Cairo University

Faculty of Veterinary Medicine

Department of Microbiology

Name: Hala Ahmed Mahmoud Amer

Nationality: Egyptian.

Specification degree: Ph.D. degree.

Title of thesis: "Microbiological studies on respiratory affections in camels."

Supervisors:

Prof. Dr. Kamelia Mahmoud Osman

Professor and Head of Microbiology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University

Dr. Mona Ibrahim El-Enbaawy

Assistant Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University

Dr. Zeinab Mohammad El-Said

Emeritus Chief Researcher of Microbiology, Animal Health Research Institute, Dokki

ABSTRACT

In this study the role played by *P. aeruginosa, C. perfringens,* Mycoplasma species in respiratory affection in camels was evaluated. Bacteriological examination of the samples revealed 14 isolates of *P. aeruginosa* (6.36%), *C. perfringens* type A was 20% from the lung and Mycoplasma species 16.10% from the lung. Serological identification and virulence tests of *P. aeruginosa* were detected in this study. Biogrouping characterization and serological identification of mycoplasma isolated were determined. Characterization of *P. aeruginosa* enterotoxin and *C. perfringens* type A toxin isolated from lungs of diseased camels was detected by 10% SDS- PAGE. The protein profile of the Mycoplasma and Acholoplasma species isolated from camels suffering from contagious pneumonia was detected. The PCR amplification of *Mycoplasma bovis* was also detected using agarose gell and ethydium bromide staining.

جامعة القاهرة

كلية الطب البيطرى

قسم الميكروبيولوجيا

الاسم: هاله أحمد محمود عامر

الجنسية: مصرية

الدرجة: دكتوراة الفلسفة فى العلوم الطبية البيطرية

التخصص: ميكروبيولوجيا (بكتريولوجيا – أمينولوجيا- ميكولوجيا)

عنوان الرسالة: دراسات ميكروبيولوجية على الإصابات التنفسية فى الجمال

تحت أشراف :

أ.د. كاميليا محمود عثمان

أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجيا– كلية الطب البيطرى – جامعة القاهرة.

د. منى ابراهيم الانبعاوى

أستاذ الميكروبيولوجيا المساعد– كلية الطب البيطرى – جامعة القاهرة.

د. زينب محمد السيد

رئيس بحوث الميكروبيولوجيا المتفرغ– معهد بحوث صحة الحيوان بالدقى

المستخلص العربى

تم فى هذه الدراسة تقييم دور كل من البكتيريا الاتية السودوموناس إيروجينوزا والكلوستريديم بيرفرنجيز نوع أ وفصائل الميكوبلازما المرضية فى الاصابات التنفسية فى الجمال. وكانت نتائج الفحص البكتريولوجى للعينات لمعزولات السودوموناس ايرجينوزا بنسبة ٦,٣٦% ووجد أن أعلى نسبة للميكروبات اللاهوائية المتحوصلة الإجبارية خاصة ميكروب الكلوستريديوم بيرفرنجنز نوع أ كانت بنسبة ٢٥% فى الرئة. كما وجد أن أعلى نسبة لميكروبات الميكوبلازما المرضية كانت ١٦,١% عترة من الرئة. تم اجراء التصنيف السيرولوجى و اختبارات الضراوة لميكروب السودوموناس ايروجينوزا. تم ايضا إجراء التصنيف البيوكيميائى والسيرولوجى لعترات الميكوبلازما المعزولة من كل من القصبة الهوائية والرئه كما تم إجراء التحليل الكهروكيميائى لستة عينات من سموم الانتيروتوكسين لكل من السودوموناس ايروجينوزا و الكلوستريديوم بيرفرنجنز نوع أ المعزولة من الجمال المريضة تنفسيا باستخدام إس دى إس الاختبار الصورى. و تم إجراء التحليل الكهرومغناطيسى للبروتين الخلوى لعترات الميكوبلازما والاكولييلازما. كما تم اجراء اختبار انزيم التفاعل المتسلسل لعترات الميكوبلازما بوفيز باستخدام الآجاروز جيل وصبغة الايثيديوم بروميد.

CONTENTS

Subject	Page
1. INTRODUCTION	1
2. REVIEW OF LITERATURE	5
2.1. Isolation of aerobic and facultative anaerobic bacteria causing respiratory infection in camels	5
2.2. Isolation of obligatory anaerobic bacteria from camels	13
2.3. Isolation of Mycoplasma species from camels	13
2.4. Serotyping of Pseudomonas aeruginosa	15
2.5. Virulence factors of *P. aeruginosa*	15
2.6. SDS-PAGE electrophoretic characterization of the *P. aeruginosa* toxins	17
2.7. SDS-PAGE Electrophoretic pattern of *C. perfringens* toxin type A	18
2.8. SDS- PAGE electrophoretic characterization of the protein of Mycoplasma strains	19
2.9. Polymerase chain reaction (PCR technique) for diagnosis of *M. bovis*	21
3. MATERIALS AND METHODS	24
3.1. Materials	24
3.1.1.Samples	24
3.1.2. Materials used for isolation of bacterial species	25
3.1.3. Chemicals and buffers used for SDS PAGE	33
3.1.4. Buffers and solution for polymerase chain reaction (PCR)	36
3.1.5. Biological materials used	39
3.1.6. Laboratory animals	40
3.1.7. Equipments and apparatuses	41
3.2. Methods	43
3.2.1. Methods of isolation and identification of aerobic isolates	43

Subject	Page
3.2.2. Methods for isolation and identification of anaerobic bacteria	46
3.2.3. Methods of isolation and identification of *Mycoplasma* species	50
3.2.4. Serotyping of *P. aeruginosa* recovered from trachea and lungs of pneumonic samples	52
3.2.5. Detection of virulence factors of *P. aeruginosa* isolates	52
3.2.6. Detection of toxigenic isolates of *C. perfringens*	55
3.2.7. Typing of the toxigenic *C. perfringens* isolates	56
3.2.8. Biogrouping and serogrouping of Mycoplasma species	59
3.2.9. SDS-PAGE electrophoresis	60
3.2.10. Protein banding by SDS-PAGE	62
3.2.11. Polymerase chain reaction for diagnosis of M. bovis	64
3.2.12. Polymerase chain reaction (PCR) DNA amplification procedure	66
4. RESULTS	68
5. DISCUSSION	135
6. SUMMARY	150
7. REFERENCES	155
- ARABIC SUMMARY	--