

Mikrobiološka kakvoća i ocjena svježine konzumnih jaja

Trpčić¹, I., B. Njari², N. Zdolec², Ž. Cvrtila Fleck²; T. Fumić³, L. Kozačinski²

Stručni pregledni rad

Sažetak

Cilj ovog rada bio je prikazati čimbenike mikrobiološke kakvoće i održivosti konzumnih jaja. Mikroflora jaja sastoji se od brojnih bakterijskih vrsta, no javnozdravstveno značenje ponajprije imaju salmonele. Općenito, bakterijsko onečišćenje sadržaja jajeta nastaje na dva načina: preko ljuske (pore, oštećenja) ili prije stvaranja ljuske. Jaja imaju različite prirodne obrambene mehanizme i strukture kojima priječe prodor bakterija iz okoliša, no sposobnost obrane bitno ovisi o vanjskim uvjetima (vlažnost, temperaturne oscilacije, oštećenja i dr.). Trajanje održivosti jaja izravno je povezano s inicijalnim onečišćenjem, higijenom proizvodnje, sakupljanja i pakiranja te mikroklimatskim uvjetima. Pored navedenog, ne treba zanemariti i čimbenike iz primarne proizvodnje koji u krajnjoj liniji najviše i pridonose ukupnoj kakvoći jaja – genetiku, hranidbu, dobrobit, zoohigijenske uvjete, zdravlje jata. Stoga se proizvodnja konzumnih jaja u kontekstu mikrobiološke ispravnosti i veće održivosti mora zasnivati na integriranom uzgoju i kontroli u okvirima dobre poljoprivredne, veterinarske, higijenske i proizvođačke prakse.

Ključne riječi: jaja, mikrobiološka kakvoća, održivost

Uvod

Biolška i hranjiva vrijednost jaja je nezamjenjiva. Jaja su izvanredan izvor hranjivih tvari. Jedno jaje (ovisno o veličini) osigurava između 4,5 – 6 g bjelančevina, a polovica te količine nalazi se u bjelanjku. Bjelanjak se smatra idealnim izvorom bjelančevina jer sadrži sve esencijalne aminoskislone u pravim omjerima. Od ukupnih masti u jajetu, više od polovice otpada na nezasićene masne kiseline. (Kaić Rak i Antonić Degač, 1998.).

Samo su svježja, neoplođena jaja određene veličine, pravilne, čiste i neoštećene ljuske najbolje kvalitete. Odlučujući čimbenici koji utječu na smanjenje kvalitete jaja tijekom njihova skladištenja su vrijeme, temperatura, vlažnost zraka te način rukovanja (Hegedušić i Rimac, 1998.). Kako su se posljednjih 40 godina događale mnoge promjene kako u samoj proizvodnji tako i u postupcima rukovanja s jajima, mnoge od njih

doprinijele su mikrobiološkim izazovima s kojima se suočavamo i danas. *Salmonella enterica* serovar Enteridis (SE) i u zadnje vrijeme *Salmonella enterica* serovar Heidelberg (SH) su dva mikroorganizma koji imaju najveću ulogu u mikrobiološkoj kontaminaciji jaja (Curtis, 2007). Također, povećava se svijest konzumenta o sigurnosti hrane. Ne samo da se uzima u obzir čistoća ljuske, nego i fizikalna svojstva, te posebice mikrobiološki pokazatelji.

Građa jaja

Osnovnu građu jaja čini ljuska, bjelanjak i žumanjak. Ljuska jaja štiti osjetljive dijelove jaja od vanjskih utjecaja, a pri tome omogućuje izmjenu plinova i prijenos topline. Vapnena ljuska je tanka, čvrsta i porozna. Sastoji se uglavnom od kalcijeva karbonata. Njezina je debljina oko 0,35 mm s mnogobrojnim porama. Boja ljuske kokošjih jaja je različita. Intenzitet boje određuje količina pi-

gmenta ovoporfirina u ljusci. Na površini svježih jaja nalazi se amnionska kutikula - potkožica, koja ima antibakterijsko djelovanje i sprječava prodor mikroorganizama u unutrašnjost jaja. S unutarnje strane ljuski priliježu dvije membrane. Na širem, tupom dijelu jaja, membrane se međusobno odvajaju tvoreći tako zračnu komoricu. Čim je jaje sneseno počinje se hladiti a sadržaj se stisne. Zračna komora se povećava, starenjem jaja zbog isparavanja vode iz njegovog sadržaja. Bjelanjak okružuje žumanjak. Sastoji se od tri sloja: vanjskog, unutarnjeg tekućeg i srednjeg čvrstog koji je najvoluminozniji i čini polovinu ukupne mase bjelanjka.

Kemijski sastav jaja

Bjelanjak jajeta sadrži 87 % vode, 12 % bjelančevina, 0,5 % ugljikohidrata, 0,5 % mineralnih tvari te lipida u tragovima. Žumanjak je uklopljen u bjelanjku i sastoji se od približno 48 % vode, 16 % bjelančevina, 33 %

¹ Ivona Trpčić, dr. vet. med.;

² dr.sc. Bela Njari, redoviti profesor; dr. sc. Nevijo Zdolec, znanstveni novak, viši asistent; dr. sc. Željka Cvrtila, docent; dr. sc. Lidija Kozačinski, izvanredni profesor; Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zavod za higijenu i tehnologiju animalnih namirnica. Heinzelova 55, Zagreb.

³ Tihana Fumić, dr. vet.med.

Tablica 1. Kemijski sastav svježeg jajeta različitih vrsta peradi
Table 1 Chemical composition of eggs from different species of poultry

Vrsta Species	Masa jajeta, g Egg mass, g	Sastav jajeta, % Egg composition, %		
		Bjelanjak Egg-white	Žumanjak Egg yolk	Ljuska Shell
Kokoš Hen	58	55,8	31,9	12,3
Pura Turkey	85	55,9	32,3	11,8
Patka Duck	80	52,6	35,4	12,0
Guska Goose	150	52,5	35,1	12,4

masti, 1 % ugljikohidrata i 1 % mineralnih tvari (Maver i Matasović, 1998.).

Jaja su bogata vitaminom A i vitaminom D. Od minerala sadrže željezo, kalcij, fosfor, jod, cink, kobalt, selen i druge u tragovima. Lipidi žumanjka sastoje se od 65,5 % triglicerida, 28,3 % fosfolipida i 5,2 % kolesterola. Boja žumanjka ovisi o količini kartinoidnih pigmenta u hrani (lutein, ovoflavin i karotin). Bjelančevine bjelanjka su ovalbumin, konalbumin, ovomukoid, lizozim, ovomucin, ovoglobulin, avidin i ovoinhibitor, a proteini žumanjka fosfitin, lipovitelin, livetin i lipoproteini male gustoće. Jaje sadrži aminokiseline: izoleucin, leucin, valin, metionin, cistin, fenilalanin, tirozin, treonin, triptofan, lizin, histidin i arginin. Lipide žumanjka cine trigliceridi oleinske, palmitinske, stearinske i linolne kiseline, fosfolipidi (lecitin) i kolesterol (Maver i Matasović, 1998.).

Konzumna jaja

Glavni kriteriji za kvalitetno razvrstavanje konzumnih jaja za tržište su svježina i visina zračne komore, čistoća površine i neoštećenost ljuske, težina jaja i kvaliteta sadržaja. Prema Pravilniku o kakvoći jaja (NN RH 115/2006) s obzirom na kakvoću jaja se klasiraju na:

1. jaja "A" klase ili svježija jaja,
2. jaja "B" klase namijenjena industrijskoj preradi.

Jaja "A" klase moraju u trenutku pakiranja ispunjavati najmanje sljedeće uvjete:

- da je ljuska i pokožica normalnog oblika, čista i neoštećena,
- da zračna komora nije viša od 6 mm i da je nepokretna, dok za jaja koja će se označiti kao "ekstra" ne smije prelaziti 4 mm,
- da je bjelanjak bistar, proziran i kompaktna,
- da se žumanjak pri prosvjetljavanju jaja vidi kao sjena nejasnih obrisa i da je pri naglom okretanju jaja nepokretan ili neznatno pokretan te da se nalazi u sredini jaja,
- da je zametak neprimjetnog razvoja,
- da nema stranih tvari,
- da nema stranog mirisa.

Jaja "A" klase ne smiju biti prije ni poslije klasiranja prana ni na bilo koji način čišćena, ne smiju biti podvrgnuta postupku konzerviranja ili biti hlađena na temperaturi nižoj od +5 °C. Jaja koja su podvrgnuta postupku hlađenja ne smiju se označavati kao "A" klasa čak i ako ispunjavaju ostale zahtjeve za tu klasu jaja, te se moraju označiti riječima "hlađena jaja". Jaja "B" klase su jaja koja ne ispunjavaju zahtjeve primjenjive za jaja "A" klase.

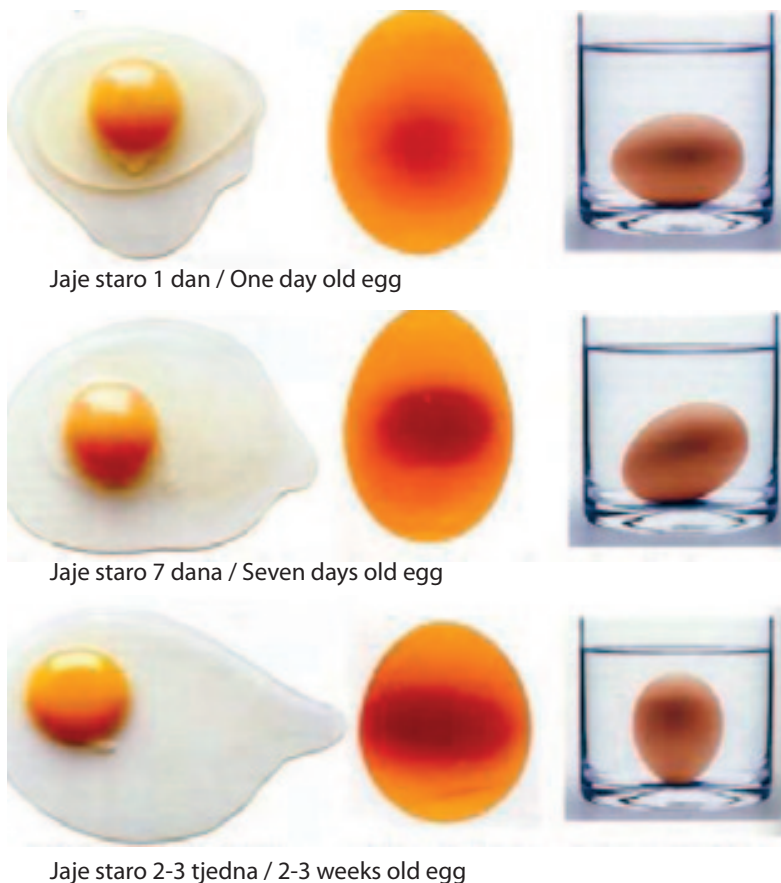
Jaja "A" klase se prilikom stavljanja u promet obzirom na težinu razvrstavaju u četiri razreda i označavaju kao:

Klasa jaja Egg class	Težina (g) Mass (g)
XL	> 73
L	63-73
M	53-63
S	< 53

Minimalni rok trajanja mora se označiti na pakiranju jaja, a označava se sukladno odredbama posebnog propisa o općem deklariranju ili označavanju hrane (Anonimno, 2006.). Minimalni rok trajanja označava se riječima "najbolje upotrijebiti do..." i datum. Oznaka datuma pakiranja može se staviti na pakiranje jaja predviđeno za prodaju, a sastoji se od riječi: "datum pakiranja" iza kojih se nalazi datum. Minimalni rok trajanja ne smije biti duži od 28 dana nakon nesjenja. Pored datuma minimalnog roka trajanja može se u trenutku pakiranja na jaja i/ili na pakiranja staviti oznaka preporučenog datuma prodaje koja se sastoji od riječi "prodati do" iza kojih se nalazi datum. Preporučeni rok prodaje ne smije prelaziti 21 dan nakon datuma nesjenja do prodaje potrošaču.

Ocjena svježine jaja

Theron i sur. (2003) ističu da jaja moraju biti prodana i upotrijebljena u roku od 21-28 dana nakon nesjenja. Svježina koja je osnovni pokazatelj kvalitete jaja opada nakon nešenja, a ovisi o vremenu i temperaturi pohrane. To gubljenje kvalitete je povezano s kemijskim, hranidbenim, funkcionalnim i higijenskim promjenama. Promjene koje se događaju na ljuski jajeta tijekom skladištenja su kompleksne, a uključuju: smanjenje bjelanjka, povećanje pH, slabljenje i rastezanje vitelinske membrane, te posljedično povećavanje tekućeg dijela žumanjka, promjene u proteinskoj konformaciji, gubitak vitamina (B1 prvenstveno). Svježinu jaja možemo jednostavno odrediti denzimetrijom i prosvjetljavanjem. Denzimetrijska metoda je najbrža metoda određivanja svježine jaja potapanjem u 12 % otopinu soli. Pri tome svježije jaje tone, jaje staro 2 dana lebdi bli-



Slika 1. Određivanja svježine jaja potapanjem u 12 % otopinu soli
Picture 1 Determination of egg freshness by plunging in 12% NaCl solution (<http://caperberry.blogspot.com/>)

že dnu posude, s 4 dana je bliže vrhu posude, a jaje 15 dana starosti pliva na površini (slika 1.). Prosvjetljavanje je metoda kojom se pomoću svjetiljke ili pomoću posebne naprave, ovoskop određuje visina zračne komore, homogenost bjelanjka, intenzitet i pokretljivost žumanjka. Zrak ulazi kroz pore ljuske jajeta te povećava zračnu komoricu u jajetu te samim time dolazi do smanjenja sadržaja jaja. Visina zračne komorice oko 3 mm nam ukazuje na to da je jaje svjež. Stajanjem se povećava visina i to proporcionalno svaki dan za otprilike 0,32 mm dnevno (Hadžiosmanović i Pavičić, 1998.).

Mikroflora jaja

Jaja su od trenutka kada su snesena pa do trenutka potrošnje izložena utjecaju različitih mikroorganizama

koji u jaje ulaze s bilo koje površine s kojom jaje dolazi u doticaj. Broj mogućih bakterija na površini ljuske može se kretati od nekoliko stotina do deset milijuna a moguće je prisutnost oko 16 različitih uglavnom gram pozitivnih bakterija. Uvijek su prisutne vrste *Micrococcus* te u manjim količinama *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Arthobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Escherichia* i *Aerobacter* (Board i Tranter., 1995). Te bakterije mogu izazvati različite promjene na jajima, npr. mogu promijeniti boju žumanjka i bjelanjka, te promijeniti fizikalna svojstva i izgled bjelanjka te promijeniti kemijski sastav jaja. U pokvarenim jajima u velikim količinama su prisutne gram negativne bakterije, a u manjim količinama gram pozitivne bakterije. Najčešći uzročnici

kontaminacije jaja su vrste *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Cloaca*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Proteus* i *Aeromonas*.

U Europskoj uniji dvije bakterije su glavni uzrok prijavljenih trovanja hranom posljednjih godina: *Salmonella* i *Campylobacter*. Iako broj salmoneloza premašuje broj kampilobakterioza bilo je obrnutih slučajeva za određenu državu (Cavitt, 2003). U Belgiji 2002. *S. enteritidis* je bila najčešći izolirani serovar salmonelle (63,58 %) (Imberechts i Dierick, 2004). Hrana životinjskog podrijetla, pogotovo meso peradi i proizvodi od mesa peradi, jaja i proizvodi od jaja često su povezani s pojavama salmoneloze kod ljudi (Bryan i Doyle, 1995). Javlja se akutni gastroenteritis koji obično traje 4-7 dana sa simptomima abdominalne boli, učestalim proljevom, povraćanjem, groznicom i zimicom. Smrtni slučajevi se mogu javiti u populaciji ljudi visokog rizika (Lin i sur., 1997). Trovanja hranom povezana sa *S. Enteritidis* uključuju jaja i proizvode od jaja u 68,2 % slučajeva (WHO, 2001).

Kontaminacija ljuske jajeta nakon nesjenja

Slijedeći ovipoziciju, ljuska se kontaminira sa svih površina s kojima je u kontaktu i stupanj kontaminacije direktno je povezan s čistoćom tih površina (Board i Tranter, 1995). U istraživanju u kojem su se nesilice umjetno inficirale sa *S. enteritica* serovarovima Senftenberg, Thompson i Typhimurium, utvrđen je postotak onečišćenja ljusaka od 7,6, 9,5 i 6,3 % (Cox i sur., 1973). Jones i sur. (1995) su izolirali salmonelu u 72 % uzoraka iz okoliša, pri čemu je 7,8 % ljusaka bilo kontaminirano. Perales i Audicana (1989) utvrdili su u zaraženom jatu *S. Enteritidis* PT4 na samo 0,8 % ljusaka. Ove razlike među studijama mogu, uz ostale čimbenike, biti i zbog različitog vremena uzorkovanja nakon infekcije jer ono jako uvjetuje kontaminaciju ljuske. Ljuske jaja proi-

zvedenih u prvom tjednu poslije inokulacije bila su kontaminirana u 52,5 % slučajeva, a kasnije se učestalost kontaminacije brzo smanjuje (Bichler i sur., 1996). Deset posto ljusaka pozitivno je na *S. Enteritidis* 4 tjedna nakon inokulacije, 8,1 % 8 tjedana nakon oralne inokulacije kokoši sa *S. Enteritidis* tip faga 13a (Gast i Beard, 1990) i tip faga 8 (Bichler i sur., 1996). Kontaminacija u ambalaži također je značajan čimbenik vanjske kontaminacije ljuske jaja, čak i onih dobivenih iz jata slobodnih od salmonela. Sterilizirana jaja koja su prošla kroz pet pakiranja pokazuju učestalost kontaminacije od oko 0,3 % (Davies i Breslin, 2003). Salmonela na ljusci jaja mogu brzo Propasti tijekom skladištenja, ali im se preživljavanje povećava niskim temperaturama (Rizk i sur., 1966; Baker, 1990; Radkowski, 2002), pogotovo ako je relativna vlažnost niska (Simmons i sur., 1970). Salmonela vjerojatno preživljavaju duže na niskim temperaturama zbog sporijeg metabolizma induciranog nepovoljnim uvjetima na suhoj površini ljuske (Radkowski, 2002). U istraživanju Rizka i sur. (1966), zadržavanje vlage na ljusci također je pridonijelo većem preživljavanju salmonela na niskoj temperaturi jer su jaja bila stavljena u spremište dok su još bila mokra. Kad su ljuske bile kontaminirane fecesom koji sadrži salmonela i spremljene na 4°C, broj im se smanjivao tijekom vremena (Schoeni i sur., 1995), ali je *S. Enteritidis* preživjela 4 tjedna (Braun i sur., 1999). Na 25°C uočen je rast salmonela na ljusci jaja pri čemu je feces mogao osigurati potrebne nutrijente (Schoeni i sur., 1995). Braun i sur. (1999) uočili su duže preživljavanje na 21°C na jajima kontaminiranim fecesom nego na čistim jajima. Brzo uklanjanje fecesa s ljuske jaja može umanjiti mogućnost prolaza salmonela u jaje (Schoeni i sur., 1995).

Kontaminacija jaja kroz ljusku

Jaje ima tri fizičke barijere za prolazak bakterija. To su hidrofobni prote-

inski sloj (kutikula) koji prekriva ljusku i otvore pora, kristalnu ljusku i membranu koja odvaja ljusku od bjelanjka (Haigh i Betts, 1991). Membrane su građene od tri različita sloja: unutarnje i vanjske membrane koje se sastoje od mreže nasumično usmjerenih vlakana i homogenog trećeg sloja od materijala gustog elektronima nazvanog limitirajuća membrana (Bruce i Drysdale, 1994b). Ta limitirajuća membrana isprepliće se s vlaknima unutarnje membrane češće nego što tvori zaseban sloj (Wong Liong i sur., 1997). Brojna su istraživanja o prolasku salmonela kroz ljusku jaja. U većini istraživanja, prolazak bakterija je istražen analizom membrana i/ili sadržaja jaja, najčešće nakon obogaćivanja, na prisutnost salmonela. Cijela jaja uronjena su u kulturu salmonela prije skladištenja. Ta je metoda najbliža „stvarnosti“ i može uz ulazak slijediti i migraciju salmonela kroz bjelanjak i žumanjak. U cilju vizualizacije bakterijskog ulaska bez destrukcije razvijene su dvije metode. U prvoj je korištena kultura bioluminescentne *S. Enteritidis* za imerziju cijelog jaja. Luminescencija na mjestima ulaska može se detektirati slikovnim sustavom. Ova je metoda relativno slabo osjetljiva; potrebno je 10⁴ stanica po ml bjelanjka da bude vidljiva fluorescencija, a još više za luminescenciju (Chen i sur., 1996; Chen i Griffiths, 1996). U drugoj metodi koju su razvili Board i Board (1967), sadržaj jaja zamijeni se s agarom u koji je dodan antibiotik i tetrazolium. Jaja se urone u kulture *S. Enteritidis* otporne na antibiotike prije ili nakon punjenja jaja agarom. Na mjestima ulaska bakterija, tetrazolium se reducira u formazan zbog rasta bakterija što rezultira tamnocrvenim kolonijama. To se može uočiti prosvjetljavanjem (Berrang i sur., 1998). Nascimento i sur. (1992) razvili su metodu kojom se može pretražiti jedan mali segment ljuske na prolaz bakterija. Komad ljuske stavi se na površinu mekog agara u Petrijevoj zdjelici, učvrsti se prsten unutar kojeg se nakapa kultura *S. Enteritidis*.

Nakon inkubacije ukloni se ljuska s agara nakon čega se mogu pobrojati kolonije čime su utvrdi količina bakterija koje su prešle ljusku.

Vanjski čimbenici prodora bakterija u jaja

Bakterijski soj

Anderson i sur. (1995) nisu utvrdili značajne razlike u mogućnosti prodiranja kroz ljusku jajeta *S. Enteritidis* i *Pseudomonas fluorescens*. S druge strane, Jones i sur. (2002) smatraju da te bakterije pokazuju različitu sposobnost preživljavanja u pojedinim dijelovima jajeta. *S. Enteritidis* ima veću sposobnost preživljavanja na vanjskoj površini ljuske, dok *P. fluorescens* ima sposobnost prijeći membrane ljuske i kontaminirati sadržaj jajeta. Schoeni i sur. (1995) su prikazali da *S. Enteritidis* i *S. Heidelberg* mogu prodrijeti u unutrašnjost cijelog jajeta tijekom pohrane. De Reu i sur. (2004; 2006) su usporedili sposobnost prolaska kroz ljusku jajeta u sedam vrsta bakterija: *Staphylococcus warneri*, *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes* sp., *Serratia marcescens*, *Carnobacterium* sp., *Pseudomonas* sp. i *S. Enteritidis*. *Pseudomonas* sp., *S. Enteritidis* i *Alcaligenes* sp. su prolazili ljusku intaktnog jajeta puno češće od ostalih. Rast serovarova *S. enterica* u bjelanjku čini se ovisi o prisutnosti flagela i fimbrija (Cogan i sur., 2004).

Temperaturne razlike između jaja i bakterijske suspenzije

Najveći postotak kontaminiranih jaja i najbrže prodiranje bakterija je primjećeno kada je jaje bilo toplije od njegove okoline. U tim uvjetima hlađenje uzrokuje kontrakciju sadržaja u jajetu. Rezultat toga je negativan tlak koji uvuče bakterije u sadržaj jajeta kroz njegove pore (Bruce i Drysdale, 1994). Hlađenjem jaja ubrzo nakon nesenja na 4°C kroz 15 minuta prije potapanja u suspenziju od 20°C koja sadržava *S. Enteritidis* postignut je manji postotak kontaminiranih jaja u odnosu na jaja koja nisu hlađena (Miyamoto i sur., 1998).

Vlaga

Za prolazak bakterija kroz ljusku jajeta također je važna i vlažnost (Bruce i Drysdale, 1994; Berrang i sur., 1999a). U svakom stadiju proizvodnje jaja prisutna je mogućnost onečišćenja bakterijama u slučaju pozitivne korelacije temperature (jaje je toplije od okoline) i vlage (Berrang i sur., 1999a). Također, prisutnost vode na ljusci povećava prodiranje *S. Typhimurium*, no neki autori (Padron, 1990) smatraju da prisutnost vode na ljusci nije presudna. Kada se jaja maku iz ohlađenog mjesta pohrane na sobnu temperaturu, mogu se „oznojiti“ te se kondenzacijom kapljice vode odvoje na površinu te dospiju na površinu ljuske jajeta (Bruce i Drysdale, 1994). Ernst i sur. (1998) su utvrdili da takva jaja ne pokazuju veći stupanj kontaminacije od kontrolne skupine.

Broj mikroorganizama u suspenziji ili u fecesu

Što je veći broj *S. Enteritidis* u kulturi koja se koristi za potapanje jaja, to je veći postotak kontaminacije jaja (Chen i sur., 1996). Braun i sur. (1999) su koristili 1 % manje doze inokuluma, a oko ljuske su nanijeli feces, te jaja pohranili prvo na 35°C kroz 30 minuta, a potom na 4°C. Membrane i sadržaj su bili više kontaminirani nego kad je bio apliciran samo inokulum.

Djelovanje temperature i relativne vlage tokom pohrane nakon inokulacije

Braun i sur. (1999) su istražili sposobnost prodiranja *S. Enteritidis* kroz ljusku u ovisnosti o temperaturi i relativnoj vlažnosti. Dokazano je da se razina prolaska u sadržaj jajeta povećava kako se povećava temperatura i relativna vlažnost. Schoeni i sur. (1995) su proučavali potencijal prodiranja salmonele iz fecesa u unutrašnjost jajeta 3 dana nakon pohrane. 50 % sadržaja je bilo kontaminirano na 25°C, dok kontaminacije uopće nije bilo na 4 °C. Rizk i sur. (1966) su istraživali oporavak salmonele iz jaja koja su bila pohranjena na 2°C, 10-13°

i 22-23°C. Salmonele su pronađene u sadržaju nakon 4 i nakon 10 tjedana nakon pohrane kod temperature od 10-13°C i 22-23°C, dok je kod temperature od 2°C koncentracija salmonele bila veoma niska.

Unutrašnji čimbenici prodora bakterija u jaja**Kutikula**

Kutikula je prva obrana jajeta protiv bakterijske infekcije. U prvim minutama nakon ovipozicije, kutikula je najčešće vlažna i nezrela i nema još ulogu u prevenciji prolaska bakterija kao što ima zrela kutikula (Sparks i Board, 1985; padron, 1990; Miyamoto i sur., 1998). Nadalje, kako je jaje toplije (42°C) od okoliša u kojem se nalazi prisutna je razlika u temperaturi, te bakterije mogu lakše prodrijeti kroz ljusku jajeta i ostale jajčane membrane (Bruce i Drysdale, 1994). Kutikula je učinkovita zapreka za vodu i štiti od bakterijske kontaminacije tako da zatvara pore (Berrang i sur., 1999a). Skidanje kutikule pomoću abrazije jajeta s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) povećava prolazak bakterije kroz ljusku jajeta (Board i sur., 1979). Pranje jajeta alkalnom otopinom karbonata mijenja površinu jajeta te povećava mogućnost bakterijskog prolaska (Wang i Slavik, 1998). Kutikula također može biti lizirana nakon pohrane u vlažnoj okolini (Board i sur., 1979). Kutikula nije nerazdvojni dio ljuske. Kod malog dijela (3,5 %) jaja nađen je dokazivi nedostatak na kutikuli, dok njih 8,0 % uopće nije imalo kutikulu na vršnom ili tupom dijelu jajeta (Board i Halls, 1973). Skeniranjem pomoću elektronskog mikroskopa Nascimento i sur. (1992) su demonstrirali da je kutikula kod većine jaja (> 98 %) kroz cijeli proces nesenja odsutna ili je prisutan samo mali njen komadić. Kako jaje stari, sušenje kutikule rezultira njegovim stezanjem, što može rezultirati ostatkom pora (Mayes i Takeballi, 1983).

Ljuska

Kvaliteta ljuske jajeta je obično definirana kao količina prisutne ljuske

te njezina specifična težina i lomljivost. Razvijen je model određivanja lomljivosti ljuske pomoću njezine specifične težine (Sooncharenying i Edwards, 1989). Jaja sa niskom specifičnom težinom ljuske imaju tanju ljusku te su predisponiranija za prodiranje salmonele i *Pseudomonas* spp. (Sauter i Petersen, 1974). Nascimento i Solomon (1991) su utvrdili da su jaja koja su vizualno procijenjena kao jaja s ljuskom slabije kvalitete pogodnija za prolazak *S. Enteritidis*. Poznati su brojni čimbenici koji utječu na kvalitetu ljuske kao npr: soj kokoši, dob kokoši, temperatura okoliša (> 21°C vodi do propadanja kvalitete ljuske), ishrana, elektroliti u hrani, stres, bolesti (Roberts i Brackpool, 1994). Genetska selekcija za veću proizvodnju jaja i veću masu jajeta rezultirali su slabijom kvalitetom ljuske (Roberts i Brackpool, 1994) pa je mogućnost kontaminacije jaja veća (Jones i sur., 2002). Struktura ljuske jajeta se također pokazala kao varijabilna kod različitih sojeva kokoši (Roberts i Brackpool, 1994). Starost kokoši je također jedan od faktora koji djeluje na kvalitetu ljuske. U proizvodnom ciklusu nesilica postoji razlika u kvaliteti ljuske, pa je dokazano da prvo i zadnje jaje u proizvodnom ciklusu nemaju istu kvalitetu ljuske, pa je najkvalitetnija ljuska u sredini životnog vijeka nesilica (Mayes i Takeballi, 1983). Bakterijska kontaminacija zračne komorice, ljuske i sadržaja jaja češća je starijih nesilica (Jones i sur., 2002). Nesenje jaja u komercijalnim brojlerskim jatima i starost nesilica nisu u korelaciji s prodiranjem *S. Typhimurium* kroz ljusku i kompleks membrana (Berrang i sur., 1998). Utvrđeno je da nesilice koje su doživjele stres (premještanje iz podnog načina u kaveze, vakcinacija) nesu jaja s promijenjenom strukturom ljuske, pa se to preporuča kao indikator stresa u nesilica (Roberts i Brackpool, 1994).

Poroznost

Procjenjuje se da ljuska jajeta ima 7 000 – 17 000 pora, ali su one nepo-

vezane i začahurene s organskim materijalom - kutikulom (Board, 1980). Iako jaje ima intaktnu kutikulu, ono ima najmanje 10 - 20 pora koje su ipak propusne. Te nepokrivene pore mogu biti mjesto ulaska za bakterije čime dolazi do kontaminacije sadržaja jaja (Board i Tranter, 1995). Ipak, pore su u kontekstu ulaska mikroorganizama u sadržaj jajeta od sekundarne važnosti u odnosu na strukturalne defekte (Solomon, 1997). Nadalje, bakterijsko prodiranje značajnije je na tupom dijelu jajeta u odnosu na vrh jajeta zbog veće poroznosti (Haigh i Betts, 1991). Broj pora se povećava sa starosti nesilice, no istraživanja pokazuju da broj pora nije u korelaciji s prolaskom bakterija kroz ljusku (Nascimento i sur., 1992; De Reu i sur., 2004; 2006).

Oštećenje ljuske

Jaja slomljene ljuske su podložnija kolonizaciji bakterijom *Campylobacter jejuni* i to na defektnim mjestima (Allen i Griffiths, 2001). Učestala prodiranja *S. Enteritidis* su primijećena i kod napuknutih dijelova ljuske koja su bila ispunjena agarom. Integritet ljuske može biti ugrožen uslijed okolišnih čimbenika, kao što je stupanj rashlađivanja. Mikroskopske pukotine uslijed naglog rashlađivanja mogu uzrokovati porast i povećati ulazak *S. Enteritidis* (Fajarado i sur., 1995), no Thompson i sur. (2000) te Chen i sur. (2002) smatraju drugačije.

Membrane

U početnom stadiju kontaminacije pri horizontalnom prijenosu bakterijske su stanice smještene između ljuske jajeta i membrana, što je dokazano pomoću osvijetljenih stanica *S. Enteritidis* (Chen i sur., 1996). Membrane djeluju kao filter i predstavljaju samo trenutnu barijeru kod prolaska bakterija u unutrašnjost jajeta (Berrang i sur., 1999a). Jones i sur. (2002) smatraju da je *P. fluorescens* primarni onečišćivač jaja te je sposobniji kontaminirati jaje kroz membrane nego *S. Enteritidis*. Unutrašnja mem-

brana pokazuje znakovitu otpornost prema bakterijskom prolasku, a to joj omogućuje unutrašnja površina koja je obavijena limitirajućom membranom (Board i Tranter, 1995). Prolazak kroz unutrašnju membranu u unutrašnjost jajeta proučena je pomoću inokulacije u zračnu komoricu (Clay i Board, 1991; 1992). Rast u bjelanjku je utvrđen kod pohrane na 25°C, ali ne i na 4°C ili 10 °C (Clay i Board, 1992). Na 25°C *S. Enteritidis* je ulazila kroz unutrašnju membranu. Brzina i obujam kontaminacije ovisili su o veličini inokuluma te o mjestu kontaminacije žumanjka. Pohrana sa zračnom komoricom okrenutom prema gore, davala je veću incidenciju u odnosu na kontaminaciju kada je zračna komorica bila okrenuta prema dolje. Ta karakteristika žumanjka da se pomiče utječe na kontaminaciju zračne komorice, što je imalo za posljedicu raspadanje unutrašnjih struktura jajeta (Clay i Board, 1991). Schoeni i sur. (1995) su primijetili da se nakon potapanja u otopinu koja sadrži *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* ili *S. Heidelberg* otprilike polovica jajčanih membrana kontaminira nakon 3 dana pri pohrani na 25°C. Sadržaj jajeta bio je kontaminiran bez obzira što su membrane bile intaktne. Kada je kroz ljusku inokulirana *S. Enteritidis*, jaja naglo ohlađena na 7,2°C i uskladištena na 30 dana, stanice su ostale zatočene u porama ljuske ili u membranama jajeta.

Umjesto zaključka

Konzumna jaja čest su uzrok bakterijskih otrovanja ljudi, ponajprije bakterijama roda *Salmonella*. Kroz ljusku jajeta mogu prodrijeti različite vrste bakterija, između ostaloga i *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. Najvažniji vanjski čimbenici koji utječu na prijenos bakterija kroz ljusku su: bakterijski soj, razlika u temperaturi, vlaga, broj prisutnih bakterija, te uvjeti skladištenja, a unutrašnji čimbenik oštećenja na ljusci (napukline, povećana poroznost). Infekcija jajeta može također nastati i prije

stvaranja ljuske. Sve to ide u prilog važnosti provođenja preventivnih mjera na farmama nesilica i održavanja jata slobodnima od bakterijskih uzročnika bolesti (npr. „salmonella free“ uzgoj), kao i provođenja dobre higijenske prakse u svim fazama proizvodnje i prometa konzumnih jaja. Osim uz zdravstvenu ispravnost, takvi postupci povezani su i s održivosti jaja na tržištu pa imaju i ekonomski značaj. Istraživanja su danas usmjerena na produženje održivosti jaja što uključuje primjenu plinova, otopina ili biološke konzervanse.

* Rad je izvadak iz diplomskog rada Ivone Trpčić: Mikrobiološka kakvoća i ocjena svježine konzumnih jaja. Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zavod za higijenu i tehnologiju animalnih namirnica. Zagreb, 2010. (mentor: prof. dr. sc. Lidija Kozačinski; komentor: dr. sc. Nevijo Zdolec)

Literatura

- Allen, K. J., M.W. Griffiths** (2001): Use of luminescent *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 to assess eggshell colonization and penetration in fresh and retail eggs. *J. Food Protect.* 64, 2058-2062.
- Anderson, K.E., F.T. Jones. L. Guo, P.A. Curtis** (1995): Penetration and recovery of bacteria on inoculated shell eggs among different genetic strains. *Poultry Sci.* 74, 169.
- Anonimno (2006.): Pravilnik o kakvoći jaja, Narodne novine 115/2006.
- Baker, R.C.** (1990): Survival of *Salmonella enteritidis* on and in shelled eggs, liquid eggs and cooked egg products. *Dairy, Food and Environmental Sanitation* 10, 273-275.
- Berrang, M.E., J.F. Frank, R.J. Buhr, J.S. Bailey, N.A. Cox, J. Mauldin** (1998): Eggshell characteristics and penetration by *Salmonella* through the productive life of a broiler breeder flock. *Poultry Sci.* 77, 1446-1450.
- Berrang, M.E., N.A. Cox, J.F. Frank, R.J. Buhr** (1999a): Bacterial penetration of the egg shell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review. *J. Appl. Poultry Res.* 8, 499-504.
- Bichler, L.A., K.V. Nagaraja, D.A. Halvorson** (1996): *Salmonella enteritidis* in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. *Am. J.*

Vet. Res. 57, 489-495.

Board, P.A., R.G. Board (1967): A method of studying bacterial penetration of the shell of the hen's egg. *Laboratory Practice* 16, 471-472, 482.

Board, R.G. (1980): The avian eggshell-a resistant network. *J. Appl. Bacteriol.* 48, 303-313.

Board, R.G., N.A. HALLS (1973): The cuticle: a barrier to liquid and particle penetration of the shell of hen's egg. *Br. Poult. Sci.* 14, 69-97.

Board, R.G., S. Loseby, V.R. Miles (1979): A note on microbial growth on hen egg-shells. *British Poultry Sci.* 20, 413-420.

Board, R.G., H.S. Tranter (1995): The microbiology of eggs. U: Stadelman W.J. and Cotterill O.J. *Egg Science and Tehnology*. The Haworth PPress, London, pp. 81-104.

Braun, P., K. Fehlhaber, A. Wickie (1999): *Salmonella enteridis* invades the egg through the shell. *World Poultry Special*, 23-24.

Bruce, J., E.M. Drysdale (1994): Trans-shell transmission. U: Board R.G, Fuller R., (ur.), *Microbiology of the Avian Egg*. Chapman&Hall, London, pp. 63-91.

Bryan, F.L., M.P. Doyle (1995): Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *J. Food Protect.* 58, 326-344.

Cavitte, J.C. (2003): Present and future control of food-borne pathogens in poultry; revision of the European Community legislation on zoonoses. U: Slavav G. i Protais J. (ur.), *Proceedings of the XVth Eurpean Symposium on the Quality of Poultry Meat & Xth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*. Saint-Brieuc, Proufragan, France, September 23-26, 2003, Volume 1, pp. 46-58.

Chen, H., R. Ananthswaran, S. Knabel (2002): Effects of rapid cooling of shell eggs on microcrack development, penetration of *Salmonella enteritidis*, and eggshell strength. *Journal of Food Processing and Preservation* 26, 57-73.

Chen, J., R.C. Clarke, M.W. Griffiths (1996): Use of luminescent strains of *Salmonella enteritidis* to monitor contamination and survival in eggs. *J. Food Protect.* 59, 915-921.

Chen, J., M.W. Griffiths (1996): Luminescent *Salmonella* strains as real time reporters of growth and recovery from sublethal injury in food. *Int. J. Food Microbiol.* 31, 27-43.

Clay, C.E., R.G. Board (1991): Growth of *Salmonella enteritidis* in artificially contaminated hens shell eggs. *Epidemiol. Infect.* 106, 271-281.

Clay, C.E., R.G. Board (1992): Effect of faecal extract on the growth of *Salmonella enteritidis* in

artificially contaminated hen's eggs. *Br. Poult. Sci.* 33, 755-760.

Cogan, T.A., F. Jorgensen, H.M. Lappin-Scott, C.E. Benson, M.J. Woodward, T.J. Humphrey (2004): Flagella and curli fimbriae are important for the growth of *Salmonella enterica* serovars in hen eggs. *Microbiology* 150, 1063-1071.

Cox, N.A., B.H. Davis, A.B. Watss, A.R. Colmer (1973): *Salmonella* in the laying hen. 1. *Salmonella* recovery from viscera, feces and eggs following oral inoculation. *Poultry Sci.* 52, 661-666.

Curtis, P. (2007): Microbiological challenges of poultry egg production in the US. *World Poultry Sci. J.* 63, 301-307.

Davies, R.H., M. Breslin (2003): Investigation of *Salmonella* contamination and disinfection in farm egg-packing plants. *J. Appl. Microbiol.* 94, 191-196.

De Reu, K., K. Grijspeerdt, W. Messens, M. Heyndrickx, M. Uyttendaele, L. Herman (2004): Assessment of the eggshell penetration by different bacteria, including *Salmonella* Enteritidis, isolated from the egg contents of consumption eggs. U: *Proceedings of the XXIIth World's Poultry Congress*. Istanbul, Turkey, pp. 367.

De Reu, K., K. Grijspeerdt, W. Messens, M. Heyndrickx, M. Uyttendaele, J. Debevere, L. Herman (2006): Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *Food Microbiol.* 112, 253-260.

Ernst, R., L. Fuqua, H.P. Riemann, S. Himat-hongkham (1998): Effects of sweating on shell penetration of *Salmonella enteritidis*. *J. Appl. Poultry Res.* 7, 81-84.

Fajardo, T.A., R.C. Ananthswaran, V.M. Puri, S.J. Knabel (1995): Penetration of *Salmonella enteritidis* into eggs subjected to rapid cooling. *J. Food Protect.* 58, 473-477.

Gast, R.K., C.W. Beard (1990): Production of *Salmonella enteritidis*-contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Dis.* 34, 438-446.

Hadžiosmanović M., Ž. Pavičić (1998.): Higijena namirnica animalnog podrijetla. Udžbenik za 4. razred veterinarskih škola, 124-125.

Haigh, T., W.B. Betts (1991): Microbial barrier properties of hen egg shells. *Microbios* 68, 137-146.

Hegedušić, V., S. Rimac (1998.): Konzerviranje jaja i proizvoda od jaja. U: Živković R., V. Oberiter, M. Hadžiosmanović (ur.), *Jaja i meso peradi*

u prehrani i dijetetici; 135-146.

Imberechts, H., K. Dierick (2004): Report on zoonotic agents in Belgium in 2002, pp. 65. *Veterinary and Agrochemical Research Centre-Scientific Institute of Public Health.*

Jones, F.T., D.V. Rives, J.B. Carey (1995): *Salmonella* contamination in commercial eggs and an egg production facility. *Poultry Sci.* 74, 753-757.

Jones D.R., K.E. Anderson, P.A. Curtis, F.T. Jones (2002): Microbial contamination in inoculated shell eggs: I. Effects of layer strain and hen age. *Poultry Sci.* 81, 715-720.

Kaić Rak, A., K. Antonić Degač (1998.): Prehrambena vrijednost jaja peradi. U: Živković R., V. Oberiter, M. Hadžiosmanović (ur.), *Jaja i meso peradi u prehrani i dijetetici*, 31-34.

Lin, C-T.J., R.A. Morales, K. Ralston (1997): Raw and undercooked eggs: danger of salmonellosis. *Food Safety* 20, 27-32.

Maver, H., D. Matasović (1998): Zdravstvena ispravnost, prehrambena i tržišna vrijednost jaja. U: Živković R., V. Oberiter, M. Hadžiosmanović (ur.), *Jaja i meso peradi u prehrani i dijetetici*, 35-41.

Mayes, F.J., M.A. Takeballi (1983): Microbial contamination of the hen's egg: a review. *J. Food Protect.* 46, 1092-1098.

Miyamoto, T., T. Horie, E. Baba, K. Sasai, T. Fukata, A. Arakawa (1998): *Salmonella* penetration through eggshell associated with freshness of laid eggs and refrigeration. *J. Food Protect.* 61, 350-353.

Nascimento, V.P., S. Cranstoun, S.E. Solomon (1992): Relationship between shell structure and movement of *Salmonella enteritidis* across the eggshell wall. *Br. Poult. Sci.* 33, 37-48.

Nascimento, V.P., S.E. Solomon (1991): The transfer of bacteria (*Salmonella enteritidis*) across the eggshell wall of eggs as poor quality. *Animal Technology* 42, 157-165.

Padron, M. (1990): *Salmonella typhimurium* penetration through the eggshell of hatching eggs. *Avian Dis.* 34, 463-465.

Perales, I., A. Audicana (1989): The role of hen's eggs in outbreaks of salmonellosis in north Spain. *Int. J. Food Microbiol.* 8, 175-180.

Radkowski, M. (2002): Effects of moisture and temperature on survival of *Salmonella enteritidis* on shell eggs. *Archiv für Geflügelkunde* 66, 119-123.

Rizk, S.S., J.C. Ayres, A.A. Kraft (1966): Effects of holding condition on the development of *Salmonellae* in artificially inoculated hen's

Microbiological quality and freshness grade of table eggs

Summary

The purpose of this paper was to demonstrate the factors of microbiological quality and sustainability of table eggs. Microflora of eggs consists of many bacterial species, but salmonella is the most relevant for public-health. Generally, bacterial pollution of egg content appears in two ways: through the shell (pores, damages) or before the shell is made. Eggs have different natural defense mechanisms or structures which prevent bacterial break in from the environment, but ability of defense significantly depends on extrinsic conditions (humidity, temperature oscillations, damages, etc.). The duration of sustainability of the eggs is related to initial contamination, production hygiene, harvesting, packing and microclimatic conditions. But we must also take into consideration the primary factors of production which are the most responsible for the total quality of eggs- genetics, feeding, welfare, zoohygienic conditions, health of flock. Because of all that, the production of eggs in the context of microbiological validity and higher sustainability must be based on integrated farming and control in the framework of good farming, veterinary, hygienic and manufacturing practice.

Key words: eggs, microbiological validity, sustainability

Mikrobiološka kvaliteta i ocjena svježine konzumnih jaja

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war, die Faktoren der mikrobiologischen Qualität und die Haltbarkeit von Konsumeiern darzustellen. Die Mikroflora der Eier besteht aus zahlreichen Bakterienarten, jedoch sind in erster Linie die Salmonellen von öffentlicher gesundheitlicher Wichtigkeit. Im Allgemeinen entstehen bakteriologische Verunreinigungen des Eihaltens auf zwei Weisen: durch die Eierschale (Poren, Beschädigungen) oder vor der Bildung der Schale. Die Eier haben verschiedene natürliche Schutzmechanismen und Strukturen, durch die sie das Eindringen der Bakterien aus der Umgebung verhindern. Die Fähigkeit des Schutzes hängt jedoch von äußerlichen Bedingungen ab (Feuchtigkeit, Temperaturschwankungen, Beschädigungen u.a.). Die Dauer der Eierhaltbarkeit ist direkt verbunden mit der Initialbeschädigung, Erzeugungshygiene, Sammeln, Packen und mikroklimatischen Bedingungen. Neben dem schon Erwähnten darf man nicht die Faktoren aus der primären Erzeugung vernachlässigen, die letztendlich zu der gesamten Eierqualität – Genetik, Fütterung, Wohlergehen, zoohygienischen Bedingungen und der Eiergesundheit beibringen. Deshalb muss die Erzeugung von Konsumeiern im Kontext der biologischen Richtigkeit und einer größeren Haltbarkeit auf einer integrierten Zucht und Kontrolle im Rahmen der guten landwirtschaftlichen, veterinärischen, hygienischen und herstellerischen Praxis, gründen.

Schlüsselwörter: Eier, mikrobiologische Qualität, Haltbarkeit

Qualità microbiologica e valutazione di freschezza delle uova da consumo

Sommario

Lo scopo di questo lavoro era rivelare i fattori di qualità microbiologica e la resistenza delle uova da consumo. La microflora di uova consiste in molti tipi di batteri, ma l'importanza per la salute pubblica hanno soprattutto le salmonelle. In generale, l'inquinamento batterico del contenuto di un uovo succede in due modi: per il guscio (pori, danneggiamenti) o prima di creazione del guscio. Le uova hanno vari meccanismi di difesa naturali e le strutture con le quali ostacolano l'entrata di batteri dai dintorni, ma la capacità di difesa dipende notevolmente dalle condizioni esterne (umidità, oscillazioni di temperatura, danneggiamenti ecc.). La durata di resistenza delle uova è collegata direttamente con l'inquinamento iniziale, igiene di produzione, raccoglimento e confezionamento e le condizioni microclimatiche. Ma bisogna ricordarsi anche dei fattori della produzione primaria che tutto sommato attribuiscono di più la qualità di uova – genetica, alimentazione, beneficienza, condizioni zooigieniche, salute di stormo. Per tutto ciò la produzione delle uova da consumo nel contesto di sicurezza microbiologica, e la resistenza maggiore di uova devono per forza basarsi su un allevamento integrato e con un controllo che sottintende una buona prassi di agricoltura, veterinaria, igiene e produzione.

Parole chiave: uova, qualità microbiologica, resistenza

eggs. Poultry Sci. 45, 825-829.

Roberts, J.R., C.E. Brackpool (1994): The ultrastructure of the avian egg shells. Poultry Science Reviews 5, 245-272.

Sauter, E.A., C.F. Petersen (1974): The effect of egg shell quality on penetration by various salmonellae. Poultry Sci. 53, 2159-2162.

Schoeni, J.L., K.A. Glass, J.L. Mcdermott, A.C. Wong (1995): Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* in eggs. Int. J. Food Microbiol. 24, 385-396.

Simmons, E.R., J.C. Ayres, A.A. Kraft (1970): Effects of moisture and temperature on ability of *Salmonellae* to infect shell eggs. Poultry Sci. 49, 761-768.

Solomon, S.E. (1997): Egg & eggshell quality.

Iowa State University Press. Iowa, USA, pp. 149.

Sooncharenying, S., H.M. Edwards (1989): Modelling the relationships of egg weight, specific gravity, shell calcium and shell thickness. Br. Poult. Sci. 30, 623-631.

Sparks, N.H., R.G. Board (1985): Bacterial penetration of the recently oviposited shell of hen's eggs. Aust. Vet. J. 62, 169-170.

Theron, P., Venter, J.F.R. Lues (2003): Bacterial growth on chicken eggs in various storage environments. Food Res. Int. 36, 969-975.

Thompson, J.F., J. Knutson, R.A. Ernst, D. Kuney, H. Riemann, S. Himathongkham, G. Zeidler (2000): Rapid cooling of shell eggs. J. Appl. Poult. Res. 9, 258-268.

Wang, H., M.F. Slavik (1998): Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals

and stored at different temperatures and times. J. Food Protect. 61, 276-279.

WHO (2001): World Health Organisation surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe. Seventh report, 1993-1998. U: Schmidt K. Tirado C. (ur.). Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary medicine (BgVV), Berlin, Germany, pp. 415, 422-423.

Wong Liang, J., J. Frank, S. Bailey (1997): Visualization of eggshell membranes and their interaction with *Salmonella enteritidis* using confocal scanning laser microscopy. J. Food Protect. 60, 1022-10

Dostavljeno: 10. kolovoza 2010.
Prihvaćeno: 7. rujna 2010.