Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

Investigation of microbial and protozoan contaminations in traditional fruit juices of Alborz province

Amir Behravi

D.V.M. Graduate, Department of Food Hygiene and Quality Control, Ka. C., Islamic Azad University, Karaj, Iran. E-mail: amirbehravi@gmail.com

Zohreh Mashak

*Corresponding author. Associate Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Ka. C., Islamic Azad University, Karaj, Iran. E-mail: mashak@kiau.ac.ir

Marziye Kefayat

Assistant Professor, Department of parasitology, Ka. C., Islamic Azad University, Karaj, Iran. E-mail: marziye.kefayat@kiau.ac.ir

Abstract

Objective

Fruit juice is a product obtained mechanically from healthy and ripe fruits. Due to its richness in essential vitamins and nutrients, it can strengthen the immune system and protect the body against various diseases. Traditional fruit juices prepared and sold by juice vendors, despite their pleasant taste and retention of vitamins and minerals, may be contaminated with pathogenic agents. These contaminations can occur during different stages of production, including cultivation, harvesting, juice extraction, use of additives, poor hygiene practices by staff, or through contaminated containers, surfaces, and equipment used in the sales environment. The most significant contaminants in fruit juices include coliform bacteria, *Salmonella*, *Escherichia coli*, and protozoan parasites such as *Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Entamoeba*. This study aims to investigate certain microbial (*coliforms*, *Salmonella*, and *E. coli*) and protozoan (*Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Entamoeba*) contaminations in traditional fruit juices of Alborz Province for the first time.

Materials and methods

A total of 100 fruit juice samples were randomly purchased from various sales locations in Alborz Province, collected in sterile glass containers, and immediately transported on ice to the Food Laboratory of Islamic Azad University, Karaj. The samples were tested for microbial

contamination (microbial cultures) and protozoan contamination (specific staining and polymerase chain reaction). Statistical analysis was performed using SPSS v.22. To assess the relationship between juice type and parasitic contamination, Phi and Cramer's V tests were used. For comparing molecular and staining methods based on microscopic observations, binomial distribution and Kappa coefficient tests were applied. One-way ANOVA and Tukey's test were used for microbial analysis.

Results

Contamination rates for *E. coli* and *Salmonella* were 24% and 25%, respectively. Protozoan contamination rates for *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* were 17%, 11%, and 14% using specific staining, and 6%, 10%, and 14% using PCR.

Conclusion

This study revealed that traditional fruit juices offered to the public can be a source of microbial and protozoan parasitic infections transmissible to humans. Therefore, continuous monitoring, education, and inspection by health experts at juice and traditional food sales centers can help reduce juice-borne diseases.

Keywords: Alborz province, fruit juice, microbial contamination, protozoa

Paper Type: Research Paper

Citation: Behravi, A., Mashak, Z., & Kefayat, M. (2026). Investigation of microbial and protozoan contaminations in traditional fruit juices of Alborz province. *Agricultural Biotechnology Journal,* 18(1), 55-76.

Agricultural Biotechnology Journal, 18(1), 55-76. DOI: 10.22103/jab.2025.25639.1742

Received: September 29, 2025. Received in revised form: November 16, 2025.

Accepted: November 17, 2025. Published online: January 15, 2026.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian Biotechnology Society.

Introduction

Food can be considered one of the main sources of chemical and biological contamination. It is estimated that about 70% of infectious diseases, including more than 450 types of viral, parasitic, fungal, and bacterial diseases, are transmitted to humans through unsafe food. Fruit juice

is among the most widely consumed beverages worldwide. In addition to supplying the body's water requirements, it provides natural antioxidant compounds that may play a role in preventing cardiovascular diseases and certain cancers. However, fruits and vegetables used in juice processing may be exposed to microbial and parasitic contamination. Such contamination can occur through irrigation with polluted water, the use of human and animal fertilizers in farms, and chemical pollutants resulting from pesticide application. Parasitic diseases are among the most common human infections. Fruit juice is a liquid naturally found in plants and is one of the most popular beverages worldwide. It is an unfermented but fermentable product, clear or turbid, obtained mechanically or manually from healthy and ripe fruits, consumed directly, and considered a significant source of micronutrients such as minerals and vitamins. It also serves as an appropriate means of replenishing body fluids, particularly in hot seasons. These juices contain natural antioxidant compounds that help prevent many diseases, including cardiovascular disorders and certain cancers. In the market, two types of fruit juices are available: packaged and freshly prepared. Fresh juices offered in juice shops, although more palatable and richer in vitamins and minerals, can act as potential sources of contamination if hygienic standards in washing, extraction, and distribution are not observed. Contamination may occur either before or after juice extraction. Among the most important pathogenic bacteria contaminating fruit juices are various coliforms, fecal coliforms, *Staphylococcus aureus*, molds, yeasts, and *Salmonella*. Coliforms are considered reliable microbial indicators for assessing hygienic quality. *Escherichia coli* and *Salmonella*, members of the Enterobacteriaceae family, are recognized as fecal-origin contaminants and foodborne pathogens. The growth of molds and yeasts is also hazardous due to their production of mycotoxins, which can have fatal effects on humans. The presence of these microorganisms in liquid food products such as fruit juices indicates the possible existence of pathogens and deficiencies in hygienic practices during production, storage, or packaging. Therefore, in food quality control, precise microbial evaluation—such as testing for coliforms and intestinal microorganisms, is essential. The aim of this study was to investigate some microbial and protozoan contaminations in traditional fruit juices of Alborz Province, conducted for the first time in this region.

Materials and Methods

This descriptive cross-sectional study was conducted on 100 samples of traditional fruit juices (carrot, carrot-ice cream, banana-milk, mango, watermelon, sour cherry, melon, apple, celery, pomegranate, melon-ice cream, barberry, orange) collected from juice shops across Alborz Province during the spring and summer of 2024. For each sample, 600 mL of juice was collected in sterile glass containers, immediately placed on ice, and transported to the Food Hygiene

Laboratory of Islamic Azad University, Karaj. Initially, 100 mL of each sample was mixed with 50 mL of distilled water, and the suspension was passed through two layers of sterile medical gauze. Each sample was centrifuged twice at 2000 rpm for 5 minutes using a digital 8-branch centrifuge (Hettich, Germany, model EBA20). The supernatant was discarded, and the pellet was resuspended in 5 mL of phosphate-buffered saline (PBS). To detect *Cryptosporidium* oocysts, *Entamoeba* cysts, and *Giardia* cysts, three smears were prepared from each homogenized sample. Modified Ziehl–Neelsen and Trichrome staining methods were applied. Slides were examined microscopically in triplicate for the presence or absence of protozoa. Genomic DNA was extracted from the samples and was stored at –20 °C until PCR analysis (within one week). PCR reactions were performed. Serial tenfold dilutions of juice samples were prepared. For surface plating on nutrient agar, 0.1 mL of each dilution was inoculated, and plates were incubated at 37 °C for 24 hours. Each culture was performed in duplicate. Plates with standard colony counts (30–300 colonies per plate) were selected, and the mean colony counts were calculated. Coliforms were enumerated using the Most Probable Number (MPN) method with a 9-tube series arranged in three sets of triplicates, inoculated into Brilliant Green Bile Lactose Broth (BGB) and incubated at 37 °C / 48 hrs. Positive tubes (turbidity and gas in inverted Durham tubes) were confirmed by reinoculation into fresh BGB medium with Durham tubes at 37 °C / 48 hrs. For fecal coliform confirmation, positive tubes were transferred to peptone water and BGB, incubated at 44 °C/24 hrs. Positive results were indicated by turbidity in BGB, gas production in Durham tubes, and a red ring after Kovac's reagent in the indole test. Additionally, Eosin Methylene Blue (EMB) agar was used for selective identification of *E. coli*. Plates were incubated at 37 °C/ 48 hrs, and colonies showing a characteristic metallic green shine were considered indicative of *E. coli*. For *Salmonella* detection, 25 g of each sample was mixed with 225 mL of lactose broth and incubated at 37 °C/18 hrs. One milliliter of this culture was transferred to enrichment media (Tetrathionate broth and Selenite cysteine broth), incubated at 44 °C and 37 °C respectively for 24 hours. A loopful from each enrichment culture was streaked onto selective media: Salmonella-Shigella agar (SSA) and Brilliant Green agar (BGA). After 24 hours of incubation at 37 °C, colonies appearing colorless with black centers on SSA and pink-red colonies on BGA were considered presumptive *Salmonella*. Suspected colonies were further confirmed using Triple Sugar Iron agar (TSI), Lysine Iron agar (LIA), and urea tests. For parasitological examinations, statistical analysis was performed using SPSS version 22. The relationship between juice type and parasitic contamination was assessed using Phi coefficient and Cramér's V. Comparison of molecular and microscopic diagnostic methods was conducted using the Binomial test and Kappa coefficient. For microbiological assays, one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test was applied to evaluate significant differences among groups.

Results

The results of protozoan contamination in fruit juice samples, detected by both specific staining and molecular (PCR) methods, are presented in Table 2. Microscopic staining revealed contamination with *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia* in 11%, 17%, and 14% of samples, respectively. Using PCR, contamination rates were 10%, 6%, and 14%, respectively. Correlation analysis using Phi coefficient and Cramér's V showed values of 0.351 for *Cryptosporidium*, 0.301 for *Entamoeba histolytica*, and 0.412 for *Giardia*. In all three cases, no significant association was observed between juice type and protozoan contamination ($P < 0.05$). McNemar's test and Kappa coefficient were used to compare the diagnostic agreement between staining and PCR methods. Significant agreement was found for all three protozoa. Kappa values for *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia* were 0.947, 0.475, and 0.751, respectively.

Conclusion

Consumption of fruit juices, particularly in summer, is widespread. However, traditional juices may serve as reservoirs of microbial and protozoan pathogens. In this study, contamination rates of 24% for *E. coli* and 25% for *Salmonella* were observed, with apple and melon juices showing the highest prevalence. Protozoan contamination rates were 11%, 17%, and 14% by microscopy and 10%, 6%, and 14% by PCR for *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia lamblia*, respectively. These contaminations may result from irrigation with unsafe water, use of human and animal fertilizers, animal intrusion in orchards, handling by infected personnel, and contact with contaminated equipment and surfaces. Such pathogens can cause diarrhea, systemic inflammation, and infections in humans. Therefore, continuous monitoring and inspection by health authorities, mandatory training of juice vendors, regular disinfection practices, and routine health checks of staff are strongly recommended to prevent the transmission of these zoonotic diseases to consumers.

Author contributions

The work was conceived and supervised: Mashak Z, Material preparation, data collection, and analysis were performed: Mashak Z, Kefayat M and Behravi A. Writing-original draft preparation: Mashak Z and Kefayat M and Behravi A. Writing-review and editing: Mashak Z and Kefayat M. All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

Data availability statement

The datasets generated during the current investigate are not publicly, but are available from the corresponding author upon reasonable request.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to all participants who contributed to this study. We also acknowledge the research department of parasitology and Food Hygiene and Quality Control at Karaj Islamic Azad University.

Ethical considerations

The study was approved by the Research Committee of veterinary medicine of Karaj Islamic Azad University. The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Funding

This study was conducted using funds provided by Karaj Islamic Azad University.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۶۷۰۵-۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۶۵۰۰-۲۲۲۸

بررسی برخی آلودگی‌های میکروبی و تک یاخته‌ای در آب میوه‌های سنتی استان البرز

امیر بهروی

دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی ،کرج، ایران.

رایانامه: amirbehravi@gmail.com

زهره مشاک

* نویسنده مسئول: دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی ،کرج، ایران. رایانامه: mashak@kiau.ac.ir

مرضیه کفایت

استادیار گروه انگل شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. رایانامه: marziye.kefayat@kiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۷ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۹/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۵

چکیده

هدف: آب‌میوه فرآورده‌ای شفاف یا کدر است که به روش‌های مکانیکی از میوه‌های سالم و رسیده بدست می‌اید و بواسطه وجود بسیاری از ویتامین‌ها و موادمغذی می تواند بدن را در برابر بسیاری از بیماری‌ها محافظت نماید . آب‌میوه‌های سنتی که توسط آب‌میوه‌فروشی‌ها تهیه و عرضه می‌شوند، علیرغم طعم مطلوب و حفظ ترکیبات معدنی و ویتامینی میوه، ممکن است آلوده به عوامل بیماری‌زا باشند. این آلودگی‌ها می‌توانند ناشی از مراحل مختلف تولید شامل کاشت، داشت و برداشت میوه‌ها، فرآیند استخراج آب‌میوه، افزودنی‌های مورد استفاده، و رعایت نکردن بهداشت توسط پرسنل و یا ظروف و سطوح و وسایل مورد استفاده در محیط فروش باشند. از مهم‌ترین پاتوژن‌های آلوده‌کننده آب‌میوه‌ها می‌توان به باکتری‌های کلی‌فرم و مزوفیل مخمرها، کپک‌ها و تک‌یاخته‌های انگلی اشاره کرد. هدف از این پژوهش بررسی برخی از آلودگی‌های میکروبی و تک یاخته‌ای در آب‌میوه‌های سنتی استان البرز بوده است

مواد و روش‌ها: بدین منظور ۱۰۰ نمونه آب‌میوه مختلف از مناطق مختلف عرضه دراستان البرز به طور تصادفی ، خریداری و در شیشه‌های استریل جمع‌آوری و سپس در کنار یخ سریعا به آزمایشگاه مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی کرج انتقال یافت و جهت تعیین آلودگی‌های میکروبی (کشت‌های میکروبی)و تک یاخته‌ای(رنگ‌آمیزی اختصاصی و روش واکنش چند زنجیره‌ای) مورد آزمایش

قرار گرفت. در این تحقیق، تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Spss.ver:22 انجام گرفت. جهت بررسی ارتباط بین نوع آب‌میوه و آلودگی انگلی آزمون آماری ضریب فی و کرامر و جهت مقایسه نتایج حاصله از روش‌های مولکولی و رنگ‌آمیزی با استفاده از مشاهدات میکروسکوپی از آزمون توزیع دو جمله‌ای و ضریب کاپا و در آزمایشات میکروبی از ANOVA یک طرفه به همراه آزمون توکی استفاده شد.

نتایج: نتایج این پژوهش حاکی از آن است که آلودگی آب‌میوه به *اشریشیاکلی* و *سالمونلا* به ترتیب ۲۴و ۲۵ درصد بود. همچنین آلودگی به تک یاخته‌های *آنتامبا هیستولتیکا*، *کریپتوسپوریدیوم* و *ژیاردیا* به دو روش رنگ آمیزی اختصاصی و PCR به ترتیب (۱۷، ۱۱ و ۱۴)٪ و (۱۰، ۶ و ۱۴) بود.

نتیجه گیری: این پژوهش نشان داد که آب‌میوه‌های سنتی عرضه شده به مردم ، می‌تواند منبع آلودگی میکروبی و تک یاخته‌های انگلی قابل انتقال به انسان در سطح جامعه باشد ، لذا کنترل و آموزش و بازرسی مستمر توسط کارشناسان بهداشتی از مراکز فروش آب‌میوه و سایر مواد غذایی سنتی می تواند به جهت کاهش بیماری‌های منتقله از آب‌میوه، بیانجامد.

کلمات کلیدی: آب‌میوه، تک یاخته، آلودگی میکروبی، استان البرز

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: امیر بهروی، زهره مشاک، مرضیه کفایت (۱۴۰۵) بررسی برخی آلودگی‌های میکروبی و تک یاخته‌ای در آب میوه‌های سنتی استان البرز. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۸(۱)، ۵۵-۷۶.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian Biotechnology Society.

مقدمه

مواد غذایی می تواند یکی از منابع اصلی آلودگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی محسوب شوند.برآورد شده است ۷۰ درصد بیماری‌های عفونی، شامل بیش از ۴۵۰ نوع بیماری ویروسی، انگلی، قارچی و میکروبی، از طریق غذای ناسالم به انسان منتقل می‌شوند. آب‌میوه یکی از رایج‌ترین نوشیدنی‌های مصرفی در سراسر جهان است که علاوه بر تأمین آب مورد نیاز بدن، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی را فراهم می‌کند و می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌های قلبی، عروقی و برخی سرطان‌ها نقش داشته باشد. با این حال، میوه‌ها و سبزیجات مورد استفاده در فرآوری آب‌میوه ممکن است در معرض آلودگی‌های میکروبی و انگلی قرار گیرند. این آلودگی‌ها می‌توانند از طریق آبیاری با آب‌های آلوده، استفاده از کودهای انسانی و حیوانی در مزارع، و همچنین آلاینده‌های شیمیایی ناشی از مصرف آفت‌کش‌ها ایجاد شوند (Dai & Mumper, 2010). بیماری‌های انگلی از جمله شایع‌ترین بیماری‌های انسانی محسوب می‌شوند. سازمان بهداشت جهانی (WHO) گزارش داد که میزان ابتلا به سه بیماری تک‌یاخته‌ای ژیاردیا،

کریپتوسپوریدیوم و انتامبا هیستولیتیکا در فاصله سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۸ افزایش یافته است (WHO, 1997). آبمیوه مایعی است که معمولا در گیاهان یافت می شـود و یکی از رایج‌ترین نوشـیدنی‌های مردم دنیاسـت (Mengistu et al., 2002). آب‌میوه فرآورده‌ای است تخمیر نشده ولی قابل تخمیر، شفاف یا کدر که به روشهای مکانیکی یا دستی از میوه سالم و رسیده بدست آمده و به طور مستقیم برای نوشیدن استفاده شده و با توجه به داشتن املاح و ویتامینها، بخش قابل توجهی از نیاز بدن به این ریز مغذی‌ها را تامین نموده و یک منبع مناسـب برای جبران آب هدر رفته بدن خصـوصـا در فصـول گرم ،به حسـاب می آید. این مواد حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی هستند که از بسیاری از بیماریها از جمله بیماریهای قلبی و عروقی و سرطان‌های خاص پیشگیری می کنند (Adams & Moss, 2007). در بازار دو نوع آبمیوه بسته بندی شده و تازه وجود دارند. آب‌میوه‌های تازه‌ای که در بازار و توسـط آب‌میوه فروشـی‌ها تهیه و عرضـه می گردند،اگرچه دلپذیرتر و گوارا بوده و حاوی ویتامین‌ها و مواد معدنی موجود در میوه‌های اصلی هستند، لیکن در صورت عدم رعایت استانداردهای بهداشتی در شستشو و آبگیری و توزیع آنها، قادرند به عنوان منابع بالقوه آلودگی عمل نمایند. این آلودگی ممکن است قبل و یا بعد از اسـتخراج آبمیوه ایجاد گردد (Bintsis, 2017). از جمله مهم‌ترین باکتری‌های پاتوژن مؤثر در آلودگی آبمیوه‌ها می‌توان به گونه‌های مختلف کلی‌فرم، کلی‌فرم‌های با منشـأ مدفوعی، *استافیلوکوکوس اورئوس* ،کپک ، مخمر و سالمونلا اشاره نمود. کلی‌فرم‌ها ، به‌عنوان شاخص میکروبی معتبر برای ارزیابی بهداشتی بودن می باشند.همچنین باکتری اشریشیا کلی و سالمونلا که در خانواده *انتروباکتریاسه* قرار دارند بعنوان آلودگی با منشأ مدفوعی و پاتوژن غذازاد شناخته می‌شوند. رشدکپک و مخمرها نیز بدلیل تولید مایکوتوکسین و عوارض مرگبار آن برای انسان خطرناک می باشـد.حضـور این میکروب‌ها در فرآورده‌های غذایی مایع نظیر آبمیوه‌ها، نشـان‌دهنده احتمال وجود عوامل بیماری‌زا و ناکارآمدی مراحل بهداشـتی در فرآیند تولید، نگهداری یا بسـته‌بندی محصـول می‌باشـد(۶). به همین دلیل در امر کنترل کیفی مواد غذایی، بررسـی و ارزیابی دقیق میکروبی نظیر کلی فرمها و میکروارگانیزم‌های روده‌ای، انجام می پذیرد (Adams & Moss, 2007). علاوه بر این، بر این، آزمون‌های بیوشیمیایی قادر به تمایز بین انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها نیستند (Ahsani et al. 2010; Mohammadabadi et al. 2004; Khabiri et al., 2025). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)مدرن‌ترین و کاربردی‌ترین فناوری در تشخیص بیماری‌های عفونی است و در مقایسه با تکنیک‌های کلاسیک، نشان داده شـده اسـت که سـریع‌تر بوده و نتایج آن ظرف چند سـاعت به دسـت می‌آید و همچنین از قابلیت اطمینان بالاتری برخوردار اسـت (Mohammadabadi et al. 2011; Khabiri et al. 2023; Mohammadabadi et al., 2025). PCR امکـان شـناسـایی سـریع‌تر مسـتقیماً از نمونه‌های بالینی را فراهم می‌آورد (Shahdadnejad et al. 2016; Mohammadabadi et al. 2024). بنابراین، هدف از این مطالعه بررسـی برخی از آلودگی‌های میکروبی و تک یاخته‌ای درآب میوه‌های سـنتی اسـتان البرز بود که برای نخستین بار انجام شد.

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه و نمونه برداری: این بررسی یک مطالعه توصیفی- مقطعی بر روی ۱۰۰ نمونه آب میوه سنتی (هویج، هویج بستنی، شیر- موز، انبه، هندوانه، آلبالو، طالبی، سیب، کرفس، انار، طالبی بستنی، زرشک،پرتقال) در آب میوه فروشی‌های سطح استان البرز در طی فصول بهار و تابستان ۱۴۰۳ می باشد. بدین منظور ۶۰۰ میلی لیتر از هر آب میوه در ظروف شیشه‌ای استریل جمع آوری و در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی کرج ارسال گردید.

آزمایشات انگلی-مشاهده میکروسکوپی: ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر از مخلوط نمونه با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شد و سوسپانسیون حاصل از دو لایه گاز طبی (زرین طب) عبور داده شد. سپس هر یک از نمونه‌ها دو بار با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه (rpm)به مدت ۵ دقیقه با سانتریفوژ ۸ شاخه دیجیتال (Hettich) آلمان مدلEBA20 سانتریفوژ گردیدند و مایع رویی دور ریخته شد. در ادامه، رسوب حاصله با ۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات(PBS) یکنواخت شد. جهت بررسی وجود اووسیست کریپتوسپوریدیوم، کیست آنتامبا و ژیاردیا، از هر نمونه یکنواخت‌شده ۳ گسترش تهیه گردید و رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی زیل-نلسون اصلاح‌شده و تری‌کروم روی آن‌ها انجام گرفت. لام‌ها از نظر حضور یا عدم حضور تک‌یاخته‌های مورد مطالعه با سه بار تکرار بررسی شدند.

آزمون مولکولی: ابتدا DNA ژنومی نمونه‌های مورد مطالعه با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سینا ژن باکد EX6011 ایران استخراج گردید. سپس نمونه‌های DNA در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمون PCR (به مدت یک هفته) قرار داده شد. به منظور ردیابی ژن‌های مزبور با استفاده از تکنیک PCR و توالی پرایمرهای با طول قطعات مختلف ذکر شده در جدول ۱در هر یک از تک یاخته‌ها استفاده گردید.

انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR): جهت شناسایی کریپتوسپوریدیوم پاروم واکنش PCR، حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر PCR buffer l0x، ۱/۵ میلی مول $Mgcl_2$، ۲۵۰ میکرومول دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱ میکرولیتر از پرایمرهای F و R، ۵ میکرولیتر از هر نمونه DNA و ۱/۲۵ واحد آنزیم DNA Tag Polymerase بود . فرآیند دمایی شامل یک سیکل با دمای ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری با دمای ۹۵ °C به مدت ۶۰ ثانیه، ۵۵ °C به مدت ۵ دقیقه، ۷۲ °C به مدت ۹۰ ثانیه و یک سیکل نهایی ۷۲ °C به مدت ۸ دقیقه می باشد. به منظور شناسایی آنتامباهیستولیتیکا، اجزای واکنش PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر master mix 2x یک میکرولیتر از پرایمرهای F و R و ۱۰۰ نانوگرم DNA بود که به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر رسید. سپس برنامه دمایی PCR به صورت واسرشت اولیه ۵ دقیقه در ۹۴ °C ، ۴۰ چرخه تکراری واسرشتی به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۴ °C، اتصال ۳۰ ثانیه در ۴۸ °C و ۵۶ °C به ترتیب جهت PCR و nested PCR و تکثیر درمدت ۳۰ ثانیه دردمای ۷۲ درجه سیلیسیوس و تکثیر نهایی ۷ دقیقه در دمای۷۲ °C انجام گرفت. همچنین ،جهت شناسایی ژن ژیاردیا در واکنش PCR از ۲۰ میکرولیتر master mix، ۱۰۰ نانوگرم

نمونه DNA، یک میکرولیتر از پرایمرهای رفت و برگشت(R,F) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر استفاده شد. برنامه دمایی به صورت ۵ دقیقه دردمای $^{\circ}C$ ۹۴ ، ۴۰ سیکل تکرار دردمای $^{\circ}C$ ۹۴ به مدت ۳۰ ثانیه ، اتصال در دمای $^{\circ}C$ ۵۲ به مدت ۳۰ ثانیه، تکثیربه مدت ۶۰ ثانیه دردمای $^{\circ}C$ ۷۲ و در انتها در زمان ۷ دقیقه دردمای $^{\circ}C$ ۷۲ تکثیر نهایی انجام گرفت.

جدول ۱ .طول قطعات و توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت شناسایی تک یاخته‌های انگلی

Table 1. Length of amplicons and sequences of primers used for the identification of parasitic protozoa

نام تک یاخته Name of protozoan	توالی پرایمر Primer sequence	طول قطعه تکثیر Amplicon size	منبع Reference
کریپتوسپوریدیوم پاروم Cryptosporidium parvum	F:TAATCCAAGAGCAATAAGGGC R:GCCACACTATCATAACCACTA	844	Sungur et al., 2008
آنتامباهیستولتیکا Entamoeba histolytica	F: TAAGATGCACGAGAGCGAAA R: GTACAAAGGGCAGGGACGTA	897	Abed et al., 2025
	F:AAGCATTGTTTCTAGATCTGAG R:AAGAGGTCTAACCGAAATTAG	439	
ژیاردیا Giardia	F: AGAGCAGCCGATCCCCCG R: AATGGAGGCTGACTGTG	321	Bahk et al., 2018

آزمون‌های میکروبی-آماده سازی و شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی: بعد از تهیه رقت‌های متوالی ۱۰ برابر و به منظور کشت سطحی بر روی محیط کشت نوترینت آگار، از ۰/۱میلی لیتر از هر یک از رقتهای آب میوه‌ها برداشت و پلیت‌ها پس از کشت در$^{\circ}C$ ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. کشتها به صورت دوبار تکرار انجام گرفت. سپس پلیت‌های با تعداد استاندارد (بین ۳۰ تا ۳۰۰ پرگنه در هر پلیت) انتخاب و میانگین پرگنه‌های شمارش شده با استفاده از فرمول زیر در هر میلی لیتر نمونه آب میوه مشخص شد:

Cfu/ml=عکس فاکتور رقت × عکس حجم برداشتی ×تعداد باکتری در هر میلی لیتر نمونه

شمارش باکتری‌های کلی فرم و شناسایی اشریشیا کلی: جهت شمارش باکتری‌های کلی فرم، روش بیشترین تعداد احتمالی (MPN[1])، ۹ لوله‌ای و در سه ست سه تایی، واز محیط کشت برلیانت گرین بایل لاکتوز براث(BGB) و انکوباسیون لوله‌ها در$^{\circ}C$ ۳۷ به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. پس از قرائت کلی فرم با استفاده از جدول MPN؛جهت تایید کلی فرم‌ها، از لوله‌های

[1]. Most Probable Number

مثبت مرحله قبل (حاوی کدورت در لوله‌ها و همچنین گاز در لوله وارونه دورهام) به محیط (BGB) حاوی لوله دورهام وارونه و بصورت تلقیحی کشت داده شد. سپس از لوله‌های مثبت مورد ازمایش به محیط آب پپتونه و BGB جهت تائید کلی فرم‌های مدفوعی گرماپای و نیز آزمایش تکمیلی اشریشیا کلی در $^{\circ}C$ ۴۴ به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد . نتایج مثبت به صورت کدورت در لوله BGB ووجود گاز در لوله وارونه دورهام و در لوله‌های آب پپتونه، بصورت ایجاد حلقه قرمز پس از استفاده از معرف کواکس در تست اندول است. همچنین از محیط انتخابی ائوزین متیلن بلو(EMB)جهت شناسایی اشریشیاکلی نمونه‌های آب میوه در $^{\circ}C$ ۳۷ به مدت ۴۸ ساعت استفاده گردید. ظهور جلای فلزی سبز رنگ نشانه وجود اشریشیاکلی می‌باشد.

شناسایی باکتری سالمونلا: جهت شناسایی باکتری سالمونلا در نمونه‌های آب میوه، ابتدا ۲۵ گرم از هر نمونه با ۲۲۵ میلی لیتر لاکتوز براث مخلوط و در $^{\circ}C$ ۳۷ ودر ۱۸-۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. سپس یک میلی لیتر از این محیط به محیط‌های غنی کننده تتراتیونات و سلسنیت سیستئین اضافه شد و به ترتیب در دمای$^{\circ}C$ ۴۴ و$^{\circ}C$ ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. از محیط‌های مذکور به اندازه یک لوپ روی محیطهای انتخابی سالمونلا شیگلا آگار (SSA) و برلیانت گرین آگار(BGA) کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در$^{\circ}C$ ۳۷ بترتیب پرگنه‌های بی رنگ با مرکز سیاه در (SS) و پرگنه‌های همرنگ با رنگ محیط کشت قرمز صورتی در محیط BGA به عنوان پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا جداسازی و جهت تشخیص تفریقی به ترتیب از محیط‌های آگار سه قندی حاوی آهن (TSI) و لیزین حاوی آهن (LIA)و سپس محیط تکمیلی اوره استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: در آزمایشات انگلی تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Spss.v:22 انجام گرفت. به‌منظور بررسی ارتباط میان نوع آب‌میوه و میزان آلودگی انگلی، از آزمون‌های آماری ضریب فی (Phi coefficient) و ضریب کرامر (Cramér's V) استفاده گردید. همچنین، جهت مقایسه نتایج حاصل از روش‌های تشخیصی مولکولی و میکروسکوپی، آزمون توزیع دو جمله‌ای (Binomial test) و ضریب توافق کاپا (Kappa coefficient) به‌کار گرفته شد. در بخش آزمایش‌های میکروبی نیز، تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) به‌همراه آزمون تعقیبی توکی (Tukey's post hoc test) برای بررسی تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

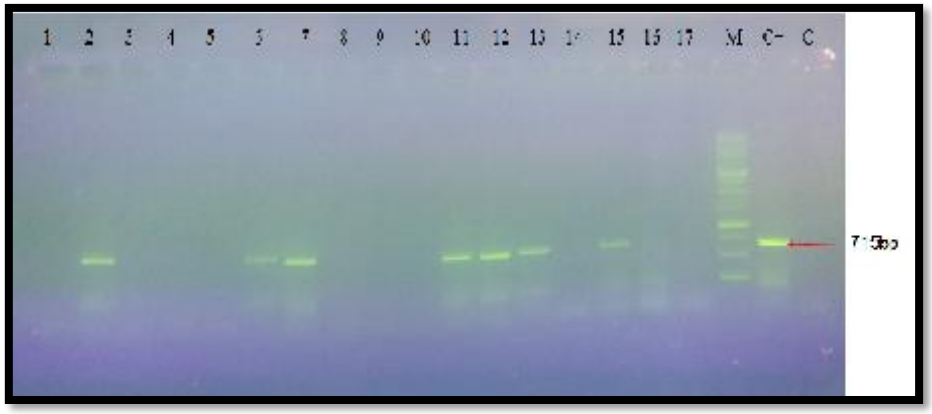
نتایج آلودگی انگلی آب میوه‌های مورد مطالعه به سه تک یاخته به دو روش رنگ آمیزی اختصاصی و مولکولی (PCR) در جدول ۲ آورده شده است. در این بررسی مشخص شد که در رنگ آمیزی اختصاصی گسترش‌های تهیه شده از آب میوه‌ها، آلودگی به تک یاخته‌های کریپتوسپوریدیوم، آنتامباهیستولتیکا و ژیاردیا به ترتیب ۱۱، ۱۷ و ۱۴ درصد و در روش مولکولی ۱۰، ۶، ۱۴ درصد بود. با استفاده از آزمون فی و V کرامر ارتباط بین نمونه‌های مثبت و نوع آب میوه بررسی گردید. ضریب همبستگی و تشخیص آلودگی *کریپتوسپوریدیوم* ۰/۳۵۱، *آنتامبا هیستولتیکا* ۰/۳۰۱ و *ژیاردیا* ۰/۴۱۲ بود که در هر سه مورد ارتباط معنی داری بین نوع آب

میوه و آلودگی به تک یاخته‌های مورد مطالعه مشاهده نشد ($P< 0/05$). در آزمون مک نمار و ضریب همبستگی کاپا که جهت مقایسه دو روش تشخیصی رنگ آمیزی و PCR صورت گرفت (شکل‌های ۱، ۲، و ۳). ارتباط معنی داری در سه نوع تک یاخته بین دو روش وجود داشت.مقایسه ضریب کاپا بین دو روش تشخیصی در الودگی به کریپتوسپوریدیوم، آنتامباهیستولتیکا و ژیاردیا به ترتیب ۰/۹۴۷، ۰/۴۷۵ و ۰/۷۵۱ بود.

جدول ۲. آلودگی انواع آب میوه به تک یاخته‌های کریپتوسپوریدیوم، آنتامباهیستولیتکا و ژیاردیا با استفاده از روش‌های میکروسکوپی و PCR

Table 2. Contamination of different types of fruit juice with the protozoa Cryptosporidium, Entamoeba histolytica, and Giardia using microscopy and PCR methods

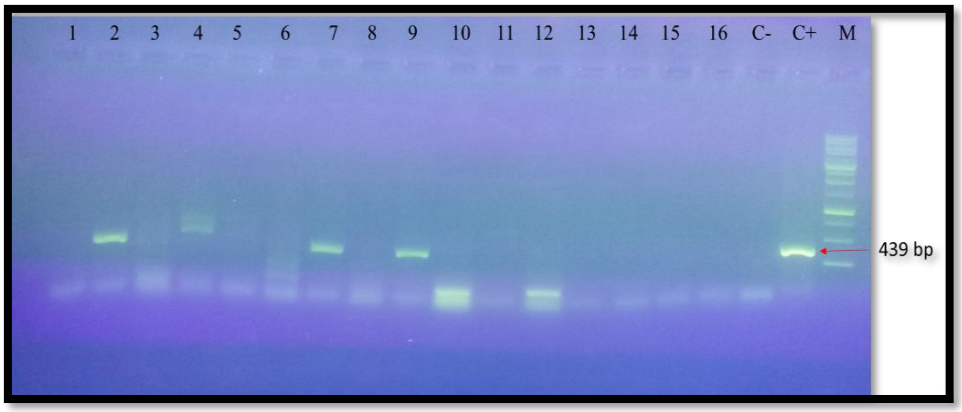
نوع آب میوه Type of fruit juice	تعداد Number	آلودگی به تک یاخته‌ها کریپتوسپوریدیوم Cryptosporidium		آنتامباهیستولتیکا Entamoeba histolytica		ژیاردیا Giardia	
		روش میکروسکوپی Microscopy	روش PCR PCR	روش میکروسکوپی Microscopy	روش PCR PCR	روش میکروسکوپی Microscopy	روش PCR PCR
هویج Carrot	15	1	1	4	0	2	3
هویج بستنی Carrot-ice	5	1	1	2	0	1	1
شیر- موز Milk-banana	15	3	2	2	2	2	2
انبه Mango	7	0	0	0	0	1	0
هندوانه Watermelon	10	0	0	3	1	0	0
آلبالو Sour cherry	7	3	3	1	1	3	3
طالبی Cantaloupe	16	1	1	3	2	1	2
سیب Apple	10	1	1	0	0	3	2
کرفس Celery	8	1	1	1	0	0	0
انار Pomegranate	3	0	0	0	0	0	0
طالبی بستنی Cantaloupe-ice	1	0	0	0	0	0	0
پرتقال Orange	1	0	0	1	0	1	1
زرشک Barberry	2	0	0	0	0	0	0
مجموع Total	100	11	10	17	6	14	14



شکل ۱. PCR مربوط به تک یاخته کریپتوسپوریدیوم در نمونه‌های آبمیوه. M: مارکر DNA (۲۵۰ جفت بازی)، +C: نمونه کنترل مثبت، -C: کنترل منفی، اندازه باند مورد نظر: ۷۱۵ جفت باز

Figure 1. PCR results for Cryptosporidium protozoa in fruit juice samples. M: DNA marker (250 bp), C+: positive control, C-: negative control, expected band size: 715 bp

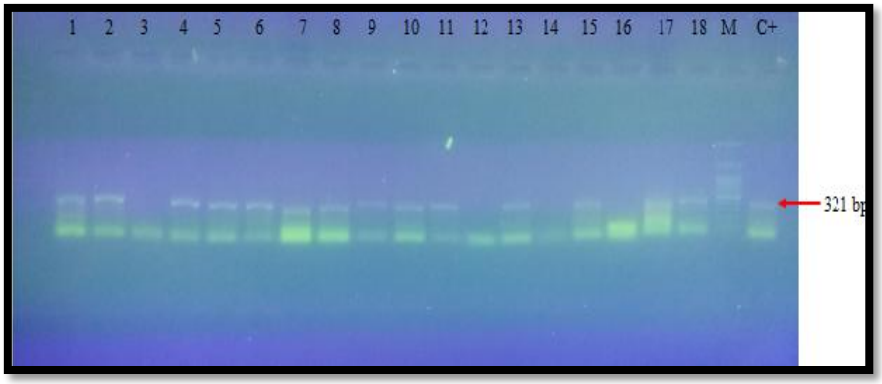
رنگ آمیزی به روش زیل نیلسون،نشانگر حضور تک یاخته کریپتوسپوریدیوم در۱۱نمونه آب میوه بود و با روش مولکولی PCR، تنها ۱۰ نمونه از ۱۰۰ عددآب میوه (۱۰درصد) حاوی تک یاخته مزبور بود.



شکل ۲. PCR مربوط به تک یاخته آنتا مبا هیستولیتیکادر نمونه‌های آبمیوه. M: مارکر DNA (۲۵۰ جفت بازی)، +C: نمونه کنترل مثبت، -C: کنترل منفی، اندازه باند مورد نظر: ٤٣٩ جفت باز

Figure 2. PCR results for Entamoeba histolytica in fruit juice samples. M: DNA marker (250 bp), C+: positive control, C-: negative control, expected band size: 439 bp

پس از رنگ آمیزی تری کروم و مشاهده میکروسکوپی، ۱۷ نمونه مشکوک به آنتامبا هیستولیتیکا بودند که پس ازPCR ، آلودگی ۶ نمونه آب میوه (۶٪)به آمیب مزبور مشخص گردید.

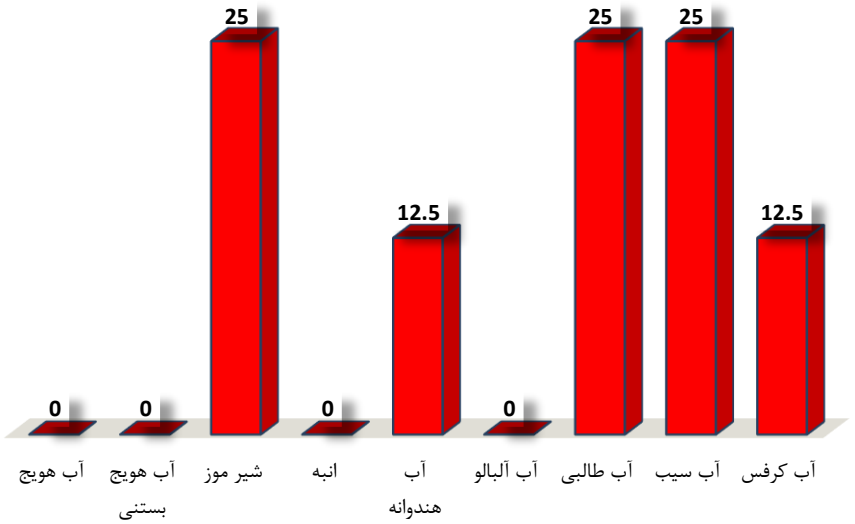


شکل ۳. PCR مربوط به تک یاخته ژیاردیادر نمونه‌های آبمیوه. M: مارکر DNA (۲۵۰ جفت بازی)، +C: نمونه کنترل مثبت، -C: کنترل منفی، اندازه باند مورد نظر: ۳۲۱ جفت باز

Figure 3. PCR results for Giardia protozoa in fruit juice samples. M: DNA marker (250 bp), C+: positive control, C-: negative control, expected band size: 321 bp

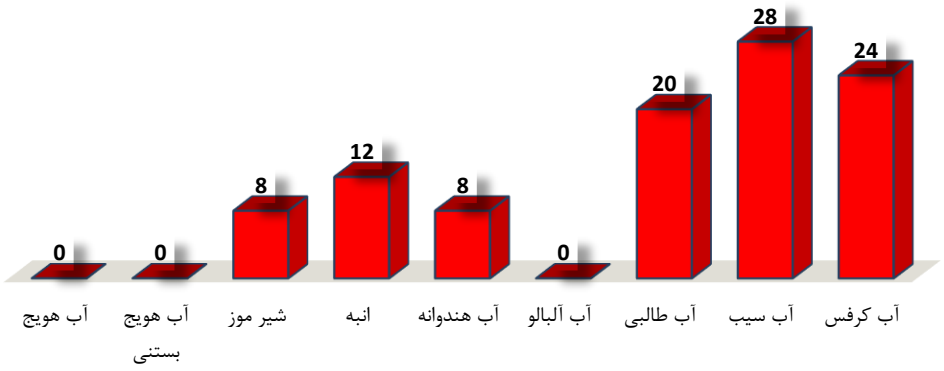
در رنگ آمیزی تری کروم لام‌های تهیه شده از رسوب آب میوه‌ها ، ۱۴ نمونه آب میوه آلوده به تک یاخته ژیاردیا بودند و با روش مولکولی PCR، حضـور تک یاخته در ۱۴ نمونه مذکور تایید گردید. همچنین نتایج این تحقیق نشـان داد که ۲۴ درصـد از نمونه‌های آبمیوه به باکتری اشریشیاکلی و ۲۵ درصدآنها آلوده به سالمونلا بودند. بیشترین درصد فراوانی باکتری اشریشیاکلی و سـالمونلا به ترتیب در انواع آبمیوه (آب سـیب، آب طالبی و شـیر موز) و (آب سـیب، آب کرفس،آب طالبی، انبه،آب هندوانه و شیرموز)مشاهده شد (شکل‌های ۴ و ۵). بیشترین و کمترین تعداد کلی باکتریهای مزوفیل مربوط به شیر موز (۰/۶۷± ۵/۹۵) بود و کمترین میزان مربوط به آب آلبالو (۰.۷۱±۲.۸۱) بود. همچنین بیشـترین میزان کلی فرم مربوط به آب سـیب (۰.۷۷±۳.۳۱) و کمترین میزان کلی فرم مربوط به آب آلبالو (۰.۱۶±۰.۳۷) بود (جدول ۳). در مطالعه حاضـر با اسـتفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی اختصـاصـی و مولکولی، آلودگی ۱۰۰ نمونه آب میوه جمع‌آوری‌شـده از مناطق مختلف اسـتان البرز را به سـه تک‌یاخته شـایع، کریپتوسـپوریدیوم، انتامبا هیسـتولیتیکا و ژیاردیا لامبلیا مورد بررسـی قرار گرفته اسـت. نتایج حاصـل نشـان داد که در روش میکروسـکوپی، میزان آلودگی به ترتیب ۱۱، ۱۷ و ۱۴ درصـد نمونه و در روش مولکولی، به ترتیب ۱۰، ۶ و ۱۴درصـد نمونه از نظر حضور این انگل‌ها مثبت بودند. طبق گزارش FAO (2025) انگل‌های کریپتوسپوریدیوم ، سیکلوسپورا ، انتامبا، ژیاردیا ، تریپانوزوما کروزی و توکسوپلاسما گوندی به عنوان عوامل منتقله از طریق غذا مطرح شده است. کریپتوسپوریدیوم یک انگل زئونوز است که طیف میزبانی گسـترده‌ای دارد و تعداد کم اووسـیت در ایجاد عفونت در انسـان و دام نیز کافی اسـت. انتقال این تک یاخته یکی از

عوامل آلوده کننده آب‌های درمان کننده اسـت . انتقال این تک یاخته از طریق غذا به ویژه سـالاد، شـیرخام و آب میوه نیز گزارش شده است.



شکل ٤. درصد فراوانی انواع آب میوه به باکتری اشریشیا کلی در استان البرز

Figure 4. Prevalence percentage of Escherichia coli in different types of fruit juice in Alborz Province



شکل ٥. درصد فراوانی انواع آب میوه به باکتری سالمونلا در استان البرز

Figure 5. Prevalence percentage of Salmonella in different types of fruit juice in Alborz Province

جدول ۳. تعداد کلی باکتریهای مزوفیل هوازی و کلی فرم در نمونه‌های آب میوه در استان البرز (میانگین±انحراف معیار)

Table 3. Total aerobic mesophilic bacteria and coliform counts in fruit juice samples in Alborz Province (Mean ± Standard Deviation

کلی فرم Coliforms (MPN/mL)	شمارش کلی باکتریایی Total aerobic mesophilic bacteria (log CFU/mL)	تیمار Treatment (Fruit juice)	
1.75 ± 1.62^{b}	4.6 ± 1.2^{b}	Carrot juice	آب هویج
3.09 ± 0.36^{c}	5.6 ± 0.9^{c}	Carrot-ice juice	آب هویج بستنی
2.70 ± 0.72^{b}	5.95 ± 0.9^{c}	Milk-banana juice	شیر موز
2.86 ± 0.49^{b}	4.93 ± 0.95^{b}	Mango juice	انبه
3.24 ± 0.54^{c}	5.38 ± 0.75^{c}	Watermelon juice	آب هندوانه
0.37 ± 0.16^{a}	2.81 ± 0.71^{a}	Sour cherry juice	آب آلبالو
3.01 ± 1.04^{c}	5 ± 1.17^{c}	Cantaloupe juice	آب طالبی
3.31 ± 0.77^{c}	4.83 ± 0.53^{b}	Apple juice	آب سیب
3.28 ± 0.76^{c}	4.47 ± 0.73^{b}	Celery juice	آب کرفس

*حروف غیر مشابه در ستونها نشانگر اختلاف آماری معنی دار میباشد($p<0.05$).

در مطالعات مختلفی، آلودگی کریپتوسپوریدیایی آب میوه‌های شهر شیراز و اهواز (Rezavi et al., 2011)، آب‌سیب‌های پاستوریزه به روش مولکولی (Deng & Cliver, 2000) و آب، شیر و آب میوه‌ها (Morgan & Thompson, 1998) گزارش شده است. از سویی آب‌های رودخانه و آزاد نیز جهت وجود این آلودگی‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین ۴۵ درصد آب رودخانه اطراف پاریس (Wallis et al., 1996)، ۴/۵ درصد آب‌های آزاد، ۲/۵ درصد آب تصفیه شده و ۱/۶ درصدآب‌های فاضلاب آلوده به کریپتوسپوریدیوم بودند. در مطالعه حاضر ۱۰نمونه از آب میوه‌های مورد مطالعه به روش مولکولی و ۱۱ نمونه به روش رنگ آمیزی از لحاظ حضور تک یاخته کریپتوسپوریدیوم مثبت ارزیابی شد. همچنین در خصوص آلودگی میوه و سبزیجات به آمیب‌ها، مطالعات مختلفی صورت گرفته است. در پژوهشی .Houshyar et al (2002) در سه ناحیه جغرافیایی ایران آلودگی آمیبی را مشاهده کردند وآنتامباهیستولتیکا را ۷/۳ درصد و آنتامبادیسپار گزارش نمودند. نتایج مطالعات مولکولی نشان می‌دهد که گونه غالب در ایران آنتامبادیسپار می‌باشد .در مطالعه حاضر نیز، *آنتامباهیستولتیکا* از ۱۷ مورداز ۱۰۰نمونه(۱۷ درصد) به روش میکروسکوپی یافت شده ، وبه روش مولکولی ۶ مورد (۶ درصد) ، گزارش گردید که با نتایج سایر محققین همخوانی دارد (López-López et al., 2017). آلودگی سبزیجات و میوه‌ها به کیست ژیاردیا درمناطق مختلف ایران،به ترتیب در استان گلستان ، شاهرود ، اردبیل ، قم و

زابل ۶/۸، ۷/۳۴، ۷٪ ، ۷/۵ و ۳/۱ درصد گزارش شده است. (Shahnazi et al., 2009; Soleimanpour et al., 2011). در مطالعات .Rezavi et al (2011) آلودگی آب هویج و کرفس به ژیاردیا گزارش شده است. گزارشات بسیاری در جهان و ایران مبنی بر همه‌گیری‌های بیماری ژیاردیوز وجود دارد که منشا آلودگی آن، آب‌ها، نشت فاضلاب یا آلودگی مستقیم مدفوع انسان و دام بیان شده است(Wallis et al., 1996) از ۱۷۶۰ نمونه از آب‌های آزاد، تصفیه شده و فاضلاب مورد مطالعه در کانادا ،میزان آلودگی به ژیاردیا به ترتیب ۰/۲۱، ۱۸ و ۷۳ درصد گزارش شده است. در مطالعه‌ای .Ghorbani et al (2022) تاثیرمصرف آب بسته بندی شده در مقایسه با آب لوله کشی وآب تانکر را در ابتلا به ژیاردیا در افراد نظامی نشان دادند. در پژوهش حاضر نتایج آلودگی به ژیاردیا در آب میوه‌های مورد مطالعه به هر دو روش میکروسکوپی و مولکولی ۱۴درصد بود. آلودگی میکروبی آب‌میوه‌های سنتی و صنعتی ممکن است از چندین منبع ، از جمله ذرات خاک، اسپورهای هوا، و آب مصرفی مورد استفاده در آبیاری یا شست‌وشوی میوه‌ها ناشی شود .علاوه بر این، آسیب‌های ناشی از حشرات، ورود حیوانات و گوسفندان به باغ‌های میوه، آسیب‌های فیزیکی به محصولات و استفاده از طعم‌دهنده‌ها نیز می‌توانند به آلودگی آب‌میوه‌ها منجر شوند. از دیگر عوامل آلاینده می‌توان به سطوح غیر بهداشتی ماشین‌آلات حمل و فرآوری، تماس با مواد شیمیایی، دستکاری و حمل میوه‌ها هنگام گرفتن آب میوه توسط افراد بیماریا حامل بیماری وهمچنین اعمال غیر بهداشتی و شرایط نامناسب نگهداری آب‌میوه در مغازه‌ها اشاره کرد. این عوامل می‌توانند سبب انتقال و تکثیر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شوند و سلامت مصرف‌کنندگان را به مخاطره بیندازند (Aneja et al., 2014; Bagde & Tumane, 2011). در مطالعه Bagde & Tumane (2011) بیشترین آلودگی میکروبی متعلق به باکتری‌های انتروباکتریاسه بود. در مطالعه‌ای .Alipour et al (2011) ۶۶ درصد آب میوه‌های سنتی را آلوده به اشریشیاکلی تشخیص دادند. آن‌ها کیفیت میکروبی آب میوه‌ها را در آب میوه فروشی‌های سنتی بندرعباس بررسی نمودند. ۱۴۲ نمونه از ۱۴۶ نمونه حداقل واجد یک میکروارگانیسم بودندو از ۱۰۰ نمونه آب هویج و آب انبه به ترتیب ۸۶/۲ و ۵۷ درصد به اشریشیاکلی آلوده بودند. همچنین آنجلا و همکاران (۲۰۱۴)به بررسی آلودگی میکروبی ۳۰ نمونه آب میوه پرداختند که باکتری‌های مختلفی از جمله باسیلوس، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس ارئوس و میکروکوکوس از نمونه‌ها جدا گردید. طبق نتایج پژوهش .Mollaie Tavani et al (2017) آب میوه‌های مورد مطالعه در شهر شاهرود ۱۶/۲ درصد به استافیلوکوکوس، ۲۲/۵ درصد به اشریشیاکلی و ۱۲/۹ درصد به کلی فرم آلوده بودند. همچنین ارتباط معنی‌داری بین پارامترهایی همچون سواد فروشندگان، میزان فروش، نظافت محل، بهداشت یخچال، بهداشت فردی، بهداشت و بهسازی محیط وجود داشت. در مطالعه حاضر آلودگی آب میوه‌ها به اشریشیاکلی وسالمونلابه ترتیب ۲۵ و ۲۴ درصد، که بیشترین آلودگی مربوط به آب میوه‌های سیب و طالبی بود. در این مطالعه بیشترین میزان آلودگی به باکتری‌های مزوفیل در شیر موز دیده شد، طبق بررسی‌های به عمل آمده توسط Heidarzadi (2021) ، آلودگی آب میوه‌های سنتی به باکتری اشریشیاکلی در تمامی پژوهش‌های صورت گرفته، مثبت بوده و بیشتر ازمیزان بیان شده در استاندارد ملی ایران، اروپا و آمریکا می باشد. با توجه به بالا بودن بار میکروبی و عدم رعایت بهداشت در آب میوه‌های سنتی، ضروری است که تولید و عرضه این محصولات، با آموزش اجباری متصدیان همراه باشد و از ادامه فعالیت مراکزی که معیارهای بهداشتی را رعایت نمی کنند، جلوگیری به عمل آید. در یک مطالعه مشابه که توسط Nigusie & Molla (2024) در آدیس آبابا برروی ۱۲۰ آب میوه تهیه شده از ۳۰ مرکز فروش صورت

گرفت مشخص شد ۸۳/۳ درصد آلودگی باکتریایی داشتند که ۱۳/۳ درصد استافیلوکوکوس ارئوس و ۶/۷ درصد اشریشیا کلی بود و هیچ گونه انگل روده‌ای یافت نشد. نتایج این تحقیق نشان داد که ۲۴ درصد از نمونه‌های آبمیوه به باکتری اشریشیاکلی و ۲۵ درصدآنها آلوده به سالمونلا بودند. بیشترین درصد فراوانی باکتری اشریشیاکلی و سالمونلا به ترتیب در انواع آبمیوه (آب سیب، آب طالبی و شیر موز) و (آب سیب، آب کرفس،آب طالبی، انبه،آب هندوانه و شیرموز)مشاهده شد. بیشترین و کمترین تعداد کلی باکتریهای مزوفیل مربوط به شیر موز (۶۷/± ۰ ۵/۹۵) بود و کمترین میزان مربوط به آب آلبالو (۰/۷۱±۲/۸۱) بود. همچنین بیشترین میزان کلی فرم مربوط به آب سیب (۰.۷۷±۳.۳۱) و کمترین میزان کلی فرم مربوط به آب آلبالو (۰/۱۶±۰/۳۷) بود. مصرف آب‌میوه‌های مختلف، به‌ویژه در فصل تابستان، بسیار رایج است و نوشیدنی‌هایی مانند آب کرفس، آب هویج، شاه‌توت و توت‌فرنگی طرفداران زیادی دارند. با این حال، برخی از این میوه‌ها، به دلیل ساختار و شرایط رشدشان، ممکن است مستعد آلودگی میکروبی باشند. هویج، به‌عنوان یک ریشه خوراکی، دارای فرورفتگی‌های متعدد است که اغلب با گل و آلودگی‌های محیطی پر می‌شود.، همچنین طالبی ، خربزه و هندوانه نیز بدلیل تماس با خاک و شست‌وشوی ناکافی توسط عرضه‌کنندگان، پیش از استخراج آب‌میوه، می‌تواند بار میکروبی آب‌هویج را به‌طور قابل‌توجهی افزایش دهد .علاوه بر هویج، کرفس، توت‌فرنگی، و شاه‌توت نیز می‌توانند در معرض آلودگی ناشی از آب‌های آلوده در آبیاری، یا تماس با آب‌های آلوده در مرحله شست‌وشوی نهایی قرار گیرند. همچنین، بهداشت ناکافی دست‌های افراد آلوده دخیل در فرآوری و تولید آب‌میوه می‌تواند یکی از عوامل مهم در انتقال عوامل میکروبی و انگلی، به‌ویژه تک‌یاخته‌ها، باشد (Rezavi et al., 2011). افزودنی‌هایی نظیر بستنی، شیر و یخ که در تهیه آب‌میوه‌های مخلوط مانند آب‌هویج بستنی و شیر موز استفاده می‌شوند، می‌توانند ناقل عوامل بیماری‌زا از جمله ژیاردیا، باکتری‌های بیماری‌زا و ویروس‌ها باشند (Qvarnstrom et al., 2005). از دیگر منابع آلودگی می‌توان به مدفوع، فاضلاب، آب‌های مورد استفاده در آبیاری، و کاربرد فاضلاب در مزارع سبزیجات اشاره کرد که نقش مهمی در انتقال میکروب‌ها و انگل‌های بیماری‌زا دارند.

نتیجه گیری: افزایش آگاهی مصرف کنندگان در مورد مواد مغذی و معدنی و ویتامینهای موجود در آب میوه سبب شدکه مصرف انواع مختلف آب میوه از جمله نوشیدنی‌های پر مصرف خصوصا در فصل تابستان باشد. لذا دراین تحقیق به آلودگی برخی از میکروبهای مهم و تک یاخته‌های زئونوتیک در آب میوه‌های سنتی جمع آوری شده در استاان البرز پرداخته شده است. بیشترین و کمترین تعداد کلی باکتریهای مزوفیل مربوط به شـــیر موز و کمترین میزان مربوط به آب آلبالو بود. در حالیکه بیشـــترین میزان کلی فرم مربوط به آب ســـیب و کمترین مربوط به آب آلبالو بود. همچنین ۲۴ و ۲۵درصـــد از نمونه‌های آبمیوه بترتیب آلوده به باکتری اشـریشـیاکلی و سـالمونلا بودند. همچنین در روش میکروسـکوپی، میزان آلودگی به سـه تک‌یاخته شـایع، کریپتوسـپوریدیوم پاروووم، انتامبا هیسـتولیتیکا و ژیاردیا لامبلیا به ترتیب ۱۱، ۱۷ و ۱۴ درصـد و در روش مولکولی،به ترتیب ۱۰، ۶ و ۱۴درصـد مثبت بودند. این آلودگی‌ها می‌توانند از طریق آبیاری مزارع با آب‌های غیر بهداشـتی، اسـتفاده از کودهای انسـانی و حیوانی وتردد حیوانات در مزارع، همچنین دسـتکاریهای پرسـنل آلوده در زمان برداشـت و فرایند پاکسازی و آبگیری میوه‌ها،ظروف و وسایل وسـطوح آلوده مرتبط با آب میوه ، صورت بگیرد.که عوامل فوق علاوه بر اسـهال منجر به التهاب در کلیه ارگانها و ایجاد عفونت درانسـانهای مبتلا می گردد.لذا توصیه میگرددکه با بازرسی مستمر و کنترل شده کارشناسان بهداشتی، آموزش واحدهای آب میوه فروش و شستشوی

منظم با ضـد عفونی کننده‌ها و آزمایشـات مسـتمر و چکاپ پرسـنل شـاغل درآب میوه فروشـی‌ها از انتقال این بیماری‌های واگیر (زئونوز) در مصرف کنندگان جلوگیری بعمل آورد.

سپاسگزاری: نگارندگان مقاله از گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج جهت تامین مواد مورد نیاز این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند.

References

Abed, Z. M., & Hamad, R. M. (2025). Identification of *Entamoeba* species in diarrheal samples using sequence analysis and nested multiplex PCR. *Iranian Journal of Parasitology, 20*(2), 253–260. https://doi.org/10.18502/ijpa.v20i2.19032

Adams, M. R., & Moss, M. O. (2008). *Food microbiology* (3rd ed.). Royal Society of Chemistry. https://doi.org/10.1039/9781847550880

Ahsani, M. R., Mohammadabadi, M. R., & Shamsaddini, M. B. (2010). Clostridium perfringens isolate typing by multiplex PCR. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, 16*(4), 573–578. https://doi.org/10.1590/S1678-91992010000400006

Alipour, V., Rezaei, L., Moalemi, Kh., & Eghbali, M. (2011). Microbial quality of hand-made fresh fruit juice in Bandar Abbas shopping centers, Iran. *Iranian Journal of Health & Environment, 4*(1), 115–124. http://ijhe.tums.ac.ir/article-1-92-en.html

Aneja, K. R., Dhiman, R., Aggarwal, N. K., & Aneja, A. (2014). Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microorganisms in fruit juices. *International Journal of Microbiology, 2014*, Article 758942. https://doi.org/10.1155/2014/758942

Bagde, N. I., & Tumane, P. M. (2011). Studies on microbial flora of fruit juices and cold drinks. *Asiatic Journal of Biotechnology Resources, 2*(4), 454–460. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20133380044

Bahk, Y. Y., Cho, P. Y., Ahn, S. K., Park, S., Jheong, W. H., Park, Y. K., Shin, H. J., Lee, S. S., Rhee, O., & Kim, T. S. (2018). Monitoring of noxious protozoa for management of natural water resources. *The Korean Journal of Parasitology, 56*(2), 205–210. https://doi.org/10.3347/kjp.2018.56.2.205

Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology, 3*(3), 529–563. https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.529

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules, 15*(10), 7313–7352. https://doi.org/10.3390/molecules15107313

Deng, M. Q., & Cliver, D. O. (2000). Comparative detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts from apple juice. *International Journal of Food Microbiology, 54*(3), 155–162. https://doi.org/10.1016/s0168-1605(99)00200-7

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2025). *Expert meeting on microbiological risk assessment of protozoan parasites in foods*. FAO.

Ghorbani, Gh. A., Izadi, M., & Esfahani, A. A. (2022). Association of drinking water and prevalence of intestinal parasites in military persons. *Journal of Military Medicine, 10*(3), 159–166. https://militarymedj.bmsu.ac.ir/article_1000327.html?lang=en

Heidarzadi, M. (2021). A systematic review on the contamination of traditional Iranian fruit juices with *Escherichia coli*. *New Findings in Veterinary Microbiology, 4*(1), 83–93. https://doi.org/10.22034/nfvm.2023.374418.1161

Houshyar, H., Rezaeian, M., Kazemi, B., & Haghighi, A. (2002). Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* by PCR-RFLP (isolates of Tehran, Iran). *Cell Journal (Yakhteh), 4*(1), 11–15. https://www.celljournal.org/article_248757.html

Khabiri, A., Toroghi, R., Mohammadabadi, M., & Tabatabaeizadeh, S. E. (2023). Introduction of a Newcastle disease virus challenge strain (sub-genotype VII.1.1) isolated in Iran. *Veterinary Research Forum, 14*(4), 221–227. https://doi.org/10.30466/vrf.2022.548152.3373

Khabiri, A., Toroghi, R., Mohammadabadi, M., & Tabatabaeizadeh, S. E. (2025). Whole genome sequencing and phylogenetic relative of a pure virulent Newcastle disease virus isolated from an outbreak in northeast Iran. *Letters in Applied Microbiology, 78*(4), Article ovaf049. https://doi.org/10.1093/lambio/ovaf049

López-López, P., Martínez-López, M. C., Boldo-León, X. M., Hernández-Díaz, Y., González-Castro, T. B., Tovilla-Zárate, C. A., & Luna-Arias, J. P. (2017). Detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in clinical samples through PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 50*(4), Article e5997. https://doi.org/10.1590/1414-431X20175997

Mengistu, D. A., Mulugeta, Y., Mekbib, D., Baraki, N., & Gobena, T. (2022). Bacteriological quality of locally prepared fresh fruit juice sold in juice houses of Eastern Ethiopia. *Environmental Health Insights, 16*, Article 11786302211072949. https://doi.org/10.1177/11786302211072949

Mohammadabadi, M. R., Shaikhaev, G. O., Sulimova, G. E., & Rahman, O. (2004). Detection of bovine leukemia virus proviral DNA in Yaroslavl, Mongolian, and Black Pied cattle by PCR. *Cellular and Molecular Biology Letters, 9*(4A), 766–768.

Mohammadabadi, M. R., Soflaei, M., Mostafavi, H., & Honarmand, M. (2011). Using PCR for early diagnosis of bovine leukemia virus infection in some native cattle. *Genetics and Molecular Research, 10*(4), 2658–2663. https://doi.org/10.4238/2011.October.27.2

Mohammadabadi, M., Afsharmanesh, M., Khezri, A., Kheyrodin, H., Babenko, O. I., Borshch, O., Kalashnyk, O., Nechyporenko, O., Afanasenko, V., Slynko, V., & Usenko, S. (2025). Effect of mealworm on GBP4L gene expression in the spleen tissue of Ross broiler chickens. *Agricultural Biotechnology Journal, 17*(2), 343–360. https://doi.org/10.22103/jab.2025.25277.1714

Mohammadabadi, M., Babenko, O. I., Borshch, O., Kalashnyk, O., Ievstafiieva, Y., & Buchkovska, V. (2024). Measuring the relative expression pattern of the UCP2 gene in different tissues of the Raini Cashmere goat. *Agricultural Biotechnology Journal, 16*(3), 317–332. https://doi.org/10.22103/jab.2024.24337.1627

Mollaie Tavani, S., Dehghanifard, E., Mehrali, A., Sharifi Arab, G. A., & Dehmanesh, A. (2017). Survey the bacteriological quality of juice in the juice shop of Shahrood city and its relationship with food safety knowledge and performance of vendors in 2013-2014: A case study. *Journal of Environmental Health Engineering, 4*(3), 185–196. http://jehe.abzums.ac.ir/article-1-374-en.html

Morgan, U. M., & Thompson, R. C. (1998). PCR detection of *Cryptosporidium*: The way forward? *Parasitology Today, 14*(6), 241–245. https://doi.org/10.1016/s0169-4758(98)01247-2

Nigusie, D. K., & Molla, M. D. (2024). Assessment of bacterial and parasitic contamination of fruits gathered from specific local markets in Addis Ababa, Ethiopia. *Frontiers in Sustainable Food Systems, 8*, Article 1402898. https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1402898

Qvarnstrom, Y., James, C., Xayavong, M., Holloway, B. P., Visvesvara, G. S., Sriram, R., & da Silva, A. J. (2005). Comparison of real-time PCR protocols for differential laboratory diagnosis of amebiasis. *Journal of Clinical Microbiology, 43*(11), 5491–5497. https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5491-5497.2005

Rezavi, S. M., Farajani Kish, G., & Bahrami, S. (2011). A survey on *Giardia* and *Cryptosporidium* contamination of carrot and cantaloupe juice in Shiraz and its association with some hygienic indices. *Journal of Veterinary Laboratory Research, 3*(1), 43–51. https://doi.org/10.22075/jvlr.2017.825

Shahdadnejad, N., Mohammadabadi, M. R., & Shamsadini, M. (2016). Typing of *Clostridium perfringens* isolated from broiler chickens using multiplex PCR. *Genetics in the Third Millennium, 14*(4), 4368–4374.

Shahnazi, M., Sharifi, M., Kalantari, Z., Alipour, M., & Agamirkarimi, N. (2009). The study of consumed vegetable parasitic infections in Qazvin. *Journal of Qazvin University of Medical Sciences, 12*(4), 83–89. https://brieflands.com/journals/jid/articles/155442

Soleimanpour, H., Zohour, A., Ebrahimzadeh Adel, Biranvand, L., & Dabirzadeh, M. (2011). Parasitic contamination of fresh vegetables consumed in Zabol city in 2011. *Rostamineh Quarterly*, 39–47. https://www.magiran.com/p1074480

Sungur, T., Kar, S., Güven, E., Aktaş, M., Karaer, Z., & Vatansever, Z. (2008). Cryptosporidium spp'nin dışkıdan nested PCR ve carbol fuchsin boyama yöntemi ile teşhis edilmesi [Detection of *Cryptosporidium* spp. in feces with nested PCR and carbol fuchsin staining method]. *Turkiye Parazitol Derg, 32*(4), 305–308.

Wallis, P. M., Erlandsen, S. L., Isaac-Renton, J. L., Olson, M. E., Robertson, W. J., & van Keulen, H. (1996). Prevalence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts and characterization of *Giardia* spp. isolated from drinking water in Canada. *Applied and Environmental Microbiology, 62*(8), 2789–2797. https://doi.org/10.1128/aem.62.8.2789-2797.1996

World Health Organization. (1997). *WHO/PAHO/UNESCO report of a meeting of experts on amebiasis*. WHO.