الا صابة التجريبية لجرثومة *L.monocytogenes* في الدجاج البياض وعزلها من البيض ,قناة البيض والمبيض

نغم محمد الجبوري

وحدة الامراض المشتركة/كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة امكانية انتقال جراثيم *L.monocytogenes* لدجاج بياض مصاب تجريبيا بهذه الجراثيم الى البيض ومكوناته ،المبيض،قناة البيض والتغيرات المرضية والنسجية لكلا العضوين .حيث تم استخدام مجموعتين من الدجاج البياض الاولى تضم 12دجاجة اصيبت بجراثيم *L.monocytogenes* 1مل/دجاجة (s.c)1×10^{10} بعد التاكد من خلو البيض والبراز من هذه الجراثيم ، المجموعة الثانية وتضم 3دجاجات كحيوانات سيطرة حقنت 1مل/دجاجة (s.c) بالمحلول الملحي المعقم. جمع البيض للعزل الجرثومي ، ثم قتلت الحيوانات في الايام 7,15,24,30,34,39,42بعدالاصابة وذلك للعزل الجرثومي من المبيض،قناة البيض وملاحظة التغيرات المرضية والنسجية.

لم تظهر الحيوانات المصابة بعلامات سريرية مميزة سوى الخمول,قلة استهلاك العلف والماء . وان اهم ما لوحظ هوانخفاض انتاج البيض . كمالوحظ ردائة البيض المنتج ،عزلت جراثيم من كل من(القشرة الخارجية,الصفار,البياض)واستمر العزل الى اليوم 31, *L.monocytogenes* 19,28من الاصابة وعلى التوالي.

كما عزلت جراثيم *L.monocytogenes*من المبيض وقناة البيض للحيوانات التي قتلت في الايام 7،15،24،30بعدالاصابة ,ولم تعزل الجراثيم في الحيوانات التي قتلت في الايام34،39و 42 وكذلك لم تعزل من حيوانات السيطرة.. اما التغيرات المرضية فامتازت باحتقان المبيض و قناة البيض ورخاوة الجريبات المبيضية،. اما التغيرات النسجية لوحظ احتقان الاوعية الدموية،ارتشاح بؤري للخلايا الالتهابية وخاصة اللمفيةوالعدلات حول الاوعية الدموية ،اضافة الى الخزب ، تنكس وفرط تنسج.

The Expermintal Infection of *L.monocytogenes* &Isolation it from Egg, Oviduct & Ovary

Nagham Mohammed Al-Jeboury

Zoonoses Diseases Unite-college of Vet.Med-Baghdad University

SUMMARY

The aim of the present study to detect the transmission of *L.monocytogenes* from experimental infected chickens to Egg products ,Ovary,Oviduct .&histopathological changes in these organs.

2groups of chickn ,1st group(12 animals)infected with *L.monocytogenes* 1ml/chick.SC,(1×10^{10} cfu/ml),2nd group injected 1ml/chick normal salin as control.eggs were collected for isolate Listeria ,animal killed in (7,15,24,30,34,39,42)days,for isolateListeria from ovary,oviduct&samples taken for histopathological examination.

The results show theres no characterstic signs in infected chickens except depression,anoxia&and theres marked decrease of egg production, qualititativly & quantitativly.

L.monocytogenes isolated from egg (shell, ,yolk,albumine)&persiste to (31,28&19) dayses respectively,also Listeria isolate from ovary&oviduct in chickens which killed in (7,15,24,30)day,&not isolate from chickens that killed in day (39,34,42)or in control.

The histopathological changes theres congestion of the organs ,diffuse infiltration of infilammatory cells such as lymphocyte , neutrophils & macrophage. also theres odeama, multi necrosis foci &desqumation.

المقدمة

تعد جراثيم *L.monocytogenes* من الجراثيم العالية الضراوة وذات انتشار واسع تصيب الا نسان واللبائن واكثر من 40 نوعا من الطيوركما انها احد اسباب المشاكل الرئيسة في الصناعات الغذائية وخاصة في صناعة لحوم الدجاج ومنتجاته مماسببت حدوث نحو 2500حالة سنويا (1,2).

ان مرض Listeriosis في الدجاج يسبب خسائر دون ظهور علامات مميزة لذا من الصعوبة تشخيص المرض في الدجاج لانه ليس مرض قطيع او احيانا اصابة الجهاز العصبي مما يسبب

الهلاك المبكر قبل الذبح ,الحالات المسجلة للمرض في الدجاج منخفضة ,حيث سجلت فقط 13حالة في UK بين سنة1975–1982وان الاعمار الصغيرة اكثر قابلية للمرض واهم الافات الممكن ملاحضتها وجود مناطق من التنخرات في القلب ,الكبد,الطحال والكلى ,التهاب الاكياس الهوائيةواحتقان الاوعية الدموية للقلب(2).

ان دجاج الثنائي الغرض ممكن ان يحمل جراثيم *L.monocytogenes* في البراز وبالتالي تلوث الفرشة والبيئة ومن ثم انتقالها الى *الحيوان والانسان وان حوالي 24% من الحقول مصابة* بهذه الجراثيم وحتى بعد عملية تطهير هذه الحقول تبقى نسبة 16.9 %منها ملوثة (3),كما لوحظ زيادة تلوث لحوم ومنتجات الدجاج حيث سجل (4)ان 23%من الدجاج المبرد chilling(احد مراحل صناعة الدجاج) ملوث بجراثيم*L.monocytogenes* وازدادت هذه النسبةفي نهاية التسعينات الى 26%(5),وفي عام 1999 تم اتلاف نحو 55 من منتجات الدجاج نتيجة تلوثها بهذه الجراثيم في الولايات المتحدة(2).

تسبب جراثيم *L.monocytogenes* في الانسان مرض اللستيريوسز (invasive)حيث تنتقل الجراثيم من الدم وانتشارهاالى بقية الاعضاء مما يؤدي الى التهاب الدماغ ,التهاب السحايا,الاجهاض في النساء الحوامل ,الانتان الدموي في الاطفال ,وان الاشخاص الذين يعانون من انخفاض المناعة اكثر عرضة للاصابة,كذلك تسبب الجرثومة التهابات معوية معديةgastroenteritis (non invasive) في الاشخاص الاصحاء ويمتاز بالتقئ ,الصداع ,الاسهال ,الحمى والاجهاد, ان الاغذية الملوثة لها دور كبير في حدوث الاصابة باللستريوسز ,حيث سجلت الكثير من الحالات المرضية نتيجة استهلاك الاغذية الملوثة وتشكل لحوم بانواعها وخاصة لحوم الدجاج الذي شكل النسبة الاكبر يليهاالحليب ومنتجاته (7,8).

اشارت المسوحات في نهاية الستينيات الى ان حوالي 10–30% من البيض ومجازر الدجاج حاملة لجرثومة *L.monocytogenes*(9) , حيث عزلت الجرثومة من البيض الطري سببت حدوث حالات مرضيةباللستريوسز (11,10).كما عزل (12) جراثيم *L.monocytogenes* من مزيج بيض طري Liquid whole egg(LWE) . و لوحظ ان 4.06 من بيض طيور السلوى مصابة بجراثيم *L.monocytogenes* (13). . مما يشير الى ان البيض له دور في نقل هذه الجراثيم.

لذا استهدفت هذه الدراسة الى:

1– اصابة تجريبية للدجاج بجراثيم *L.monocytogenes* وعزلها من البيض ومكوناته .

2– عزل الجرثومة من المبيض وقناة البيض ودراسة بعض التغيرات المرضية والنسجية

المواد وطرائق العمل

1- العزلة الجرثومية:

من وحدة الامراض المشتركة /كلية الطب *L.monocytogenes* تم الحصول على جراثيم البيطري. وتم التاكد من خواصها الكيمو حيوية (14).

2- تحضير العزلة:

3- زرعت الجراثيم النقية على وسط مرق التربتكيز صويا المضاف اليه 0.6%مستخلص الخميرة(وسط غني) (Trypticase soy –yeast Extract (TSB.YE،حضر حسب تعليمات الشركة وحضن بدرجة 37م/24ساعة ، وبعد ذلك تم عد الخلايا الجرثومية للملمتر وكان العد الجرثومي 1×10^{10} (15).

تصميم التجربة:

استخدم 15دجاجة بياضة بعمر 50 اسبوع تم الحصول عليه من كلية الطب البيطري . تم مراقبتها لفترة للتكيف مع البيئة ،اخذت نماذج من،البرازوالبيض من الدجاج عشوائيا للتاكد من خلوها من جراثيم *L.monocytogenes* وذللك بزرعها على وسط مرق التر بتكيز المذكور سابقاوكذلك على وسط الليستريابالنسبة للبراز. . قسم الدجاج الى مجموعتين الاولى تضم 12 دجاجة حقنت بجراثيم *L.monocytogenes* وبجرعة 1مل(1×10^{10}) /دجاجة (s.c) ، والمجموعة الثانية تضم 3دجاجات حقنت بالمحلول الملحي المعقم 1مل/دجاجة (s.c) .بعدها تم مراقبة الدجاج لملاحظة العلامات السريرية وجمع البيض المنتج.

العزل الجرثومي:

جمع البيض المنتج وفحصه حيث تم فحص 2بيضة لكل مرة ،.توضع البيضة في كيس نظيف مع 10 مل من المحلول الملحي وبتحريك البيضة داخل الكيس لمحاولة غسل القشرة الخارجية ،بعد ذلك اخذ 2مل من ماء الغسل بواسطة سرنجة معقمة وزرعه على وسط TSB.YE ، ثم يغسل البيض بماء نظيف وتعقم السطح الخارجي بواسطة الكحول باستخدام القطن ، ثم غسلها بالمحلول الملحي المعقم للتخلص من اثر الكحول،فصلت مكونات البيضة كلا على حدى في اطباق بتري معقمة ،بعد ذلك تم سحب 1مل من كل من البياض والصفار بواسطة سرنجة معقمة وزرعها على وسط TSB.YEوبنفس الوقت تزرع على وسط اكار الدم وبالاعتماد على تقنية enrichment&preenrichment لعزل *L.monocytogenes* (14).

قتلت الحيوانات في الايام(7,15,24,30,34,39,42)بعد الاصابة واخذت نماذج من المبيض وقناة البيض للزرع الجرثومي ونماذج اخرى للفحص النسجي لبعض الحيوانات

النتائج

العلامات السريرية:

لم تظهر الحيوانات المصابة بعلامات سريرية مميزة سوى الخمول,قلة استهلاك العلف والماء . وان اهم ما لوحظ هوانخفاض انتاج البيض ,حيث كان معدل الانتاج اليومي قبل الاصابة 7–9بيضة الذي انخفض الى 2–3بيضة مع فترات اقطاع متباينة, ثم تبعه تحسن في الانتاج ابتداءا من اليوم 27من الاصابة وبمعدل 3–5بيضة .

العزل الجرثومي من البيض:

لقد لوحظ خلو البيض والبراز قبل الاصابة بجراثيم*L.monocytogenes* ،اما بعد الاصابة لوحظ ردائة البيض المنتج , انتاج بيض بدون قشرة خارجية في الايام 3،9،14،وفي اليوم 19 انتاج قشرة متعرجة ورقيقة ,كذلك لوحظ بقع دموية في الصفارفي البيض المنتج في اليوم 3و9وفي اليوم 3،9و14 في البياض.

استمر العزل من القشرة الخارجية الى اليوم 31, والصفارالى اليوم 28من الاصابة، ، وفي البياض لليوم 19,.وكما موضح في(الجدول:1).

العزل الجرثومي من قناة البيض والمبيض:

لقد عزلت جراثيم *L.monocytogenes*من كلا العضوين للحيوانات التي قتلت في الايام 7،15،24،30من الاصابة ,ولم تعزل الجراثيم في الايام34،39و42 ووكذلك لم تعزل من حيوانات السيطرةكما موضح في(الجدول:2)

التغيرات المرضية والنسجية لقناة البيض والمبيض:

لقد لوحظ التغيرات المرضية للحيوانات التي قتلت في الايام 7و15 للمبيض احتقان المبيض ورخاوة الجريبات المبيضية، احتقان قناة البيض . اما التغيرات النسجية للمبيض لوحظ احتقان الاوعية الدموية،ارتشاح بؤري للخلايا الالتهابية وخاصة اللمفيةوالعدلات حول الاوعية الدموية وفي متن المبيض ،اضافة الى الخزب ، تنكس وفرط تنسج.

في قناة البيض لوحظ ايضا احتقان الاوعية الدموية مع نزف في منطقة تحت الضهارية ، ارتشاح الخلايا الالتهابية خاصة البلاعم الكبيرة تحت الضهارة ،فضلا عن وجود بؤر متعددة ومتجمعة من العدلات والبلاعم الكبيرة وفي مناطق اخرى لوحظ فرط تنسج الظهارة المبطنة لقناة البيض ،مع توسف وتهتك الخلايا كذللك لوحظ خزب بين الالياف العضلية.

اما التغيرات التي لوحظت في الحيوانات التي قتلت في االيوم ال30 كان ايضا احتقان المبيض وقناة البيض .نسيجيا كان هناك ارتشاح طفيف للخلايا اللمفية،والعدلات في متن المبيض مع فرط تنسج. خزب وفرط التنسج ،ارتشاح طفيف للخلايا اللمفية،وبؤر للخلايا الالتهابية تم ملاحظتها في قناة البيض. بينما لم تلاحظ تغيرات مرضية او نسجية للحيوانات التي قتلت في الايام 35،39و42 وكذلك في حيوانات السيطرة.

جدول(1):العزلات الجرثومية من مكونات البيض لدجاج مصاب بجراثيم *L.monocytogenes*

ايام انتاج البيض	القشرة الخارجي	الصفار	البياض
3	بدون قشرة	+*	+ *
9	بدون قشرة	+	+*
14	=	+	+*
19	+قشرة رقيقة	+	+
22	+	+	–
23	+	+	–
24	+	+	–
25	+	+	–
27	+	+	–
28	+	+	–
29	+	–	–
30	+	–	–
31	+	–	–

* وجود بقع دموية

جدول(2) : العزل الجرثومي من المبيض وقناة البيض لدجاج مصاب بجراثيم *L.monocytogenes*

ايام القتل بعد الاصابة	قناة البيض	المبيض
7	+	+
15	+	+
24	+	+
30	+	+
34	–	–
39	–	–
42	–	–

المناقشة

بينت الدراسة الحالية ان الدجاج المصاب لم تظهر عليه علامات سريرية واضحة سوى الخمول وقلة استهلاك العلف والماء,حيث ان مرض الليستيريا في الدجاج وخاصة البالغ تكون تحت السريرية (16).

ان اهم علامة مميزة لوحظت على الدجاج المصاب هي انخفاض انتاج البيض وانقطاعه في فترات معينة مع ردائة نوع البيض المنتج كانتاج بيض بدون قشرة واحيانا ذو قشرة متعرجة ,ووجود بقع دموية في الصفار والبياض,وهذا يعزى الى اصابة المبيض وقناة البيض وحدوث تنخرات وتنكسات وارتشاح الخلايا الالتهابية والعزل الجرثومي من كلا العضوين و انتقال الجراثيم الى القشرة الخارجية من قناة البيض المصابة مما ادى الى التاثير على نوعية البيض المنتج ,حيث ان جراثيم *L.monocytogenes*من الجراثيم الاختيارية العيش داخل الخلية Facultative intracellular micro-organism التي تعدمن المسببات المرضية الخطرة لما تمتلكه من خواص تمكنها من اختراق جدار الخلايا والتكاثر داخلها وبذللك تكون بعيدة عن الية الدفاع الذاتي ومن ثم تؤديالى تدمير انسجة الجسم وبصورة خاصة عندما تغزو هذه الجراثيم الخلايا المناعية(17),حيث عند الاصابة بجراثيم*L.monocytogene* نتقل الى الدم والسائل اللمفي الى بقية الاعضاء الداخلية حيث تنمو

وتتكاثر داخل هذه الاعضاء وداخل خلايا البلاعم الكبيرة وبافراز اللستريولايسين O (LLO) الذي تزداد فعاليته بوجود المحيط الحامضي داخل الفجوة البلعمية لهذه الخلايا ,يحطم الغشاء وتنتشر الجراثيم في هيولي الخلية ويوفر الظروف المناسبة لنمو الجراثيم وانتشارها الى الخلايا المجاورة ونتيجة الانتاج الموضعي للLLO وتكاثر الجراثيم *في* نسيج المضيف يؤدي *الى تكون* افة مرضية منتشرة متمثلة بارتشاح العدلات التي تسبب تحلل خلايا النسيج وحدوث تنكسات (18) ,ونتائجنا توافق (19)بوجود بؤر تنخرية في قناة البيض لدجاج مصاب ,كذلك توافق مع دراسة(20) التي اشارت الى حدوث التهاب قناة البيض salpingitis في دجاج مصاب تجريبيا بجراثيم *L.monocytogenes*وجود تنخرات وارتشاح الخلايا الالتهابية. كذلك بينت الدراسة على امكانية انتقال الجراثيم من المبيض الى الصفار الذي هو مصدر تكون المح والتكاثر داخل الصفار مما يعد مصدر اصابة , وهي توافق (21) حيث عزلت الجرثومة من صفار بيض مجمد,كما عزلت من مكونات البيض الطرية المجمدة والمجففةpowderd (22).

بينت الدراسة ايضا الى انتقال الجراثيم الى بياض البيض من قناة البيض المصابة حيث تم عزل الجراثيم من البياض واستمر الى اليوم ال 19 أي ان الجراثيم قاومت المضادات كالايسوسوم ومكونات الاخرى في البياض وهي تعاكس (23) على ان هذه المكونات تثبط نمو الجراثيم ,حيث ان لايسوسوم بياض البيض يثبط او يمنع نمو *L.monocytogenes* لذا ممكن استخدامه كمادة حافظة للاطعمة خاصة ذات المنشا النباتي حيث مفعوله اكبر مما في الاطعمة ذات المصدر الحيواني. بنفس الوقت بينت الدراسات ان الجراثيم تقاوم بشدة اللايسوسوم المضاف للحليب وفي الوسط الزرعي (24). كذلك لوحظ نمو جراثيم *L.monocytogenes* في بيض كامل,البياض,الصفار سواء الطازج او المعامل بالحرارة, *(*25). كما لاحظ (26) ان 72%من مزيج البيض الطري blended حامله لانواع الليستريا تشكل*L.monocytogenes* 37.2% كذلك عزلت من غشاء القشرة. وعزلت ايضا من خليط بيض (البياض والصفار)المبستر في المملكة المتحدةوايرلندا(27), وهذا ما يشير الى ان جراثيم *L.monocytogenes* لها قابلية العيش في البياض ولكن يعتمد على عوامل منها مكونات البياض ,العد البكتيري ,درجات الخزن (28),ولهذا قد يعزى ان عدم عزلها من البياض في الايام اللاحقة الى انخفاض العد البكتيري وتطور المناعة وبالتالي تحسن في كفاءة هذه المكونات الى تثبيط النمو الجرثومي ,حيث ان الاستجابة المناعية ضد *L.monocytogenes* تتميز بتداخل معقد بين عناصر مناعية متاصلة (المقاومةالطبيعية) المتمثلة بالعدلات ,خلايا البلعم الكبير والخلايا القاتلة الطبيعية المهمة للسيطرة على النمو لجرثومي ,وعناصر متكيفةAdaptiveImmune Element متمثلة بخلاياT-cells(29).

ان اغلب الطيور المصابة تكون حاملة للجراثيم وتطرحها عن طريق البراز كما ذكر سابقا وهذا قد يعزى الى استمرار عزل الجراثيم من القشرة الخارجية .عزل(30)جراثيم اللستريا من الماء المستخدم في غسل البيض وكذلك من السطح الخارجي للقشرة .

نستنتج من دراستنا على امكانية انتقال جرثومة *L.monocytogenes* من الدجاج المصاب الى المبيض,قناة البيض,واصابة البيض ومكوناته مما يسبب خطورة على الصحة العامة وخاصة عند التعامل مع البيض الطازج واستعماله في صناعة بعض الاغذية كالمايونيز ,الحلويات و المثلجات وغيرها من الاغذية ولما لهذه الجراثيم من المقدرة على العيش في ظروف غير طبيعية كالاس الهيدروجيني الذي يتراوح بين3.8−9.6 ,ودرجات حرارة 0_45م وحتى درجة الانجماد وان الجراثيم المنماة بدرجة 4م تكون بطيئة النمو واكثر امراضية(31).الا ان طبخ البيض جيدا والخزن الجيدان لا يشكل أي خطورة (28).

المصادر

1- SchlechWF.Food Listeriosis .Clin.Infect.Dis.2001;31:770-775

2-Berrange ME,North JK,Smith DP,Lyon GE. Incidence of *L.monocytogenes* on pre-scald &post –chill chicken carcasses. J.Appl.poult.Rese.2000;

3-Gietter M. *L.monocytogenes* in oven-ready poultry.Vet.Rec.1976;99:336.

4-Listeriosis 1987,Joint WHO\ROI consutation on prevention &control .Berlin(west) 10-12 desember.

5-Baily ME,North JK,Smith DP &Lyon CE. Recovery &sero type distribution of *L.monocytogenes* from broiler chicken In the Southeastern united states.J.food.prod.1989;52:148-150.

6-Cox NA,Baily JS &Berrange ME. Presence of *L.monocytogenes* in the integrated poultry industry. J.Appl.poult.Rese.1997;6:116-119

7-Aurli P,Fiorucci GC,Caroli D,Marchiaro G , O Novara, Leon L&Salmaso. Out break of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *L.monocytogenes*. New England J.of Medicin.2000;342:1236-1241.

8-Mead PM,Slutsker L.Dietz V,Mcraig LF,Bresee S,Shapir O,Griffin PM& Tauxe RV.Food related illness &death in the United State. Emerging Infectious Dis.1999;5:607-625.

9-Robert B. *L.monocytogenes* :Recognized Threat to Food Safety.2000;1-2.

10- Pinner RW,Schuchat A,Swaminathan B,Hayes PS,Deaver KA,Weaver RE,Plikaytis BD,Reeves M,Broome CV,Wenger JD,and Listeria study group.Role of Food In sporadic Listeriosis : Microbiological &epidemiological investigation .J.American Medical.Associ.1992;267:2046-2050

11-Schwartz BD,Ciesielski CA,Broom CV,Gaventa S,Brown GR,Gellin BG,Hightower AW,Mascola L& Listeria study group.Association of sporadic Listeriosis with consumption of uncooked hot dog&undercooked chicken .Lancet.1988;33:779-782.

12-Leasor SB,Foegeding PM.Listeria species in commercially broken raw liquid whole egg.J.Food.protect.1989;52:777-780.

13-Ozlem E. *L.monocytogenes*,Yersinia enterocolitica and Salmonella enteritidis in Quail Eggs.Turk.J.Anim.Sci.2004;28:597-601.

14-Hichins AD.detection&enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods.In Bactriological Analytical Manual Online chap(10), 2003.

15- Miles AA. Misra SS&Iwin JO. The estimation of bacteriocidal power of blood .J.Hyg.1984;38:732-749.

16-Susan E, Aiella .The merck Veterinary.(8ed.),Listeriosis.Whitehous stationNJ:Merck&co.Inc.2000

17-Rouquette C,Berch P.The pathogensis of infection by *L*.monocytogenes Microbiologia. 1996;12:245-258.

18-Cowart RE,Foster BG.Diferential effect of iron on the grown of *L.monocytogenes:*minimum requirement &mechanism of acqistion.J.Infect.Dis.1985;151:721-730.

19-Gray ML,Killinger AH. *L.monocytogenes* &Listeric infection .Bacteriol.Rev.1966;30:309-382.

20-Abdallaa IS,Al-Khayyat A,Abou-El-Azm IM.First isolation of *L.monocytogenes* from chickn in Iraq with further Experimental studies on the pathogenicity and sensitivity of the isolate to Antibiotics.Iraqi.Medical.J.1975;23:62-71.

21-Robin CM.Effect of preservation &growth factors on secretion of Listeriolysin by *L.monocytogenes* .Food.prod. 1993**; 56:380**-384.

22-Brackett RE,Beuchat LR. Survival of *L.monocytogenes* in Whole egg and egg yolk and in liquid whole egs.Food.Microbiol.1991;8:331-337.

23-Hugliey VL,Wilger PA. Antibacterial activity of hen egg white lysozyme against *L.monocytogenes* ScottA in foods.J.Appl,Environ.Microbiol .1989 ;55: 631-638.

24-KhimDJ,LeyerG,AnGH,JohnsonEA.sensitizationofheat–treated *L.monocytogenes* to add lysozyme in milk.Appl. Environ. Microbiol. 1994;60: 3854-3861.

25- Foegeding, P. M., and S. B. Leasor.. Heat resistance and growth of *Listeria monocytogenes* in liquid whole egg. J. Food Prot. 1990; 53:9-14.

26-Moor J,Madden RH.Detection and incidence of *L*isteria species in blended raw eggs.J.Food.prote.1993;56:652-654.

27-James D,Schuman, Brain W,Sheldon.Inhibition of *L.monocytogenes* In adjusted pasteurized Liquid whole egg. J.food.protec.2003;66:999-1006.

28-Pamble MS,Beers SM, Palumbos A.Thermal resistance of *L.monocytogenes* &salmonella Spp.in Liquid egg white .J.Food.produc. 1996;59:1003-1006.

29-Conlan JW,North RJ.Nutrophils are essential for early anti Listeria defense in the liver ,but not in the spleen or peritoneal cavity ,as revealed by agranulocyte depleting monoclonal anti body .J,Exp.Med.189:259-268.

30-Farber JM,Daley E,Coates F.Presence of Listeria Spp.in whole and wash water samples from Ontario and Quebec. Food Res.Int.1992;25:143-245.

31-Stephens JC,Robert TS,Jones D,Andrew PW.Efect of growth for dose dependence.J.Appl.Bacteriol.1991;70:239-244.