

دراسة معدلات نفاذية *Salmonella typhimurium* و *Proteus vulgaris* لأغشية قشرة

## بيض المائدة في درجات حرارة مختلفة

معتز عبد الواحد عبد المنعم، باسل رزوق فرج رزوق وماجد محمد محمود

كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

## الخلاصة

هدف البحث الحالي التحري عن نسبة اختراق جرثومتي *Salmonella typhimurium* و *Proteus vulgaris* فردياً ومتركتان معاً خلال قشرة البيض ومحتوى البيضة وعلى مدد زمنية مختلفة وبدرجات حرارة مختلفة تمثلت بدرجة حرارة الحاضنة 37 م° ودرجة حرارة التلاجة 4 م°. جمعت 120 بيضة مائدة بنية اللون من أسواق مختلفة في مدينة بغداد للمدة من كانون الأول 2010 لغاية آذار 2011 وقسمت إلى ثلاث مجاميع (40 بيضة لكل مجموعة) لوثت قشرة البيض المستخدم للمجموعة الأولى بجرثومة *P. vulgaris* بجرعة  $6.2 \times 10^6$  cfu/ml والمجموعة الثانية بجرثومة *S. typhimurium* بجرعة  $6.2 \times 10^6$  cfu/ml والمجموعة الثالثة بالجرثومتين متركتان معاً بجرعة  $6.2 \times 10^6$  cfu/ml. أظهرت النتائج بقاء الجرثومتين فردياً و/أو مجتمعتين على قشرة البيض بعد 28 يوماً بدرجة حرارة 4 م° و37 م°. وقد اخترقت جرثومة *P. vulgaris* محتويات البيضة بعد مضي 28 يوماً بدرجة 4 م° إلا ان اختراقها لقشرة ومحتويات البيضة كان مبكراً (7 أيام) بدرجة حرارة 37 م°، وكذلك استطاعت جرثومة *S. typhimurium* اختراق قشرة البيضة ومحتوياتها بعد 7 أيام بدرجة حرارة 37 م° ولكن لم يسجل اختراقها لمحتويات البيضة بعد 28 يوماً بدرجة حرارة 4 م°. فيما تمكنت الجرثومتان مجتمعتين من اختراق قشرة البيضة ومحتوياتها بعد 7 أيام بدرجة حرارة 4 م° و37 م°. نستنتج من ذلك ان نسبة تلوث قشرة ومحتويات البيض بهاتين الجرثومتين تجريبياً وبدرجات حرارة 4 م° و37 م° له تأثير واضح على الصحة العامة ويؤثر سلباً على نوعية البيض ويشكل خطراً من الناحية الاقتصادية للمستهلكين.

### Study of Penetration of *Salmonella typhimurium* and *Proteus vulgaris* through Table Egg Shell Membranes at Various Temperatures

M. A. Abdul-Al-Mounam, B. R. Faraj and M. M. Mahmood  
College of Veterinary Medicine\ University of Baghdad

#### Abstract

The study was conducted to evaluate the penetration rate of *Proteus vulgaris* and *Salmonella typhimurium* (individually and combined) through the shell membranes and egg contents at two different temperature levels: (incubator 37 °C and refrigerator 4 °C). A total of 120 brown eggs were collected from Baghdad markets from December 2010 to March 2011, and divided into three groups (40 egg for each), first group was exposed to  $6.2 \times 10^6$  cfu/ml of *P. vulgaris*, the second group was exposed to  $6.2 \times 10^6$  cfu/ml of *S. typhimurium*, and the third group was exposed to  $6.2 \times 10^6$  cfu/ml of both. Individually and/or combined *P. vulgaris* and *S. typhimurium* cells were survived on egg shells for 28 days at both 37 °C and 4 °C. Both *S. typhimurium* and *P. vulgaris* together reached the shell membrane and eggs' content within 7 days at 37°C and 4 °C, but *P. vulgaris* penetrate egg shell and egg content earlier within 7 days at both 37 °C and 4 °C, also *S.*

*typhimurium* penetrate egg shell and contents within 7 days at 37 °C, but it couldn't reach to the contents after 28 days at 4 °C. It could be concluded that the effect of storage temperatures at both 4 °C and 37 °C on the affinity of penetration via egg structures for 28 days was investigated in this research, thus their effect on public health and economic importance on consumers were shown to be evaluated and discussed.

### المقدمة

يعد بيض المائدة من المواد عالية القيمة الغذائية وهو مهم جداً للفرد إذ يمكن تناوله بشكل يومي، إلا أنه غالباً ما يكون عرضة للتلوث وبخاصة السالمونيلا *Salmonella* (1، 2). درست عدة أسباب لتلوث قشرة البيض وتبين أنه قد يكون أهمها التلوث المايكروبي الخارجي أو الداخلي لقشرة البيض بسبب تلوث قناة البيض في الدجاج البياض قبل وضع البيض أو التلوث الخارجي (3). وتعد أجناس *Escherichia* و *Pseudomonas* و *Proteus* من أهم الملوثات الداخلية لقشرة البيضة (3). أما ما يخص تلوث القشرة الخارجية فيعد جنس السالمونيلا *Salmonella* المصدر الأول لهذا النوع من التلوث (4، 5، 6). تلعب درجة الحرارة دوراً مهماً في نشاط الملوثات المايكروبية لمختلف الأغذية ومنها بيض المائدة، إذ تحد درجة الحرارة المنخفضة إضافة إلى غسل البيض من هذا التأثير للكثير من تلك الملوثات وخاصة السالمونيلا (7، 8). ففي كندا أجرى (9) دراسة لعزل *S. typhimurium* من محتويات البيضة بدرجة 42 م° ولاحظ تأثير درجات الحرارة المختلفة على عزل جراثيم السالمونيلا وسجل انخفاض نسبة العزل بانخفاض درجة الحرارة لفترات زمنية مختلفة. وقد أجريت العديد من الدراسات والبحوث لمعرفة اختراق الجراثيم المرضية لقشرة البيض والمحتويات ومنها دراسة (10) الذي وجد نسب اختراق كبيرة للسالمونيلا داخل البيض المتناول في المملكة المتحدة والتي بلغت 2-4%، كما وجد (11) في المملكة المتحدة أيضاً نسبة تلوث وصلت 0.38% بالسالمونيلا في بيض المائدة. أما في الهند فقد وجد (12) أن نسبة تلوث البيض بالسالمونيلا بلغت 10-17% في البيض المستحصل من الأسواق المحلية ومخازن ومستودعات المواد الغذائية. ونظراً لقلّة الدراسات المتعلقة باختراق الجراثيم المرضية لبيض المائدة وخطورته على الصحة العامة للمستهلك فقد صمم هذا البحث للتحري عن قابلية *P. vulgaris* و *S. typhimurium* على اختراق قشرة وأغشية البيضة وصولاً إلى المحتويات وعلاقة تلك النفاذية بدرجات حرارة الخزن المختلفة.

### المواد وطرائق العمل

تم الحصول على الجرثومتين اللتين استعملتا في التجربة من وحدة الأمراض المشتركة - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد وهما: *Salmonella typhimurium* و *Proteus vulgaris* وبعد التأكد من تشخيص هاتين الجرثومتين بإجراء صبغة كرام والفحوصات الكيموحيوية لكل منهما حسب (13)، نُشِطت هاتان الجرثومتان بزرعهما على وسط أكار مكونكي ثم حضنت بالحاضنة بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة ثم نقلت بعد ذلك إلى مرق نقيع القلب والدماغ المعقم وحضنت بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة. حسب عدد الجراثيم الحية فكان  $6.2 \times 10^6$  cfu/ml في 1 مل من مرق نقيع القلب والدماغ لكل من الجرثومتين بشكل منفرد. في حين حسب عدد الجراثيم الحية في 0.02 مل من مرق نقيع القلب والدماغ فكان  $1.2 \times 10^4$  cfu/ml لكل من الجرثومتين المذكورتين. استخدمت في التجربة 120 بيضة مائدة بنية اللون خالية من عيوب القشرة الخارجية (فطور أو شقوق) جمعت من مناطق مختلفة من مدينة بغداد للمدة من كانون الأول 2010 ولغاية آذار 2011 ثم قسمت العينات بشكل عشوائي إلى ثلاثة مجاميع متساوية (40 بيضة لكل مجموعة)، ثم قسمت كل مجموعة إلى قسمين متساويين بواقع 20 بيضة لكل قسم وقد مثلت كل بيضة عينة واحدة. غسل البيض من

الخارج برذاذ ماء الإسالة الحاوي على الكلور وبدرجة حرارة 45 م° واس هيدروجيني يساوي 10 وباستعمال فرشاة خاصة للتنظيف ثم جفف ومسح جيداً بوساطة قطن مبلل بالكحول ثم وضع وتحت ظروف معقمة في حاويات بلاستيكية معقمة بحيث كانت النهاية العريضة لكل بيضة متجهة إلى الأعلى. مرر اللهب على النهاية العريضة للبيض ووضعت قطرة 0.02 مل من المرق الحاوي على جرثومة *P. vulgaris* بوساطة محقنة خاصة مدرجة (micropipette) على النهاية العريضة لبيض المجموعة الأولى مستخدمين ثلاث عينات للإصابة وعينة واحدة كمجموعة سيطرة والتي عوملت بمرق نقيع القلب والدماغ الخالي من الجراثيم بمقدار 0.02 مل، ثم قسمت عينات هذه المجموعة إلى قسمين حيث وضع القسم الأول في الحاضنة بدرجة 37 م° وخزن القسم الثاني في الثلاجة بدرجة 4 م°. وبنفس الطريقة تم اتباع هذه الخطوات مع البيض المعامل بجرثومة *S. typhimurium*. أما عينات المجموعة الثالثة فقد لوثت بالمرق الحاوي لجرثومة *P. vulgaris* بواقع 0.02 مل أعقبها نفس المقدار من جرثومة *S. typhimurium* وعلى نفس موضع القطرة الأولى ثم قسمت إلى قسمين متساويين بواقع 20 بيضة لكل قسم ووضعنا في كل من الحاضنة والثلاجة كسابقها. فحصت العينات بعد مرور مدد خزن وكما يأتي: ساعتان، 7 أيام، 14 يوماً، 21 يوماً، 28 يوماً وذلك بعمل قطع دائري للنهاية العريضة لكل عينة بالمقص والملقط المعقمن وباستعمال كفوف معقمة (14)، ثم أفرغت محتويات كل بيضة في كيس بولي اثيلين معقم ثم خلطت بالهاضم Stomacher لمدة نصف دقيقة إلى أن أصبح الخليط متجانساً ثم نقلت قطرة منه بوساطة الناقل Loop من محتويات كل كيس وزرع على مرق نقيع القلب والدماغ ثم حضن عند 37 م° لمدة 24 ساعة ثم زرعت على ثلاث أوساط: (أكار مكونكي، أكار الدم والاكار المغذي) وحضنت الأطباق بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة ثم سجلت النتائج. كما أخذت مسحات للقشرة الخارجية للنهاية العريضة لكل عينة وكذلك الأغشية الداخلية بوساطة مسحات قطنية معقمة وزرعت بنفس الطريقة وعلى نفس الأوساط الثلاثة سائلة الذكر ثم حضنت الأطباق بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة ثم سجلت النتائج.

### النتائج والمناقشة

بينت النتائج عدم عزل أي من الجراثيم المستعملة في التجربة من أغشية القشرة والمحتويات للبيض سواء بدرجة حرارة الثلاجة أو الحاضنة في الساعتين الأولى بعد معاملة البيض كما هو مبين في الجداول (1، 2، 3)، وربما يعود السبب إلى مقاومة الأغشية الداخلية لقشرة البيض لعملية تغلغل ونفوذ الجراثيم خلال هذه الفترة إذ أن أغشية البيضة تحتوي على مواد مضادة للنمو الجرثومي وتتكون من شبكة من الألياف الكيراتينية (Glycoproteins) تلتصق به الجراثيم الغازية لأغشية القشرة مما يؤدي إلى هلاكها. ولكن فيما بعد تبين قابلية اختراق جرثومة *P. vulgaris* و *S. typhimurium* منفردتين بعد مرور (7، 14، 21، 28) يوماً من الخزن بدرجة حرارة الحاضنة وكذلك الحال بالنسبة لدرجة حرارة الثلاجة من قشرة البيض والأغشية الداخلية ومحتويات البيضة (الجدولان 1، 2)، وقد يعزى ذلك إلى كون هذه الجراثيم متحركة وان أعدادها كانت كبيرة جداً بحيث ساعد على انتشارها ونفوذها داخل مسامات النهاية العريضة للبيضة (15) مما يزيد من سرعة انتقال واختراق تلك الجراثيم للقشرة (16)، كما أن طبقة الكيوتكل قد أزيلت تقريباً باستخدام الكحول في النهاية العريضة للبيض وهذه النتائج تتفق مع (17) اللذين ذكروا أن هناك عدة عوامل تلعب دوراً مهماً في اختراق الجراثيم المرضية لقشرة البيض ووصولها إلى المحتويات الداخلية منها: سمك طبقة الكيوتكل، عدد مسامات القشرة، عدد ونوع الجراثيم، درجات الحرارة، وعمر البيض المخزون. فيما لم تتفق هذه النتائج مع (18) الذي لاحظ عدم اختراق جرثومة *P. vulgaris* لقشرة البيض والمحتويات. وكذلك لم تتفق مع (19) اللذين قاموا في استراليا بدراسة نسبة تلوث البيض (القشرة الخارجية والداخلية والمحتويات) غير المغسول بجرثومتي

*Escherichia coli* و *Salmonella* ووجد عدم تلوث البيض بجراثيم السالمونيلا في أي جزء من الأجزاء المذكورة. وفيما يخص عزل الجرثومتين مجتمعتين من محتويات البيض المخزون بدرجة حرارة الحاضنة فقد عزلت من المحتويات بعد مرور 7 أيام من الخزن حيث ساعدت درجة الحرارة المرتفعة نسبياً 37 م° على تسريع اختراق الجراثيم وتغلبها على دفاعات البيضة ووصولها إلى المحتويات ومن الملاحظ انه بعد مرور 14 يوماً من الخزن بدرجة حرارة 37 م° لوحظ اختلاط الصفار مع البياض والتي امتدت إلى نهاية مدة التجربة 28 يوماً مما أدى إلى تغيير الأس الهيدروجيني pH لمحتويات البيضة فتتكون ظروف مناسبة لنمو وتكاثر الجراثيم، علاوة على ضعف فعالية بروتين conalbumin الموجود في بياض البيض والذي له دور مهم في الدفاع عن البيض ضد غزو الجراثيم، وهذه النتيجة تتفق مع (14) حيث ذكروا انه عند اختلاط محتويات البيض فان الصفار سوف يثبط الفعالية التحليلية لـ (Lysozymes) في بياض البيض وبالتالي تقل فعالية بروتينات البيض في مقاومة الغزو الجرثومي، كما اتفقت هذه النتيجة مع (4) الذي لاحظ ظهور علامات الفساد على البيض بعد فترة خزن اقل من 14 يوماً بدرجة حرارة الغرفة. أما بالنسبة للبيض المخزون في الثلجة (الجدول 2) فلم يلاحظ أي عزل جرثومي لجرثومة *S. typhimurium* من المحتويات طيلة فترة الخزن في الثلجة وقد يعزى ذلك إلى تأثير درجات الحرارة المنخفضة نسبياً 4 م° التي تقلل من الفعاليات الأيضية للجراثيم (20). أما بالنسبة للجرثومتين معاً المبينة في (الجدول 3) فقد أعطت نتائج متباينة (±) حيث عزلت من عينات ولم تعزل من الأخرى لفترات الخزن 7 و 14 يوماً في حين لم تعزل من البيض لفترات خزن 21 و 28 يوماً بدرجة حرارة الثلجة وقد يعزى ذلك إلى فعالية دفاعات البيضة والتي ما زالت قائمة في مقاومة الغزو الجرثومي ومنها الأس الهيدروجيني القاعدي (9.4-9.6) لبياض البيض المخزن والمثبط لنمو الجراثيم الغازية للبيض إضافة إلى قلة تغذية الجراثيم ونشاطها داخل الثلجة (14). يستنتج مما تقدم ان هنالك دفاعات للبيضة ضد الغزو الجرثومي تحت الظروف التخزينية وان التبريد يقلل من تلف البيض كما ان لتواجد اكثر من جرثومة على عينات البيض يزيد من سرعة تلفه. لذ نوصي بضرورة جمع البيض في حقول الدواجن عدة مرات في اليوم الواحد مع محاولة الحد من تلوث البيض بمخلفات الدواجن والفرشة كما نوصي بعدم غسل بيض المائدة المراد خزنه إلا في حالات التلوث العالي مع ضرورة تحسين أساليب خزن وعرض ونقل وتداول بيض المائدة وبشكل مبرد.

جدول (1) تواجد جرثومة *P. vulgaris* على قشرة وفي أغشية ومحتويات بيض المائدة المخزون بدرجاتي حرارة الحاضنة والثلجة (المجموعة الأولى)

درجة حرارة الثلجة 4 م°			درجة حرارة الحاضنة 37 م°			مدة الخزن	الجرثومة المستعملة
المحتويات Egg contents	الأغشية الداخلية Inner membranes	القشرة الخارجية Shell	المحتويات Egg contents	الأغشية الداخلية Inner membranes	القشرة الخارجية Shell		
-	-	+	-	-	+	2 ساعة	<i>P. vulgaris</i>
-	+	+	+	+	+	7 أيام	
-	+	+	+	+	+	14 يوماً	
-	+	+	+	+	+	21 يوماً	
±	+	+	+	+	+	28 يوماً	

+ = عزل الجراثيم

- = عدم وجود عزل

± = عزل الجراثيم من عينات وعدم العزل من عينات أخرى

جدول (2) تواجد جرثومة *S. typhimurium* على قشرة وفي أغشية ومحتويات بيض المائدة المخزون بدرجتي حرارة الحاضنة والثلاجة (المجموعة الثانية)

درجة حرارة التلاجة 4 م°			درجة حرارة الحاضنة 37 م°			مدة الخبز	الجرثومة المستعملة
المحتويات Egg contents	الأغشية الداخلية Inner membranes	القشرة الخارجية Shell	المحتويات Egg contents	الأغشية الداخلية Inner membranes	القشرة الخارجية Shell		
-	-	+	-	-	+	2 ساعة	<i>S. typhimurium</i>
-	+	+	+	+	+	7 أيام	
-	+	+	+	+	+	14 يوماً	
-	+	+	+	+	+	21 يوماً	
-	+	+	+	+	+	28 يوماً	

+ = عزل الجراثيم

- = عدم وجود عزل

± = عزل الجراثيم من عينات وعدم العزل من عينات أخرى

جدول (3) تواجد جرثومتي *P. vulgaris* و *S. typhimurium* على قشرة وفي أغشية ومحتويات بيض المائدة المخزون بدرجتي حرارة الحاضنة والثلاجة (المجموعة الثالثة)

درجة حرارة التلاجة 4 م°			درجة حرارة الحاضنة 37 م°			مدة الخبز	الجرثومة المستعملة
المحتويات Egg contents	الأغشية الداخلية Inner membranes	القشرة الخارجية Shell	المحتويات Egg contents	الأغشية الداخلية Inner membranes	القشرة الخارجية Shell		
-	-	+	-	-	+	2 ساعة	<i>P. vulgaris</i> and <i>S. typhimurium</i>
±	+	+	+	+	+	7 أيام	
±	+	+	+	+	+	14 يوماً	
-	+	+	+	+	+	21 يوماً	
-	-	+	+	+	+	28 يوماً	

+ = عزل الجراثيم

- = عدم وجود عزل

± = عزل الجراثيم من عينات وعدم العزل من عينات أخرى

## References

1. Schoeni, J. L.; Glass, K. A.; McDermott J. L. & Wong A. C. (1995). Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* in eggs. Int. J. Food Microbiol., 24(3): 385-396.
2. Sasaki, Y.; Tsujiyama, Y.; Asai, T.; Noda, Y.; Katayama, S. & Yamada, Y. (2010). *Salmonella* prevalence in commercial raw shell eggs in Japan: a survey. Epidemiol. Infect., 15: 1-5.
3. Easa, S. M. (2010). Microorganisms found in fast and traditional fast food. J. Am. Sci., 6(10): 515-531.
4. Messens, W.; Grijspeerdt, K. & Herman, L. (2005). Eggshell penetration by *Salmonella*: a review. World Poult. Sci. J., 61: 71-85.
5. De Reu, K.; Grijspeerdt, K.; Messens, W.; Heyndrickw, M.; Uyttendaele, M.; Debevere, J. & Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell

- penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. Int. J. Food Microbiol., 112: 253-260.
6. Gantois, I.; Ducatelle, R.; Pasmans, F.; Haesebrouck, F.; Gast, R.; Humphrey, T. J. & Van Immerseel, F. (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella enteritidis*. FEMS Microbiol. Rev. J., 32: 1-21.
  7. Hutchison, M. L.; Gittins, J.; Sparks, A. W.; Humphrey, T. J.; Burton, C. & Moore, A. (2004). An assessment of the microbiological risks involved with egg washing under commercial conditions. J. Food Prot., 67(1):4-11.
  8. Jamshidi, A.; Kalidari, G. & Hedayati, M. (2010). Isolation and identification of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* from the eggs of retail stores in Mashhad, Iran using conventional culture method and multiplex PCR assay. J. Food Safety, 30: 558–568.
  9. Guan, J.; Grenier, C. & Brooks, B. W. (2006). *In vitro* study of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* definitive type 104: Survival in egg albumen and penetration through the vitelline membrane. Poult. Sci., 85: 1678-1681
  10. Gormley, F. J.; Little, C. L.; Murphy, N.; de Pinna, E. & McLauchlin, J. (2010). Pooling raw shell eggs: *Salmonella* contamination and high risk practices in the United Kingdom food service sector. J. Food Prot., 73(3): 574-578.
  11. Little, C. L.; Rhoades, J. R.; Hucklesby, L.; Greenwood, M.; Surman-Lee, S.; Bolton, F. J.; Meldrum, R.; Wilson, I.; McDonald, C.; de Pinna, E.; Threlfall, E. J. & Chan, C. H. (2008). Survey of *Salmonella* contamination of raw shell eggs used in food service premises in the United Kingdom, 2005 through 2006. J. Food Prot., 71(1): 19-26.
  12. Singha, S.; Yadava, A. S.; Singha, S. M. & Bhartia, P. (2010). Prevalence of *Salmonella* in chicken eggs collected from poultry farms and marketing channels and their antimicrobial resistance. Food Res. Int., 43(8): 2027-2030.
  13. Ito, F. P. (2001). "Microbiological Examination of Food". 4<sup>th</sup> Ed. American Public Health Association. Washington, D.C. Chapter 46, PP. 473- 479.
  14. Jay, J. M.; Loessner, M. J. & Golden, D. A. (2005). "Modern Food Microbiology". 7<sup>th</sup> Ed. Aspen Publication. Gaithersburg MD, USA. PP. 147-149.
  15. Davies, R. & Breslin, M. (2003). Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection. Vet. Rec., 152: 283-287.
  16. Prasad, M. M. & Roy, A. K. (2010). "Laboratory Manual of Micro-biology". New India Publishing Agency, Pitam Pura, New Delhi. PP. 34-46.
  17. De Reu, K.; Grijspeerdt, K.; Messens, W.; Heyndrickx, M.; Uyttendaele, M.; Debevere, J. & Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. Int. J. Food Microbiol., 112: 253-260.
  18. Board, R. G. (2008). Bacterial growth on and penetration of the shell membranes of the hen's egg. J. Appl. Microbiol., 28(1): 197–205.
  19. Chousalkar, K. K.; Flynn, P.; Sutherland, M.; Roberts, J. R. & Cheetham, B. F. (2010). Recovery of *Salmonella* and *Escherichia coli* from commercial egg shells and effect of translucency on bacterial penetration in eggs. Int. J. Food Microbiol., 142(1-2): 207-213.
  20. Korashy, E.; Wahba, N. & Hassanein, R. (2008). Public health hazards of some bacterial pathogens associated with consumption of eggs and studying the best cooking methods for their destruction. Assiut Vet. Med. J., 54: 59-77.