, Saadati D. Study of *Salmonella* contamination of traditional ice creams in Zabol City, Iran. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (1): 83-89

بررسی میزان آلودگی سالمونلایی در بستنی‌های سنتی شهرستان زابل

فاطمه خمر^۱، مجید علیپور اسکندانی^۲، داریوش سعادت^۲

۱. گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: بستنی به دلیل ارزش غذایی بالا و طعم مطلوب متقاضیان متعددی دارد. هم‌چنین نظر به داشتن pH خنثی و مواد مغذی فراوان، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. حضور تخم‌مرغ و شیر در بستنی، احتمال حضور میکروارگانیسم‌های پاتوژن مثل سالمونلا را افزایش می‌دهد. آلودگی این فرآورده، باعث مسمومیت‌ها و عفونت‌های غذایی می‌شود. هدف این مطالعه تعیین میزان آلودگی سالمونلایی بستنی‌های سنتی شهرستان زابل به سالمونلا بود.

مواد و روش کار: این مطالعه در سال ۱۳۹۴ به صورت توصیفی - مقطعی انجام گردید، تعداد ۹۰ نمونه بستنی سنتی به طور تصادفی از کلیه مراکز تولید و فروش بستنی زابل جمع‌آوری و سپس در شرایط استریل به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شد و آزمون‌های میکروبی روی نمونه‌ها انجام گرفت.

یافته‌ها و بحث: در این مطالعه از ۹۰ نمونه بستنی جمع‌آوری شده ۶۲ نمونه (۶۸/۸ درصد) از نظر سالمونلا مثبت بود. آلودگی به سالمونلا در بستنی‌های شهر زابل شایع است، منبع اصلی آلودگی میکروبی در مراکز تهیه و توزیع بستنی سنتی، استفاده از شیرهای غیر پاستوریزه، عدم رعایت بهداشت شامل بهداشت فردی و عدم شستشو صحیح ظروف است. بنابراین نظارت بهداشتی دقیق بر مراکز تهیه و توزیع بستنی در زابل الزامی می‌باشد.

کلمات کلیدی: بستنی سنتی، سالمونلا، زابل

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۸

پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۰۹

انتشار آنلاین: ۱۳۹۵/۰۷/۲۶

موضوع:

میکروبیولوژی مواد غذایی

IJMM 1396; 11(1): 83-89

نویسنده مسئول:

دکتر فاطمه خمر

گروه دامپزشکی، دانشکده

دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل،

ایران

تلفن: ۰۹۸۹۱۵۱۹۷۱۱۸۱

پست الکترونیک:

khammar_fatemeh@yahoo.com

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

غذا منتقل می‌گردند. ابتلا به بیماری‌های ناشی از غذا تنها خاص کودکان نیست بلکه نوجوانان و بزرگسالان حساس و افراد سالمند را نیز که گروه آسیب‌پذیر اجتماع را تشکیل می‌دهند، در برمی‌گیرد. عوامل بیماری‌زای متعددی به عنوان باکتری‌های مسئول اسهال و استفراغ، عفونت و مسمومیت‌های غذایی شناخته شده‌اند (۳). بستنی به دلیل میزان pH نزدیک به خنثی و بالا بودن میزان مواد مغذی، یکی از منابع بالقوه مستعد برای بقا و انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشد (۴). شیر و محصولات لبنی خام از مهم‌ترین راه‌های انتقال مسمومیت‌های غذایی هستند (۵). در مورد بستنی، آلودگی میکروبی در هر یک

بستنی یکی از فرآورده‌های شیر است که به دو روش صنعتی و سنتی تهیه می‌شود و دارای ارزش غذایی بالایی است. این محصول علاوه بر تأمین بخش قابل توجهی از نیازهای تغذیه‌ای، موجب خنثی شدن رادیکال‌های آزاد، پیشگیری از سرطان‌ها، افزایش مقاومت و ایمنی بدن به‌خصوص در کودکان می‌شود (۱). باوجود پیشرفت‌های چشمگیر در صنعت غذا و کنترل‌های بهداشتی در آن هنوز هم شاهد موارد زیادی مسمومیت ناشی از مواد غذایی هستیم (۲). در کشور ما سالانه نزدیک به ۷۰ هزار کودک زیر ۵ سال به علت ابتلا به اسهال جان خود را از دست می‌دهند و بیشتر مربوط به عوامل بیماری‌زایی است که از طریق

بستنی‌فروشی، هر کدام در ۵ نوبت، نمونه بستنی (در مجموع ۹۰ نمونه) اخذ شد. نمونه‌ها تحت شرایط استریل، در جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل منتقل شد. نمونه‌ها از نظر آلودگی به سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور پیش‌غنی‌سازی، مقدار ۲۵ گرم از نمونه‌های اخذ شده بعد از یکنواخت کردن به ظروف حاوی ۲۲۵ میلی‌لیتر لاکتوز برات منتقل شد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. به منظور غنی‌سازی، ۱ میلی‌لیتر از محتوی هر ظرف، با رعایت شرایط استریل به لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط سلنیت سیستمین برات و ۱ میلی‌لیتر دیگر به لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط تتراتیونات برات منتقل شد. سپس لوله‌های حاوی سلنیت سیستمین برات و لوله‌های حاوی تتراتیونات برات به ترتیب در دماهای ۳۷ درجه سلسیوس و ۴۲/۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند (۱۳، ۱۴). برای جداسازی و شناسایی انواع سالمونلا از محتوی محیط‌های غنی شده که کدر شده بودند، در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت انتخابی شامل سالمونلا شیگلا آگار و بیسموت سولفیت آگار کشت خطی داده شد و در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت انکوبه شد. برای تأیید حضور سالمونلا، از کلنی‌های با مرکز سیاه بر روی محیط‌های کشت افتراقی TSI، SIM، LIA، سیمون سیرتات و اوره برات کشت داده شد (۱۳، ۱۵). محیط‌های مورد استفاده در این تحقیق از محصولات دو شرکت هایمدیا و مرک (شرکت هایمدیا یک شرکت تولیدکننده مواد دارویی در کشور هند است و شرکت مرک یک شرکت تولیدکننده مواد شیمیایی و دارویی در کشور آلمان است. دفتر اصلی این شرکت در شهر دارمشتات قرار دارد). حدود اطمینان ۹۵٪ برای تعیین میزان شیوع با استفاده از توزیع دوجمله‌ای (Binomial Distribution) محاسبه گردید و از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) برای تجزیه و تحلیل‌های آماری کمک گرفته شد.

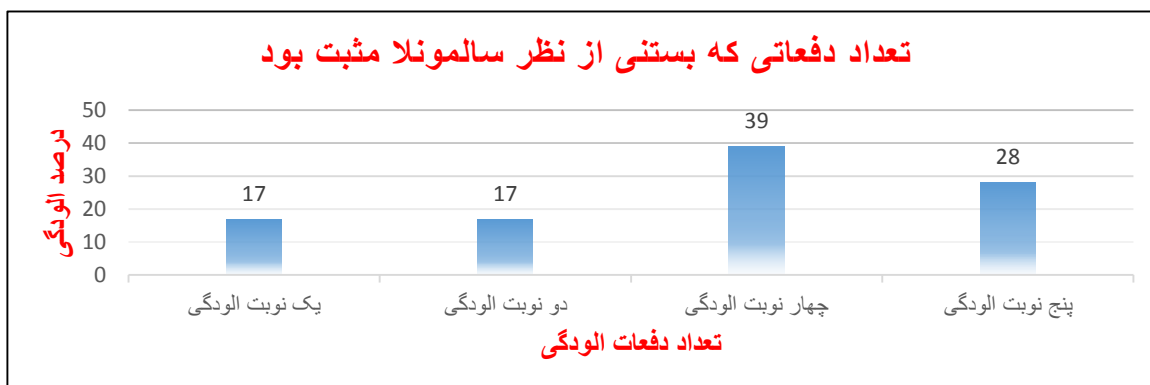
یافته‌ها و بحث

در ۵ نوبت نمونه‌گیری از ۱۸ بستنی‌فروشی تعداد ۳ بستنی‌فروشی تنها در یک نوبت آلوده به سالمونلا بودند، ۳ بستنی‌فروشی دیگر در دو نوبت آلوده به سالمونلا بودند، تعداد ۷ بستنی‌فروشی در چهار نوبت و ۵ بستنی‌فروشی در هر پنج نوبت آلوده به سالمونلا بودند، هیچ بستنی‌فروشی در تمام ۵ نوبت آزمایش از نظر سالمونلا سالم نبود (نمودار ۱).

از مراحل مختلف تولید آن ممکن است رخ دهد (۶). به ویژه آن‌که تمام مواد تشکیل‌دهنده بستنی می‌توانند در ورود میکروب‌ها به داخل این ماده غذایی و افزایش بار میکروبی آن نقش داشته باشند (۷). استفاده از شیر غیرپاستوریزه در تولید بستنی یکی از مهم‌ترین عوامل آلودگی این محصول گزارش شده است (۸). به علاوه حمل‌ونقل و توزیع به صورت غیربهداشتی و نامطلوب همراه با آلوده بودن وسایل، تجهیزات و ظروف مورد استفاده، همگی می‌تواند با افزایش بار میکروبی این محصول همراه باشد (۶). سالمونلاها باکتری‌هایی گرم منفی، میله‌ای کوتاه، فاقد کپسول و به جز گونه سالمونلا گالیناروم متحرک می‌باشند. آن‌ها به عنوان یکی از عوامل اصلی ایجادکننده مسمومیت‌های غذایی مطرح می‌باشند (۹، ۱۰). مسمومیت‌های غذایی ناشی از این میکروب‌ها با علائمی همچون گاستروانتریت، اسهال، کرامپ شکمی و تب‌های انتریک (تب حصبه) بروز می‌کنند (۱۱، ۱۲). بستنی به علت مواد غنی غذایی و سهولت آلودگی شیر، از لحاظ مسمومیت غذایی نیز ماده مهمی محسوب می‌شود. در این میان آلودگی بستنی از سه جنبه مورد توجه است: نخست آن‌که مصرف بستنی که در حقیقت یک نوع شیرینی خنک می‌باشد، عموماً در فصل تابستان صورت می‌گیرد که خطر ابتلای آلودگی مواد غذایی در این فصل بیشتر است. ثانیاً مصرف بستنی در بین همه مردم خصوصاً کودکان شایع‌تر است و چون از غذاهای بسیار مطبوع و لذیذ به شمار می‌آید، مصرف آن به صورت گوناگون نیز هر روز فزونی می‌یابد. ثالثاً در تهیه بستنی از مواد مختلفی استفاده می‌شود که هر کدام از آن‌ها می‌توانند منشأ آلودگی سالمونلایی شده و سبب بیماری گردند. همچنین سالمونلا می‌تواند به صورت ثانویه از طریق تهیه‌کنندگان و فروشندگان بستنی وارد آن گردند. بنابراین توجه به مسمومیت ناشی از آلودگی بستنی به خصوص در کشور ما که در تولید آن روش‌های سنتی بیشتر معمول است، باید مورد توجه قرار گرفته و تحقیقات کافی در مورد انواع بیماری‌های ناشی از آلودگی بستنی و نیز راه‌های آلوده شدن آن صورت گیرد. از این رو تحقیق اخیر باهدف تعیین شیوع آلودگی سالمونلایی، در بستنی‌های سنتی شهرستان زابل انجام شد. این پژوهش کمک خواهد کرد تا بستنی‌های سالم‌تری به مصرف‌کنندگان عرضه شود.

مواد و روش‌ها

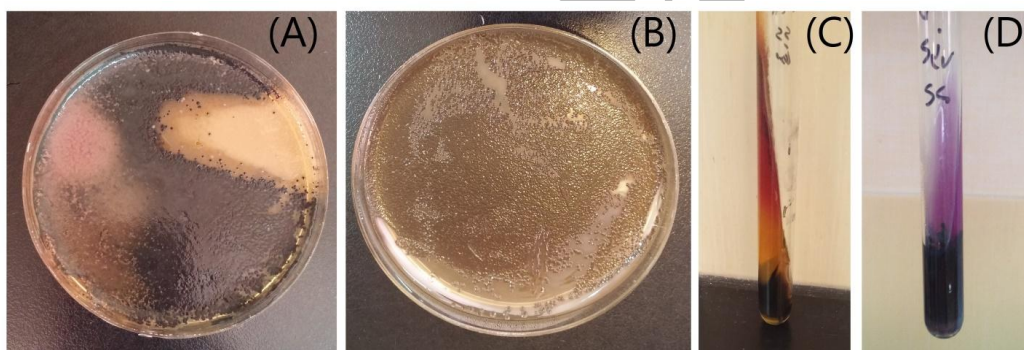
این مطالعه به صورت توصیفی-مقطعی به مدت ۴ ماه در سال ۱۳۹۴ و در شهرستان زابل انجام شد. برای تهیه نمونه‌ها با مراجعه به بستنی‌فروشی‌ها در نقاط مختلف شهر زابل، از ۱۸



نمودار ۱: شیوع آلودگی به سالمونلا در بستنی های سنتی زابل در ۵ نوبت نمونه گیری

TSI و LIA کشت داده شد و نمونه هایی که لاکتوز منفی، H_2S مثبت، TSI و LIA مثبت به عنوان نمونه های آلوده به سالمونلا در نظر گرفته شدند.

شکل ۱ مراحل کشت سالمونلا را در محیط های انتخابی بیسموت سولفیت آگار و سالمونلا شیگلا آگار نشان می دهد که ایجاد کلنی های سیاه رنگ کردند و ما به سالمونلا مشکوک شدیم. به دنبال آن برای اطمینان از وجود سالمونلا در محیط های افتراقی



شکل ۱: کلنی های سیاه رنگ مشکوک به سالمونلا در محیط جامد انتخابی سالمونلا شیگلا آگار (A)، کلنی های مشکوک به سالمونلا در محیط جامد انتخابی بیسموت سولفیت آگار (B)، محیط TSI، از نظر سالمونلا مثبت بود و تولید گاز H_2S کرد (C). محیط LIA، از نظر سالمونلا مثبت و تولید گاز H_2S کرد (D)

یافته های حاصل از بررسی حاضر نشان داد که بار میکروبی بستنی های بررسی شده، بالاتر از حد استاندارد ملی ایران بود (۱۶) و همچنین، نتایج حاصله در خصوص آلودگی سالمونلایی نشان داد که آلودگی تا حدی بالاتر از گزارش های سایر محققین در نقاط مختلف دنیا می باشد. طبق استاندارد (۱۶) بستنی باید از لحاظ سالمونلا منفی باشد، وجود این باکتری در بستنی احتمال مسمومیت را در مصرف کنندگان آن، خصوصاً کودکان به دلیل دارا بودن سیستم ایمنی ضعیف تر، افزایش می دهد (۱۷). سالمونلا جزء باکتری های مضر هستند که نباید در مواد غذایی وجود داشته باشد و یکی از مهم ترین علت های شیوع بیماری های ناشی از غذا (مسمومیت غذایی) در جهان است و باعث گاستروانتریت ناشی از آلودگی با سروارهای مختلف جنس سالمونلا می شود

میزان آلودگی به سالمونلا در نمونه های جمع آوری شده از بستنی های سنتی شهرستان زابل در جدول ۱ نشان داده شده است. در مجموع از ۹۰ نمونه از بستنی های سنتی (بستنی فروشی های شهر زابل) آزمایش شد که در این میان ۶۲ نمونه (۶۸/۸ درصد) آلوده به سالمونلا بود. جدول زیر شیوع سالمونلا را در بستنی های سنتی نشان می دهد (جدول ۱).

جدول ۱: میزان آلودگی به سالمونلا در نمونه های اخذ شده از بستنی های سنتی

آلودگی به سالمونلا		نوع بستنی	
تعداد موارد مثبت	شیوع	تعداد موارد مثبت	شیوع
حدود ۹۵٪ برای شیوع	حد پایین	۶۲	۶۸/۸٪
حد بالا	۵۸		۷۸٪
		بستنی سنتی (n=۹۰)	

بستنی هم‌چنین می‌تواند بعد از تولید و در حین ذخیره‌سازی، حمل‌ونقل و توزیع و فروش رخ دهد (۶). همان‌طور که شیوع مسمومیت با سالمونلا با خوردن بستنی پاستوریزه در ایالات‌متحده به علت ایجاد آلودگی در حین حمل‌ونقل این ماده خوراکی گزارش شد (۳۱). اغلب آلودگی‌های سالمونلایی در بستنی، به صورت ثانویه و از طریق شیر آلوده و کارکنان بخش تولید و فروش وارد آن می‌شوند. تولید بستنی‌های سنتی در صورت عدم توجه به روند اعمال حرارت کافی (پاستوریزاسیون) بر روی مواد اولیه بستنی و عدم توجه به رعایت موازین بهداشتی در طول فرایند تولید، زمینه بروز آلودگی‌های باکتریایی مختلف خصوصاً سالمونلا را، در این فرآورده را فراهم می‌نماید (۴). به‌طورکلی نتایج این مطالعه بیانگر این موضوع است که بستنی‌های سنتی تولید و عرضه‌شده در شهرستان زابل تحت شرایط بهداشتی تولید نشده‌اند و دارای آلودگی سالمونلایی بیشتری بوده و بسیاری از آن‌ها برای مصرف‌کنندگان مخاطره‌آمیز می‌باشند. مسئولین ضمن آموزش‌های بهداشتی و فنی به پرسنل و نظارت بر بخش‌های مختلف تهیه مواد اولیه، نگهداری، تولید و عرضه موجب ارتقاء کیفیت بهداشتی و تغذیه‌ای این فرآورده پرتعداد شوند. همچنین لازم است ادارات نظارت مواد غذایی، کمیت و کیفیت نظارت خود را ارتقاء بخشند و به طور مداوم محصولات تولیدی مورد نمونه‌برداری و آزمایش‌های بهداشتی و کیفیتی قرار گیرند.

تقدیر و تشکر

از پرسنل بخش آزمایشگاه مواد غذایی، میکروبیولوژی و کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

(۱۸). جداسازی این باکتری از بستنی‌های شهرستان کولاپور، ماهاراشترا، هند ۳۳ درصد، گلگت ۱۵ درصد، کرمانشاه ۱۴ درصد و کاتماندو ۱/۴ درصد گزارش گردید (۲۲-۱۹)، که این مقادیر بسیار کمتر از نتایج بدست آمده در بررسی فعلی است، هم‌چنین برخی از مطالعات عدم جداسازی این باکتری را از نمونه‌های بستنی اعلام کردند (۲۵-۲۳). جدانشدن سالمونلا شاید به دلیل حرارت کافی دیدن شیر به‌منظور از بین بردن کامل گونه‌های سالمونلا (۷۲) درجه سلسیوس برای چند ثانیه)، تراکم میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌های مختلف و تأثیر ممانعت‌کننده آن‌ها برای رشد سالمونلا باشد هم‌چنین ممکن است، ناشی از درمان مناسب بیماران سالمونلایی و در نتیجه کاهش موارد حاملین بدون علامت باکتری باشد (۲۶) به‌این ترتیب آنچه از این مطالعه بدست آمد، در مقایسه با یافته‌های داخلی و خارج از کشور مشخص می‌کند که میزان آلودگی سالمونلایی در نمونه‌های مورد بررسی، بیشتر است که این موضوع حاکی از پایین بودن سطح بهداشتی در این شهرستان است. به‌طوری‌که Tamsut و همکاران (۱۹۸۹) در بررسی بستنی وانیلی تولید در Caracas، ونزوئلا ۰/۸۱ درصد نمونه‌ها را آلوده به سالمونلا گزارش کردند (۲۷). Bazrafshan و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی بستنی‌های سنتی شهر زاهدان ۲/۹۴ درصد نمونه‌ها را آلوده به سالمونلا گزارش کردند و اعلام کردند بیشتر آلودگی مربوط به فصل تابستان است (۲۸). با توجه به این‌که مصرف مواد غذایی آلوده به سالمونلا سبب انتروکولیت می‌شود. مدفوع افراد دچار عفونت و یا حاملین بیماری، مخزن عفونت است. ۳ درصد افراد بهبودیافته از تیفوئید، حامل دائمی باکتری در کیسه صفرا و مجاری صفراوی خواهند بود (۲۹). در بررسی Wouafo و همکاران (۱۹۹۶) در کامرون، میزان جداسازی این باکتری از بستنی ۴۹/۶ درصد گزارش شد که این محققان، استفاده از آب غیرقابل شرب در شستشوی ظروف و عدم رعایت موازین بهداشتی در طول فرآیند تولید را مهم‌ترین دلایل بروز این آلودگی‌ها اعلام کردند (۳۰). ورود میکروارگانیسم‌ها به داخل

References

- Hassanzadazar H, Abdollahi R, Haj Gholizadeh GH, Dalir Rad M, Mehdizadeh T. Investigating of the bacteriological contamination in traditionally manufactured ice creams in Urmia city. Journal of Food Hygiene (JFH) 2012;2(1):1-9.
- Who. Dress releases Foodborne disease- possibly 350 times frequent than reported. Who Information 1997; 97-8.
- Mokhtarian H, Shariatifar N, Mohamadzadeh M, Ghahramani M. The survey on the bacterial contamination of traditional ice cream produced in Gonabad city. Quarterly of Horizon of Medical Sciences (HMS Journal) 2009;15(2):45-52.
- Hajir MS, Rashidi K, Tahaii SN, Rashadmanesh N, Mofarah N. Investigation contamination of traditional ice cream in Kordistan and relation with personal and environmental hygiene. Journal of Kurdistan

- University of Medical Science (SJKUMS) 2005;10(3):53-60.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Food Safety and Raw Milk. 2011. [in Persian]
 6. Kanbakan U, Con AH, Ayar A. Determination of microbiological contamination sources during ice cream production in Denizli, Turkey. *Food Control* 2004;15(6):463-470.
 7. Yaman H, Elmali M, Ulukanli Z, Tuzcu M, Genctav K. Microbial quality of ice cream cream in Gonabad. *GMUHS Journal* 2011;17:58-63.
 8. Kuplulu O, sarimehmetoglu B. Isolation and identification of *Brucella* spp. in ice cream. *Food Control* 2004;15(7):511-514.
 9. Koluman A, Celik G, Unlu T. Salmonella identification from foods in eight hours: A prototype study with *Salmonella* Typhimurium. *Iran J Microbiol* 2012;4(1):15-24.
 10. Wood DS, Collins-Thompson D L, Irvine DM, Myhr AN. Source and Persistence of *Salmonella* muenster in Naturally Contaminated Cheddar Cheese. *J Food Prot* 2007;47(1):20-22.
 11. Tabatabaei A, Firuzi R. Animal diseases due to bacteria. 1st ed. Tehran University Press; 2009. P. 206-261.
 12. Jones MA, Hulme SD, Barrow PA, Wigley P. The *Salmonella* pathogenicity island 1 and *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of *Salmonella* enterica serovar Typhimurium in the chicken. *Avian Pathol* 2007;36(3):199-203.
 13. Jamshidi A, Naghdipour D. Contamination of water used for chilling of poultry carcasses to *S.typhimurium* and *S.enteritidis* using Multiplex PCR method. *Journal of Veterinary Research* 2011;66(4):149-152.
 14. Waltman WD, Gast RK, Mallinson ET. Salmonellosis: In Swayne D.E., Glisson J.R., Jackwood M.M., Pearson J.E., Read W.M. A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, 4th ed. American Association of Avian Pathologists, Pennsylvania, USA. 1998;4-13.
 15. Lukinmaa S, Nakari UM, Eklund M, Siitonen A. Application of molecular genetics methods in diagnostics and epidemiology of food-borne bacterial pathogens. *Acta Pathologica, Microbiological, et Immunologica Scandinavica (APMIS)* 2004;112():908-29.
 16. Institute of Standards & Industrial Research of Iran. Milk and milk products-Detection of *Salmonella*. Iranian National Standard 2009;4413(1):2-23.
 17. Mokhtarian H, Mohsenzadeh M, Khezri M. The survey on the bacterial contamination of traditional ice cream produced in Mashhad city. *GMUHS Journal* 2004;10(1):42-47.
 18. Soumet C, Ermel G, Rose V, Rose N, Drouin P, Salvat G, Colin P. Identification by a multiplex PCR based assay of *Salmonella* typhimurium and *Salmonella* enteritidis strains from environmental swabs of poultry houses *Lett Appl Microbiol* 1999;29(1):1- 6.
 19. Jadhav AS, Raut PD. Evaluation of microbiological quality of ice creams marketed in Kolhapur city, Maharashtra, India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 2014;3(9):78-84.
 20. Khalil A, Azhar H, Imran, Mudassier AQ and Wajid H. Microbial quality of Ice cream sold in Gilgit town. *Pakistan J Nutr* 2009;8(9):1397-1400.
 21. Sadeghi E, Almasi A, Mesgeraf H, Bakhshi S, Dargahi A, Mohamadi S, Zangineh-vandi N. Check the microbiological quality of traditional ice cream, industrial, ice supply in the city of Kermanshah. *J Kermanshah Univ Med Sci* 2013;17(8):48-55. [in Persian]
 22. Joshi D, Shah P, Manandhar S, Sharma S, Banmali P. Microbial quality of icecream sold in kathmandu. *Journal of Nepal Health Research Council (NHRC)* 2004;2(2):37-40.
 23. Pooran A, Seepersadsingh N, Georges K, Adesiyun AA. Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold in Trinidad. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 2012;10(2):39-45.
 24. Razavi Rohani, SM. A survey on microbiological quality of traditional ice cream produced in Urmia. National Nutrition and Food Technology Research Institute (NNFTRI). *Abstract Bulletin of Food Science and Technology of Iran* 1996;1:214. [in Persian]
 25. Karim G, Razavilar V, Akhondzadeh A. Epidemiological study of traditional ice creams of Iran to important food poisoning and infection bacteria. *Article collections of Iran 7th national food congress* 1994;1: 95-106.
 26. Shaigan Nia SH, Rostami F, Safarpour Dehkordi F, Rahimi E, Yahaghi E, Khodaverdi Darian E, et al. Isolation and Evaluation Virulence Factors of *Salmonella* typhimurium and *Salmonella* enteritidis in Milk and Dairy Products, Iran *J Med Microbiol* 2014; 8(1):54-61. [in Persian]

27. Tamsut LS, Garcia CE. Microbiological quality of vanilla ice cream manufactured in Caracas, Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 1989;39(1):46-56.
28. Bazrafshan E, Mohamadi jorjafki L, Mirkazehi A, Haghani H, Parvaneh H, Miri M, Yavari M. Survey of traditional ice cream's bacterial contamination produced in Zahedan city during 2010-2011. *Quarterly Journal Of Rostamineh* 2012;3(4):19-28.
29. Bahador A, Taheri M. *Medical Microbiology*. 2nd ed. Tehran: Farhang library; 2011. [in Persian]
30. Wouafo MN, Njine T, Tailliez R. Hygiene and microbiologic quality of ice creams produced in Cameroon. A public health problem. *Bull Soc Pathol Exot* 1996;89(5):358-62.
31. Hennessy TW, Hedberg CW, Slutsker L, White KE, Besser-Wiek JM, Moen ME, Feldman J, Coleman WW, Edmonson LM, MacDonald KL, Osterholm MT. A National Outbreak of Salmonella enteritidis Infections from Ice Cream. *N Engl J Med* 1996;334(20):1281-6.