

Sommario

Questo studio ha determinato la qualità microbiologica e chimica del ghiaccio prodotto ed imbustato nei locali dove avviene anche la vendita e gli stabilimenti indipendenti che si occupano anche della distribuzione del prodotto, come anche macchine del ghiaccio dello stato della Georgia per confrontare i risultati ottenuti dalle analisi con quelle del ghiaccio prodotto dalle Industrie, monitorate e controllate dal Confezionato International Ice Association (IPIA). 250 sacchi di campioni di ghiaccio confezionati sono stati presi da punti vendita di ghiaccio e da distributori automatici, insieme a 25 sacchetti di ghiaccio confezionato prodotti da aziende specializzate nel settore. I campioni di ghiaccio sono stati sciolti entro le 24 ore dalla raccolta e HPC SimPlates® sono stati utilizzati per rilevare la presenza di eterotrofi batteri. Colisure® e Enterolert® i campioni sono stati usati per enumerare i coliformi, non patogeni E. coli e enterococchi. La filtrazione a membrana accoppiato con arricchimento è stato usato per individuare il virus della Salmonella e Listeria monocytogenes. Test di conferma sono stati fatti per gli agenti patogeni presunti positivi. Nessuno dei campioni di ghiaccio prodotto dalle industrie specializzate nel settore aveva livelli microbici inaccettabili.

Il 6% dei campioni di ghiaccio imbustato in luoghi di vendita al dettaglio e del ghiaccio preso dai distributori automatici contenevano livelli insoddisfacenti di eterotrofi rispetto ai limiti stabiliti dalla IPIA (≥ 500 MPN / 100ml).

Il 37% di questi campioni contenevano un livello insoddisfacente di coliformi ($\geq 1.0 \cdot 10^5$ MPN / 100 ml), e l'1% conteneva non patogeni E. coli e il 13% conteneva enterococchi ($\geq 1.0 \cdot 10^6$ MPN / 100 ml). Un campione è risultato positivo alla presenza di Salmonella e un altro positivo per Enterobacter agglomerans. 95 (38%) campioni di ghiaccio tra cui quello confezionato dove avviene la vendita al dettaglio e quello dei distributori automatici, aveva livelli di pH al di fuori dell'intervallo accettabile, questo può anche alterare il sapore del prodotto. La torbidità di 3 campioni supera il livello accettabile. Non ci sono campioni che avevano livelli di nitrati inaccettabili. Il ghiaccio prodotto dalle industrie aveva una migliore qualità microbiologica e chimica del ghiaccio confezionato nei locali e del ghiaccio dei distributori automatici.

Il ghiaccio è acqua congelata allo stato solido quando le temperature scendono al di sotto di 0 ° C. Il ghiaccio ha molti scopi risalenti a secoli fa, come ad esempio la conservazione degli alimenti, in realtà oggi si consuma da solo o miscelato a bevande per raffreddarle. Secondo il Packaged International Ice Association (IPIA), si stima che un totale di 2 miliardi di sacchetti di ghiaccio sono stati venduti dalla vendita al dettaglio, dall'ingrosso, dai distributori e da produttori, 800 milioni di sacchi sono attribuite ai produttori al dettaglio e 200 milioni di buste sono dai distributori automatici (15).

La Food and Drug Administration (FDA) stima che ogni americano compra circa 4 sacchi di ghiaccio confezionato ogni anno, e circa l'80% delle buste sono acquistate durante i mesi estivi (6). Nel complesso, il ghiaccio prodotto dall'industria ha aumentato la produzione nel secolo scorso.

Ci sono quasi 700 aziende che producono ghiaccio negli Stati Uniti e circa 500 di questi sono rappresentati da IPIA (3, 6).

Il ghiaccio è considerato un alimento da parte della FDA, ed ha disciplinato il confezionamento del ghiaccio destinato al commercio interstatale (1, 6).

I funzionari dell'Associazione di Food and Drug (AFDO) hanno pubblicato Good Manufacturing Practices (GMP) al fine di regolamentare le norme sanitarie per la produzione del ghiaccio confezionato (1).

Le norme GMP affermano che i produttori di ghiaccio devono attenersi alle regole sanitarie, per produrre, detenere, trasportare il ghiaccio in condizioni igienicamente adatte, devono monitorare la pulizia e l'igiene dei lavoratori, fare una corretta pulizia e manutenzione delle attrezzature, e utilizzare acque da una fonti affidabili e sicure (1, 6). Tutte le aziende che producono ghiaccio devono attenersi a tali GMP di base, anche se le norme vengono applicate in modo diverso da stato a stato.

Ci sono poche o quasi nessuna specifica norma sull'elaborazione del ghiaccio confezionato a livello statale e federale (19). L'IPIA ha pubblicato le norme di controllo sul confezionamento del ghiaccio (PIQCS), manuale che si basa sulle buone prassi di fabbricazione, adatto per il ghiaccio confezionato (14).

L'istituzione del Programma PIQCS / PIQCS- programma di produzione all'interno della società necessaria al fine di ottenere l'appartenenza alla IPIA (14).

Sebbene lo sviluppo e l'attuazione dell' "Hazard Analysis and Critical Control Point" ovvero "Analisi dei Rischi e punti Critici di Controllo" (HACCP), sia un piano non richiesto dalla FDA, l'attuazione dell' HACCP HACCP e i suoi prerequisiti sono richiesti, dall'IPIA (14). L'Organizzazione Mondiale della Sanità ovvero, "The World Health Organization" (WHO) ha dichiarato che il ghiaccio per essere consumato e affinché possa entrare a contatto con altri alimenti deve possedere le stesse qualità dell'acqua potabile (24).

I "Centers for Disease Control and Prevention" (CDC) ha segnalato focolai di malattie di origine alimentare nel corso degli ultimi decenni, in cui la causa della malattia è stata per contaminazione da ghiaccio (2).

Il CDC riporta che ci sono oltre 50.000 casi all'anno di malattie di origine alimentare segnalate, in cui l'origine è sconosciuta, ma il ghiaccio non è uno dei primi prodotti alimentari indagato, se non del tutto, come fonte di malattie, anche se è un prodotto ampiamente usato e molto venduto(2).

Il congelamento è un metodo ben noto per la conservazione degli alimenti e un passo fondamentale nella trasformazione dei prodotti alimentari, ma il processo di congelamento non distrugge tutti i patogeni presenti nel cibo (4, 11, 17). Sebbene il numero diminuisce, alcuni microrganismi possono sopravvivere al congelamento e, anche se le cellule possono essere ferite, gli altri microrganismi hanno la capacità di recuperare la loro redditività quando il ghiaccio si scioglie (4, 17).

Alcuni studi passati hanno rilevato la capacità dei microrganismi nel recuperare dopo essere stati congelati, il ghiaccio rappresenta un veicolo ideale per la trasmissione di batteri patogeni e virus attraverso i prodotti alimentari e le bevande (4, 17).

Kim e Harrison hanno dimostrato che il batterio E. coli O157: H7 può essere trasferito alla lattuga attraverso il ghiaccio sciolto a base di acqua contaminata (16). Essi hanno concluso che il ghiaccio è un possibile vettore di trasmissione del batterio E. coli O157: H7 alla lattuga e questa contaminazione può avvenire o per contatto diretto con acqua contaminata da ghiaccio sciolto o da lattuga contaminata a lattuga incontaminata(16).

E' stato dimostrato che l'imballaggio e il trasporto dei prodotti alimentari che vengono al contatto con il ghiaccio, come esempio il pesce, sono a rischio contaminazione, se non vengono rispettate le precauzioni raccomandate.

Un altro malinteso diffuso a cui molti credono, è che se sono presenti batteri patogeni nel ghiaccio, questi possono essere uccisi se miscelate da bevande ad alto contenuto alcolico, con alta acidità, e con carbonatazione, come la soda (7, 10). Dickens et al. Ha testato la sopravvivenza di diversi enteropatogeni batterici nel ghiaccio di bevande popolari, tra cui cola, whisky e tequila (9).

Sebbene molteplici fattori possano variare il risultato, come il numero e la tipologia degli organismi presenti inizialmente nell'acqua e la lunghezza del tempo congelato, Dickens ha concluso che nessuno degli organismi è stato mai completamente eliminato nelle bevande di prova quando il ghiaccio contaminato è stato aggiunto (9). Ci sono preoccupazioni circa la sicurezza dell'acqua potabile e il ghiaccio per bevande, soprattutto quando si viaggia in luoghi stranieri con un rifornimento idrico discutibile.

L'acqua di scarsa qualità o la mancanza di igiene durante la produzione e la sua movimentazione per produrre il ghiaccio possono contribuire alla presenza di microrganismi nocivi (4, 6, 9, 10, 13, 17). In aggiunta, il pH, torbidità, conducibilità, alcalinità e nitrato, concentrazione di acqua utilizzata per la produzione di ghiaccio può influenzare la presenza microbica e il sapore del ghiaccio (7).

Il ghiaccio può essere venduto in commercio ma non vengono costantemente monitorate ed assicurate le corrette condizioni igieniche. Questa indagine ha determinato la qualità microbiologica

e chimica del ghiaccio prodotto e imbustato in sede di commercio al dettaglio, dei distributori automatici di ghiaccio nello stato della Georgia e ha confrontato i risultati con quelli da ghiaccio prodotto dalle aziende specializzate nel settore che sono monitorate dall' IPIA.

Materiali e metodi

Raccolta dei campioni. Un totale di 250 buste di ghiaccio confezionato sono stati raccolti nello stato della Georgia, tra metà agosto e ottobre 2012 dalle imprese che producevano ghiaccio e distributori automatici di ghiaccio. Il numero dei campioni era basato sulla densità di popolazione delle comunità per tutto lo stato (Tabella 1). 149 campioni sono stati raccolti dalla vendita al dettaglio e minimarket, e 101 campioni sono stati raccolti da distributori automatici di ghiaccio, con un sacchetto di raccolta diverso secondo il luogo da cui veniva preso. I campioni sono stati raccolti dalle aziende che erano note per la produzione e l'imbustamento del ghiaccio.

I campioni sono stati acquistati nelle stazioni di benzina, franchising di ristorazione e negozi di liquori. Il ghiaccio è stato raccolto nelle buste fornite da loro stessi con il loro metodo di chiusura, ad esempio con un laccetto, clip in metallo, o nodo.

Le buste originali sono state piegate e messe in sacchi grandi, sterili, da 5 kg (Whirlpak®Nasco, Fort Atkinson, WI) questo nel caso in cui c'erano dei buchi nella prima confezione per evitare potenziali contaminazioni incrociate. Entrambe le buste sono state numerate con un pennarello indelebile corrispondente ad un numero su un foglio dati contenente informazioni e punti di identificazione chiave per quel determinato campione, compreso il nome e il tipo di struttura di vendita al dettaglio da cui è stato prelevato il campione, l'indirizzo, il tipo di chiusura della busta, e la sua etichettatura. Difetti evidenti del campione o dell'imbustamento sono stati registrati, e i campioni sono stati conservati nei dispositivi di raffreddamento di raccolta in un roulant in frigorifero (4 ° C) fino a che non fossero pronti per essere analizzati.

25 buste di ghiaccio confezionato sono stati raccolti da due diverse aziende di produzione di ghiaccio vicino ad Atlanta, in Georgia nel mese di gennaio 2013. Entrambe le società sono membri IPIA.

13 campioni sono stati raccolti dall'impianto A e 12 campioni prelevati dall'impianto B. I sacchetti di campionamento sono stati numerati e la provenienza è stata registrata sulla scheda. I campioni sono stati conservati nella collezione refrigerante in frigorifero (4 ° C) fino a che non fossero stati pronti per essere analizzati.. La Tabella 2 mostra la distribuzione di tutti i 275 campioni di ghiaccio confezionato e l'area della Georgia in cui sono stati raccolti.

Preparazione del campione. Il ghiaccio è stato mantenuto nei dispositivi di raffreddamento, in frigorifero a 4 ° C la raccolta e la preparazione del campione è stata completata entro 24h . I campioni di ghiaccio sono stati rimossi dalle loro buste originali e separati in sacchetti e contenitori con i numeri corrispondenti. Circa 1 L (o 1000 g) di ghiaccio è stato separato in un grande contenitore sterili, 2,6 kg (Whirlpak, Nasco) per l'analisi microbica, e circa 1 L (o 1000 g) è stato separato in bottiglie di plastica sterilizzati per l'analisi chimica. Il campione in eccesso è stato scartato. Le buste originali sono state conservate per i registri. Il ghiaccio è stato sciolto completamente ad una temperatura di (24 ° C) prima del test.

Esame microbiologico. Il tenore di germi eterotrofi (HPC) è stato registrato usando SimPlate® per HPC Multi Dose (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME). 1ml di campione di ghiaccio sciolto è stato lentamente pipettato al centro del SimPlate e 9 ml in media di ghiaccio sciolto proveniente dalle aziende produttrici, è stato idratato con 100 ml di acqua deionizzata sterile, ed è stato pipettato sul centro della piastra, sulla parte superiore del campione già pipettato prima da 1ml. La piastra è stata coperta con il coperchio e fatta ruotare delicatamente per far miscelare e distribuire il campione in tutti i pozzetti. Il piatto è stato inclinato in avanti per drenare il liquido in eccesso del tampone assorbente e invertito prima, è stato incubato a 35 ° C per 48 h. Dopo l'incubazione, le piastre sono state osservate a 365 nm ultravioletta (UV) e i pozzi fluorescenti sono stati contati. Il numero totale dei pozzetti positivi è stato contato e la tabella numero più probabile (MPN) che è specifica per la SimPlate è stata utilizzata per determinare il MPN dei batteri HPC presenti nel

campione.

Tutti i coliformi E. coli sono stati numerati utilizzando il Quanti-Tray e il kit Colisure® Assay (IDEXX Laboratories Inc.). 100 ml del campione di ghiaccio sciolto è stato pipettato in un recipiente multimediale sterile. Il contenuto del pacchetto disponibile Colisure reagenti sono stati aggiunti e 3-4 gocce di una soluzione antischiuma (I dexx Laboratories Inc.) è stata aggiunta al recipiente. Ogni soluzione è stata agitata fino a quando sono state disperse le particelle più grandi. La miscela del campione / reagente è stata versata in una vaschetta Quanti-Tray e sigillata con il Quanti-Tray Sealer (IDEXX Laboratories Inc.). Il vassoio sigillato è stato incubato nei pozzetti, sdraiato rivolto verso il basso, a 35 ° C per 24 h. I risultati sono letti in base al colore e se lo stesso fosse fluorescente sotto una luce UV 365 nm. Se il pozzetto fosse stato giallo/ oro, il risultato sarebbe stato negativo sia per i coliformi che per i E. coli. Se il pozzetto fosse stato rosso/ magenta questo avrebbe confermato la presenza di coliformi e se il rosso/ magenta fosse stato fluorescente, avrebbe confermato la presenza anche dei E. coli. Il numero dei pozzetti positivi è stato poi preso come riferimento nella MPN tabella specifica per i Quanti-Tray questo serve a determinare l'MPN di coliformi totali e/ o E. coli presenti nel campione.

Enterococchi (*Enterococcus faecalis*) sono stati registrati utilizzando il Quanti-Tray e il kit Enterocert® Assay (IDEXX Laboratories Inc.). 100 ml del campione di ghiaccio sciolto è stato pipettato in un recipiente multimediale sterile. Nel contenuto del pacchetto reagente Enterocert® sono stati aggiunti 3-4 gocce di una soluzione antischiuma. Ogni soluzione è stata agitata fino a quando sono state disperse le particelle più grandi.

La miscela campione/ reagente è stata versata in una vaschetta Quanti-Tray e sigillata con il Quanti-Tray Sealer. Il vassoio sigillato è stato incubato e messo nel pozzetto, sdraiato a faccia in giù a 41 ° C per 24-48 ore. La presenza di enterococchi nei pozzetti è stata rilevata dalla fluorescenza blu sotto una luce UV 365 nm. Il numero di pozzetti positivi è stato utilizzato come riferimento nell' MPN tabella specifica per il Quanti-Tray per determinare i batteri enterococchi presenti nel campione.

La presenza o l'assenza di *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* è stata determinata mediante filtrazione su membrana e metodi di arricchimento. 100 ml del campione di ghiaccio sciolto è stato filtrato attraverso un filtro Imbuto™ 0.45µ MicroFunnel (Pall Life Sciences, Ann Arbor, MI).

Con una pinzetta sterilizzata, il filtro è stato separato dall'imbuto, e messo in un sacchetto con 100 ml di liquido (contenente proteine e altri nutrienti per la coltura di batteri) di arricchimento universale (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD), lasciato per 1 min, e incubato a 35 ° C per 24 h.

Per l'arricchimento di *Salmonella*, 0,1 ml di campione di ghiaccio sciolto è stato miscelato nel liquido di pre-arricchimento (contenente proteine e altri nutrienti per la coltura di batteri) in una provetta di Rappaport Vassiliadis (RV), (Becton Dickinson), e 1,0 ml è stato trasferito in un tubo di Tetrathionate (TT) (Becton Dickinson); le provette sono state incubate per 24 ore a 42 ° C e 35 ° C. Dopo l'incubazione, porzioni di ciascun liquido erano striati utilizzando un ciclo sterilizzato su piastre separate di solfito di bismuto agar (BSA), xilosio-lisina-desossicolato (XLD) agar e Hektoen-enterico (HE) agar (Becton Dickinson). Le piastre sono state incubate a 35 ° C per 24 h. Colonie presumibilmente positive sono state sub coltivate a triplo ferro zucchero (STI) e lisina-ferro-agar (LIA) inclinazioni (Becton Dickinson) per un'ulteriore caratterizzazione. Per TSI e LIA propendeva ad avere reazioni positive tipiche da *Salmonella*, un Enterobacteriaceae Micro-ID® (Thermo Fisher Scientific, Lenexa, KS) è stato utilizzato per confermare l'identità e la presenza di *Salmonella*.

Per *L. monocytogenes*, una porzione del campione è stata messa in un liquido di pre-arricchimento che era stato striato e selettivamente modificato Oxford agar (Becton Dickinson) usando un ciclo sterilizzato dove è stato incubato per 24 ore a 35 ° C. Le colonie presumibilmente positive sono state messe in subcoltura in una piastra CHROMagar (Becton Dickinson) per l'arricchimento selettivo, e se il risultato fosse stato positivo con tipiche colonie *L. monocytogenes*, e micro-ID *Listeria* (Thermo Fisher Scientific) sarebbe stato, poi per conferma, utilizzato per l'identificazione delle colonie di *L. monocytogenes*.

Analisi Chimica. L'analisi chimica è stata effettuata solo su campioni raccolti dal commercio al dettaglio di ghiaccio e dai distributori automatici. Il Dual Input Hach HQ 440d da banco, multi-parametro Meter (Hach Company, Loveland, CO) è stata utilizzata rispettivamente per determinare la conducibilità, pH, e il livello di nitrati, utilizzando le sonde adeguate, CDC40101, PHC28101 e ISENO318101.

Le istruzioni del produttore sono state eseguite, e lo strumento è stato calibrato per ogni sonda prima di ogni periodo di campionamento. La torbidità è stata determinata utilizzando il LaMotte 2020 We Turbidity meter (LaMotte Company, Chestertown, MD). L'alcalinità dei campioni di acqua è stata misurata utilizzando le istruzioni metodo di titolazione pubblicati nella sezione 2320 of The Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (8).

Analisi statistica. L'analisi statistica è stata completata sui risultati dei test microbiologici e chimici del ghiaccio confezionato. Il significato e l'indipendenza delle variabili sono state determinate utilizzando test statistici comuni. L'analisi della varianza (ANOVA) è stata utilizzata per determinare se la relazione tra due variabili indipendenti (ad esempio, livelli HPC e le chiusure delle buste) era statisticamente significativa. Test esatto di Fisher's e il test del Chi-square sono stati entrambi utilizzati per determinare se le variabili indipendenti sono effettivamente indipendenti l'uno dall'altro. Il test rapporto di probabilità e l'analisi di regressione logistica sono state usate per esprimere quante più probabilità si verificheranno questi dati da una variabile in relazione ad un'altra variabile.

Risultati e discussione

In questo studio, il ghiaccio confezionato prelevato da più parti della Georgia è stato testato per verificare il numero di batteri presenti come eterotrofi e organismi indicatori, di Salmonella e Listeria monocytogenes. Eterotrofi e gli organismi indicatori sono utilizzati per valutare la sanificazione e condizioni igieniche delle zone di produzione, la contaminazione degli alimenti, compreso il ghiaccio e l'eventuale presenza di agenti patogeni (10, 21).

Questi organismi riflettono la qualità sanitaria del ghiaccio, la macchina del ghiaccio e paletta, la qualità dell'acqua con cui viene realizzato il ghiaccio, la contaminazione incrociata da superfici a contatto con alimenti e l'igiene personale di chi tratta il ghiaccio (10, 19, 21). La presenza di E. coli ed enterococchi, quali E. faecalis, che indicano la possibile contaminazione fecale (10).

L'IPIA ovvero "International Packaged Ice Association, ha stabilito dei limiti attraverso i test che rappresentano gli indicatori per la misura e il controllo della qualità del ghiaccio, questo rappresenta una maggiore tutela per il consumatore finale. Questi limiti prevedono che il tenore di germi eterotrofa di acqua non deve superare i 500 MPN / ml di acqua, coliformi totali, coliformi fecali, E. coli, enterococchi e non dovrebbe essere presente in 100 ml di acqua utilizzando MPN, non dovrebbero essere presenti batteri patogeni, come ad esempio Salmonella e Listeria monocytogenes.

Heterotrophic Plate Count, (Piastra che permette di rilevare il numero degli eterotrofi). I batteri eterotrofi sono naturalmente presenti nell'acqua e il livello di contaminazione è un indicatore comune della pulizia e della qualità dell'acqua potabile. Il numero su piastra di eterotrofi possono anche riflettere l'igiene generale della produzione e manipolazione del ghiaccio (4, 13, 21). La presenza di batteri eterotrofi non significa necessariamente un rischio di malattia, perché i numeri bassi si possono trovare in acqua trattata, ma dà una buona indicazione delle condizioni sanitarie durante lo stoccaggio e la manipolazione e l'efficienza dei trattamenti delle acque (5, 7,22).

Secondo l'OMS, il valore di HPC è un buon indicatore della effettiva coagulazione, filtrazione, disinfezione dell'acqua durante il suo processo di trattamento (22). In questo studio, 178 campioni (ovvero 71%) di tutte le macchine di vendita al dettaglio e distributore ghiaccio prodotto, contenevano un certo livello di eterotrofi, 16 campioni (ovvero 6,4%) superavano i limiti di peso inferiore a 500 MPN / ml di acqua (Tabella 3) consigliate da IPIA. La maggior parte dei campioni che ha superato i limiti sono stati quelli degli stabilimenti che si occupano della vendita al dettaglio del ghiaccio, principalmente i distributori di benzina.

Analisi del chi-square ha rivelato che i valori di HPC dipendevano dal tipo di ghiaccio, sia che si trattasse di produttori, o punti vendita o distributori automatici di ghiaccio ($p < 0,0001$). Tutto il ghiaccio prodotto aveva l'HPC nel livello accettabile, con solo 2 campioni avente crescita rilevabile (Tabella 3). In confronto, c'è stata una percentuale 3,5 volte maggiore possibilità che il ghiaccio acquistato da un negozio al dettaglio avrebbe avuto un valore superiore a quello del ghiaccio dei distributori automatici, che potrebbe essere attribuito alla maggiore movimentazione da parte dei lavoratori in un negozio al dettaglio.

Gli alti livelli di eterotrofi possono indicare il personale improprio di pratiche igieniche dei lavoratori presso gli stabilimenti di vendita al dettaglio, la contaminazione incrociata, o scarsa qualità d'acqua. La mancata contaminazione del ghiaccio prodotto indica un migliore controllo igienico in strutture che seguono le linee guida più specifiche (ad esempio, GMP, PIQCS, ecc). Il ghiaccio prodotto in queste strutture è fatto con poco contatto fisico da parte dei lavoratori e con meno possibilità di contaminazione crociata da superfici di contatto. Lo studio sulla qualità di ghiaccio confezionato raccolti in Iowa completato Moyer et al. (20) L'indagine include i membri e non membri dell'IPIA ma i campioni non sono stati raccolti da IPIA, società accreditata al superamento del limite di 500 MPN HPC / ml, a sostegno della domanda di ghiaccio di qualità superiore.

Totali Coliformi ed E. coli. Coliforms sono organismi indicatori e vengono utilizzati per valutare le condizioni igieniche, la possibile contaminazione fecale, e potenziale presenza di agenti patogeni (4,10). Un totale di 93 campioni (37,2%) provenienti da stabilimento di vendita al dettaglio e dei distributori automatici hanno superato i limiti raccomandati di coliformi totali (meno di 1MPN / 100 mL), insieme alla maggior parte di stazioni di servizio (Tabella 3). Solo in due campioni acquistati alla stazione di servizio non vi erano presenti patogeni di E. coli.

L'analisi di regressione logistica ha mostrato le probabilità di un sacchetto al minuto di ghiaccio avente un livello inaccettabile di coliformi totali, sono 1,87 volte più di quelle di un sacchetto da un distributore automatico di ghiaccio, ed entrambi hanno maggiori probabilità di contenere coliformi rispetto ai produttori. Ulteriori analisi chi-square ha dimostrato che non vi era una differenza statisticamente significativa tra produttori e distributori di ghiaccio (test esatto P-value di Fisher = 0,0009) e anche tra produttori e le buste vendute al dettaglio (Exact prova P-valore di Fisher $< 0,0001$) rispetto ai conteggi coliformi.

Rispetto agli studi precedenti effettuati da Schmidt et al., Gerokomou et al, e Moyer et al., La percentuale dei livelli inaccettabili di coliformi totali e E. coli sono stati leggermente superiori in questo studio (13, 20,23). Anche se la distribuzione della raccolta del campione variava tra alcuni di questi studi, i risultati sono abbastanza significativi per indicare problemi di igiene. Questi campioni non accettabili potrebbero indicare una fonte di acqua contaminata, palette o utensili non-sterilizzata, processo di confezionamento antigenico o la manipolazione personale poco igienica (13, 19, 20).

A meno che le macchine dei self-service distributori automatici di ghiaccio non vengano mantenute correttamente e controllate affinché si limiti la presenza di insetti e animali, ci potrebbe sempre essere una maggiore possibilità di contaminazione, Nessun coliformi o E. coli sono stati rilevati nel ghiaccio da impianti che producono il ghiaccio (Tabella 3), il che indica che seguono una buona pratica sanitaria, ed igienica. I membri IPIA dallo studio fatto da Moyer et al. (20) non hanno evidenziato risultati positivi nel corso della loro indagine.

Batteri Enterococchi. Enterococchi, comunemente *Enterococcus faecalis*, in genere possono essere trovati in intestini umani e animali e possono anche essere indicatori di scarsa condizione igienico sanitarie durante la produzione del ghiaccio (18). Proprio come con i coliformi ed E. coli non patogeni, la presenza di enterococchi non significa necessariamente che si verifichi la malattia; tuttavia, esso può indicare la presenza di patogeni fecali che potrebbero causare nausea, vomito, dolore addominale e diarrea (18).

Non ci sono campioni presi dagli impianti di produzione di ghiaccio testati che abbiano dato un risultato positivo per gli enterococchi. Al contrario invece, 32 campioni (12,8%) presi dalla Vendita al dettaglio e dai distributori automatici di ghiaccio contenevano livelli inaccettabili di enterococchi, il superamento del limite era di 1,0 MPN /100 ml. Questo risultato si verificava in particolare nei campioni recuperati dalle stazioni di servizio (Tabella 3). Sulla base dei test di rapporto di verosimiglianza, le probabilità che un sacchetto di vendita al dettaglio possa avere un livello inaccettabile di enterococchi sono di 3,3 volte superiore rispetto ai campioni dei distributori automatici, ed entrambi hanno maggiori probabilità di contenere enterococchi del ghiaccio prodotto. Questi risultati potrebbero essere associati ai luoghi dove avviene il processo della produzione.

Il ghiaccio dei distributori automatici e degli impianti di produzione hanno meno probabilità di essere trattati da dipendenti e quindi di venire a contatto con sostanze contaminanti. Ancora una volta, questi risultati indicano che il ghiaccio prodotto dalle aziende specializzate nel settore è qualitativamente migliore in quanto seguono le condizioni igieniche sanitarie rispetto a quelli che confezionano il ghiaccio per venderlo e dei distributori automatici self-service.

Salmonella e di altri Organisms. Indipendentemente dalla fonte, nessun campione è risultato positivo alla *L. monocytogenes*. Il Virus della Salmonella non è stato rilevato nel ghiaccio prodotto dalle aziende specializzate nel settore, ma su un campione preso dalla vendita al dettaglio, e su un campione preso da un servizio di ristorazione franchising. Nonostante la presenza di questo organismo è stata confermata e il numero di cellule è noto, non è stato possibile determinare se il consumo di questo ghiaccio contaminato avrebbe causato la malattia. Tuttavia, la sola presenza suscita ancora preoccupazione per le condizioni del luogo in cui il campione è stato acquistato. La presenza di Salmonella dimostra un più grave livello di contaminazione e la necessità di prestare maggiore attenzione alla pulizia.

Agglomerans Enterobacter è stato anche rilevato in un campione prelevato da un distributore automatico di ghiaccio. Si tratta di una specie Enterobacter con una dose infettiva sconosciuta e si trova nelle feci degli esseri umani sani (12). Questo microrganismo può causare gastroenterite acuta con sintomi quali vomito, nausea, dolore addominale e diarrea (12). La prevalenza di questi microrganismi è relativamente sconosciuta al CDC perché i sintomi sono a volte lievi e mai denunciati (12). La presenza di *E. agglomerans* è un po' più significativo della presenza degli organismi indicatori, quali coliformi o batteri eterotrofi, perché fanno parte delle malattie alimentari.

Campioni di distribuzione di vendita al dettaglio e distributore automatico. La tabella 4 mostra la distribuzione geografica di campioni raccolti che hanno avuto un esito inaccettabile. Entrambe le regioni del sud-est e del sud dello stato sono stati trovati ad avere un'alta probabilità di scarsa qualità di ghiaccio prodotto dalla vendita al dettaglio e dai distributori automatici di ghiaccio imbustato. Più della metà di questi campioni, di queste due regioni, conteneva un livello inaccettabile di coliformi ed enterococchi. I risultati del test di rapporto di verosimiglianza indicano che ci sono alte probabilità che le città nella parte sud-est dello stato avranno un livello inaccettabile di HPC, coliformi totali e streptococchi fecali rispetto al resto dello stato, in questa particolare categoria di ghiaccio (vendita al dettaglio e distributore automatico di sacchi di ghiaccio).

I livelli di coliformi totali sono dipesi dalla posizione da cui sono stati ottenuti i campioni ($p < 0,0001$), ma non è stato lo stesso per il livello di HPC ed enterococchi.

Influenza sulla qualità microbica per il tipo di busta e chiusura. Le buste dei campioni ottenuti da aziende di produzione sono stati chiusi con clip metalliche, e come indicato nei paragrafi precedenti, vi era poca o nessuna crescita microbica presente. Pertanto, l'analisi statistica è stata svolta solo per i distributori in loco di ghiaccio prodotta a macchina. La maggior parte dei campioni di distributori automatici sono stati chiusi con una laccio annodato, ad eccezione di cinque campioni.

Circa il 40% dei campioni chiusi con i lacci annodati aveva livelli inaccettabili di coliformi (Table5). Due buste sono state chiuse con nastro adesivo e entrambi erano inaccettabili per i coliformi e uno per gli enterococchi.

Un campione in cui il sacchetto è stato sigillato automaticamente dal distributore di ghiaccio non aveva alcuna crescita positiva per uno o qualsiasi degli organismi. Sebbene il test esatto di Fisher ha determinato che non vi era alcuna relazione significativa tra tutte le variabili microbiche e chiusura del sacchetto, i risultati suggeriscono che vi è la necessità di metodi sanitari più sicuri per le chiusure di tali buste, come una sigillatura meccanica. Una procedura sanitaria e un metodo più automatico di chiusura per il ghiaccio confezionato come quello usato per il ghiaccio prodotto dalle aziende specializzate nel settore, potrebbe tradursi in una migliore qualità del prodotto imbustato.

Analisi Chimica. Incluso nel programma IPIA PIQCS vi sono norme di sicurezza per la qualità chimica dell'acqua utilizzata per la produzione di ghiaccio confezionato. Al fine di soddisfare le condizioni per l'accreditamento PIQCS, i produttori devono seguire gli standard attuali fissati dalla Environmental Protection Agency (EPA) e i relativi regolamenti di Acqua potabile nazionale primario e secondario (7, 14).

Secondo gli standard secondari EPA, il valore del pH accettabile per l'acqua potabile è 6.5 - 8.5, inferiore a 1,0 unità nephelometric (NTU) per torbidità, un livello di nitrati inferiore a 10 mg / l, e un livello di alcalinità inferiore a 500 mg / l CaCO₃ (7). Non ci sono limiti specifici fissati per i livelli di conducibilità di acqua potabile. I risultati delle analisi chimiche svolte sul ghiaccio confezionato raccolti dalla vendita al dettaglio e distributori automatici self-service sono mostrati nelle Tabelle 6 e 7.

Dei 250 campioni, 95 (38%) campioni del ghiaccio confezionato sono usciti fuori dai parametri accettabili del pH, con 37 (39%) campioni di distributori e 58 (61%) campioni di vendita al dettaglio inaccettabili. Secondo test esatto di Fischer, esiste una relazione distinta tra il valore pH e il tipo di ghiaccio, il ghiaccio prodotto in un esercizio al dettaglio ha una maggiore probabilità di avere valore inaccettabile ovvero basso pH, mentre i distributori di ghiaccio tendono ad avere una maggiore probabilità di avere un valore inaccettabile ovvero pH elevato (p-value <0,0001). Più della metà (50,6%) dei campioni provenienti dalle stazioni di servizio e dagli stabilimenti di ristorazione (57,1%) erano al di fuori dei parametri accettabili di 6,5-8,5.

L'acqua con un pH troppo alto o troppo basso non significa che non è sicura, ma ha effetti estetici sul gusto e l'odore. Quando un pH è troppo basso, l'acqua è più acida e può diventare corrosiva. Un sapore amaro o metallico può derivare dal rame e piombo in fase di passaggio dai tubi che portano l'acqua (7). Il livello di metallo in acqua potrebbe essere un potenziale problema. Un pH troppo alto può causare all'acqua un senso di "viscosità" e un gusto di soda al consumatore a causa degli elevati livelli di minerali alcalini presenti (7). Il livello di alcalinità è la misura dei minerali e la concentrazione di metalli delle terre presenti e viene utilizzata per determinare l'efficacia dei trattamenti dell'acqua. Nessun campione ha superato il limite stabilito dall'EPA, con il valore più alto misurato a 127,68 mg / l CaCO₃ da un campione preso in un'attività di ristorazione nel nord di Atlanta.

Solo 3 campioni avevano livelli di torbidità che hanno superato il livello raccomandato di 1 NTU, 1 campione essendo da un distributore automatico e 2 campioni raccolti da una stazione di servizio. La torbidità è la misura della nitidezza dell'acqua e viene utilizzata per mostrare la qualità dell'acqua e l'efficace filtrazione (7). Un elevato livello di torbidità è associata a livelli elevati di microrganismi presenti nell'acqua e vi è un maggior rischio di potenziale malattia se consumato (7). Il campione con elevata torbidità raccolto dal distributore automatico è stato anche dimostrato di avere un livello inaccettabile di coliformi totali.

Tuttavia, i due campioni con alti livelli di torbidità non avevano una significativa crescita di batteri che mostrano una scarsa correlazione tra il livello di torbidità e la crescita batterica in questa indagine. Nessun campione ha riscontrato di avere livelli inaccettabili di nitrati nell'acqua. Questi problemi possono di solito essere rilevati attraverso una corretta filtrazione e test consistente, che è richiesto dal IPIA essere PIQCS accreditati (7, 14).

In conclusione, questo studio indica meno problemi sanitari se il ghiaccio è prodotto dalle aziende esperte nel settore rispetto a quel ghiaccio confezionato nei locali dove avviene la vendita e dei

distributori automatici di ghiaccio. Le aziende produttrici sono tenute a seguire il GMP che sono stati istituiti dalla FDA (1). Inoltre, i membri di queste organizzazioni, come l'IPIA, sono tenuti a seguire non solo questi GMP, ma anche le linee guida PIQCS che incorporano un programma HACCP per queste società (14). Il congresso diretto dalla FDA mira ad educare i produttori per quanto riguarda la produzione sicura del ghiaccio (19). La pubblicazione di un foglio Food Facts per informare il pubblico sulle normative FDA esistenti che si applicano ai produttori di ghiaccio questo potrebbe anche essere utile se applicato a quelle posizioni che si ostinano a fare e vendere il proprio ghiaccio.

E' fondamentale per formare ed educare i lavoratori in questi luoghi circa le adeguate pratiche igieniche, l'importanza della regolare pulizia e sanificazione, i rischi di trasferimento di acqua contaminata e ghiaccio, e le tecniche di prevenzione da adottare per evitare di provocare qualsiasi malattia di origine alimentare. I consumatori che acquistano ghiaccio dovrebbero essere istruiti circa il rischio che prendono con l'acquisto di questo prodotto e i modi in cui possono anche prevenire la contaminazione incrociata nelle proprie case.

Tabella 1.

Tipi di campioni di ghiaccio prelevati da aziende di produzione, commercio al dettaglio, e di auto distributori automatici di servizio.

	# Di campioni	% Dei campioni totali	% Di vendita al dettaglio totale
Totale campioni	275	100	-
Produttore	25	9,01	-
Distributore automatico	101	36,7	-
al dettaglio	149	54,2	-
Distributori di benzina	81	29,5	54,4
Negozi di Liquori	19	6,9	12,8
Servizio di ristorazione	49	17,8	32,8

Tabella 2.

La distribuzione del campione di ghiaccio confezionato acquistati dai dettaglianti con il -luogo produzione di ghiaccio, auto - servizio di distributori automatici e ghiaccio prodotto in un impianto di produzione.

Regioni (Città)	# Di vendita al dettaglio (%)	# Di Distributori (%)	# di Produttori %	Totale %
nord-est (Atene commercio Gainesville)	19 (12.7)	22 (21,8)	0 (0)	41 (14.9)
Oriente (Augusta)	7 (4.7)	12 (11.9)	0 (0)	19 (6.9)
Nordovest (atlanta Marietta Alpharetta Griffin)	33 (22.1)	15 (14.8)	25 (100)	73 (26.6)
Sud (Valdaosta Albany marcon)	32 (21.5)	30 (29,7)	0 (0)	62 (22.5)
sud-est (Savannah)	29 (19.5)	12 (11.9)	0 (0)	41 (14.9)
Occidente (Columbus La Grande)	29 (19.5)	10 (9.9)	0 (0)	39 (14.2)
totale	149	101	25	275

Tabella 3.

Frequenza di livelli accettabili e inaccettabili di batteri eterotrofi, coliformi, enterococchi e nella vendita al dettaglio stabilimenti e self-service distributore automatico ghiaccio prodotto in base alle diverse fonti di vendita al dettaglio.

	num. totali di campioni	Batteri eterotrofi a		Batteri coliformi b		Batteri enterococchi c	
		num. Di campioni con limiti accettabili %	num. Di campioni con limiti inaccettabili %	num. Di campioni con limiti accettabili %	num. Di campioni con limiti inaccettabili %	num. Di campioni con limiti accettabili %	num. Di campioni con limiti inaccettabili %
Produttori di ghiaccio	25	25 (100,0)	0 (0,0)	25 (100,0)	0 (0,0)	25 (100,0)	0 (0,0)
Totali campioni segnalati in loco	250	234 (93,6)	16 (6,4)	157 (62,8)	93 (37,2)	218 (87,2)	32 (12,8)
Distributore automatico	101	97 (96,0)	4 (4,0)	72 (71,3)	29 (28,7)	95 (94,1)	6 (5,9)
Rivenditori	149	137 (91,9)	12 (8,1)	85 (57,0)	64 (43,0)	123 (82,5)	26 (17,5)
Distributori di benzina	81	72 (88,8)	9 (11,1)	39 (48,1)	42 (51,9)	65 (80,2)	16 (19,8)
Negozi di liquore	19	18 (94,7)	1 (5,3)	15 (78,9)	4 (21,1)	15 (78,9)	4 (21,1)
Servizio di ristorazione	49	47 (95,9)	2 (4,1)	31 (63,3)	18 (36,7)	43 (87,7)	6 (12,3)

a

Il livello accettabile è basato su parametri di IPIA <500 MPN / ml di acqua.

b

Il livello accettabile è basato su parametri IPIA <1 MPN / 100 ml di acqua.

c

Il livello accettabile è basato su parametri IPIA <1 MPN / 100 ml di acqua.

tabella 4.

Numero (%) dei campioni di ghiaccio confezionati che superano i limiti accettabili, ritirato dal commercio a dettaglio e self-service distributori automatici in diverse regioni in Georgia

regioni	# Totale di campioni	# Con inaccettabile livelli di HPC (%) ^a	# Con livelli inaccettabili di Coliformi (%) ^b	# Con livelli inaccettabili di enterococchi (%) ^c
nord-est	41	2 (12.5)	9 (9.7)	2 (6.3)
Est	19	0 (0.0)	3 (3.2)	1 (3.1)
nordovest	73	3 (18.8)	8 (8.6)	7 (21.9)
sud	62	0 (0.0)	29 (31.2)	10 (31.2)
sud-est	41	9 (56,2)	30 (32.2)	5 (15.6)
ovest	39	2 (12.5)	14 (15.1)	7 (21.9)
totale	275	16 (100,0)	93 (100.0)	32 (100,0)

a

accettabile tenore di germi eterotopica (HPC) livello si è basata sul livello di IPIA <500 MPN / ml di acqua.

b

Livello di coliformi accettabile è stato basato sul IPIA livello di <1MPN / 100 ml di acqua.

c

accettabile enterococchi livello era basata sul livello IPIA di <1MPN / 100 ml di acqua.

tabella 5.

Numero di ghiaccio confezionato campioni che hanno superato i limiti accettabili in base ai vari tipi di chiusure sacchetto offerto da commercio al dettaglio e di auto-distributori automatici di servizio per il conteggio eterotrofi piastra (HPC), coliformi totali ed enterococchi.

Tipologie di buste	# Totale di campioni	# Con livelli inaccettabili di HPC (%) ^a	# con livelli inaccettabili di Coliformi (%) ^b	# Con livelli inaccettabili di enterococchi (%) ^c
annodata	17	1 (6.3)	4 (4.3)	2 (6.3)
clip in metallo	23	3 (18.7)	13 (14.0)	4 (12.5)
nessuna chiusura	5	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
filo	33	1 (6.3)	9 (9.7)	6 (18.8)
arrotolate	169	11 (68,7)	65 (70.0)	19 (59.4)
altro ^d	3	0 (0.0)	2 (2.2)	1 (3.1)
totale	250	16 (100,0)	93 (100.0)	32 (100.0)

^a accettabile presenza di germi eterotrofica (HPC) livello è stato basato sui parametri IPIA di <500 MPN / ml di acqua.

^b accettabile livello di coliformi, basato sui parametri IPIA di <1MPN / 100 ml di acqua.

^c Livello di enterococchi accettabile, basato sui parametri IPIA di <1MPN / 100 ml di acqua.

^d Un sacchetto è stato sigillato; 2 borse sono state chiuse con un nastro.

Tabella 6.

Sintesi delle concentrazioni di pH, torbidità, conducibilità, alcalinità e nitrati per i campioni di ghiaccio provenienti da dettaglianti e distributori automatici.

variabile	N	Mean	std Dev	minimo	massimo
pH	250	7,24	1,01	4,65	9,83
Torbidità	250	0,21	0,33	-0,07	4,40
Conducibilità	250	70,39	75,32	2,33	574,5
Alcalinità	250	16,94	21,65	1,64	127,68
nitrato	250	1,15	0,63	0,02	3,69

tabella 7.

Analisi chimica di ghiaccio, ritirato dai dettaglianti e distributori automatici self-service basato su limiti stabiliti dal Environmental Protection Agency a.

	pH		Torbidità		Concentrazioni di Nitrati	
	# Accettabile (%)	# inaccettabile (%)	# Accettabile (%)	# inaccettabile (%)	# Accettabile (%)	# inaccettabile (%)
Totale	155 (62,0)	95 (38,0)	247 (98,8)	3 (1,2)	250 (100,0)	0 (0,0)
Distributore automatico	64 (63,4)	37 (36,6)	100 (99,0)	1 (1,0)	101 (100,0)	0 (0,0)
Rivenditori	91 (61,1)	58 (38,9)	147 (98,7)	2 (1,3)	149 (100,0)	0 (0,0)
Distributori di benzina	40 (49,4)	41 (50,6)	79 (97,5)	2 (2,5)	81 (100,0)	0 (0,0)
Negozi di liquore	17 (89,5)	2 (10,5)	18 (100,0)	0 (0,0)	19 (100,0)	0 (0,0)
Servizio di ristorazione	21 (42,8)	28 (57,2)	49 (100,0)	0 (0,0)	49 (100,0)	0 (0,0)

a Limiti fissati dalla EPA per il pH (6,5- 8.5), torbidità (<1.0 NTU), e concentrazioni di nitrati (<10 mg / L).

Fonti

Anonymous. 1989. Guidelines for the inspection and enforcement for GMP regulations for 374 handling and manufacturing packaged ice.

J. Assoc. Food Drug Officials
. 53:70-74 375 2.

Anonymous. 1990. Waterborne disease outbreaks, 1986-1988. CDC surveillance summary. 376 39:1-9. Available at: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001596.htm>. 377 Accessed on 01 February 2014 378 3.

Anonymous. 2004. Ice manufacturing: 2002. U.S. Department of Commerce: Economics and 379 Statistics Administration. Available at: 380 <http://www.census.gov/prod/ec02/ec0231i312113.pdf>. Accessed on 01 February 2014 381 4.

Anonymous. 2005. The microbiological quality of edible ice from ice manufacturing plants 382 and retail businesses in Hong Kong. Food and Public Health Branch: Risk Assessment 383 Section. Available at: 384 http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_rafs/files/edible_ice_ra.pdf. 385 Accessed 01 February 2014 386 5.

Anonymous. 2008. Significance of heterotrophs in drinking water. Health Canada. Available 387 at: http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/heterotrophic-heterotrophes/index-388_eng.php Accessed on 01 February 2014 389 6.

Anonymous. 2010. FDA regulates the safety of packaged ice. International Packaged Ice 390 Association. Available at: 391 <http://www.packagedice.com/downloads/FDA%20Regulates%20the%20Safety%20of%20Packaged%20Ice.pdf>. Accessed on 01 February 2014 393 7.

Anonymous. 2012. Drinking water contaminates. Environmental Protection Agency. 394 Available at: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#List>. Accessed on 01 395 February 2014 396

APHA. 1998.
Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater
. 20th edition. 397 American Public Health Association 398 9.

Dickens, D., H. Dupont, and P. Johnson. 1985. Survival of bacterial enteropathogens in the 399 ice of popular drinks.
J. Amer. Med. Assoc
. 252: 3141-3143 400 10.

Falcão, J., A. Dias, E. Correa, and D. Falcão. 2002. Microbiological quality of ice used to 401 refrigerate foods.
Food Micro
. 19:269-276 402 11.

Falcão, J., D. Falcão, and T. Gomes. 2004. Ice as a vehicle for diarrheagenic
Escherichia
403
coli
.
Int. J. Food Micro
. 91:99-103 404 12.

FDA.

Bad Bug Book - Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins

. 2nd 405 edition. Available at: 406

<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>. Accessed on 01 February 2014 408 13.

Gerokomou, V., C. Voidarou, A. Vatopoulos, E. Velonakis, G. Rozos, A. Alexopoulos, S. Plessas, E. Stavropoulou, E. Bezirtzoglou, P. Demertzis, and K. Akrida-Demertzi. 2011. 410 Physical, chemical, and microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in 411 Greece and its public health implications. *Anaerobe*. 17:351-353 412 14.

International Packaged Ice Association. 2005. PIQCS Manual. Available at: 413

<http://www.reddyice.com/employee/files/PIQCS%20Manual.pdf>. Accessed on 01 March 414 2013 415 15.

International Packaged Ice Association. 2012. Packaged Ice Industry Estimates. 416 16.

Kim, J. and M. Harrison. 2008. Transfer of

Escherichia coli

O157:H7 to romaine lettuce due 417 to contact water from melting ice.

J. Food Prot

. 71:252-256 418

Lateef, A., J. Oloke, G. Kana, and E. Pacheco. 2006. The microbiological quality of ice used 419 to cool drinks and foods in Ogbomoso metropolis, southwest, Nigeria.

J. Food Saf

. 8:39-43 420 18.

Lund, B., T.C. Baird-Parker. 2000.

Microbiological Safety and Quality of Food

. Springer 421 Publishers. 1

st edition: 1403-1404. 422 19.

McEwen, J. 2010. Conference for Food Protection. Packaged Ice Manufacturing at Retail. 423 Available

at: <http://www.foodprotect.org/biennial-424>

[meeting/issues/2010Packet/issues/print/III_021.pdf](http://www.foodprotect.org/biennial-424/meeting/issues/2010Packet/issues/print/III_021.pdf). Accessed on 01 February 2014 425 20.

Moyer, N., G. Breuer, N. Hall, J. Kempf, L. Friell, and G. Ronald. 1993. Quality of packaged 426 ice purchased at retail establishments in Iowa.

J. Food Prot

. 56:426-431 427 21.

Nicholas, G., I. Gillespie, and J. DeLouvois. 2000. The microbiological quality of ice used to 428 cool drinks and ready-to-eat food from retail and catering premises in the United Kingdom.

J.

429

Food Prot

. 63: 78-82 430 22.

Robertson, W. and T. Brooks. 2003. The role of HPC in managing the treatment and 431 distribution of drinking-water.

World Health Organization. Available at: 432 http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/HPC12.pdf. Accessed

24 March 2013 433 23.

Schmidt, R. and G. Rodick. 1999. Microbial, physical, and chemical quality of packaged ice 434 in Florida.

J. Food Prot

. 62: 526-531 435 24. World Health Organization. 1997. Guidelines for drinking-water quality. Surveillance and 436

Control of Community Supplies. 2(3); Available at: 437

http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwqv0132ed.pdf. Accessed on 01 438 February 2014

439 440