Name: **HANAN IBRAHIM MAHMOUD MOHAMED**
Nationality: Egyptian
Birth date: 14/10/1972, Giza
Degree: Ph.D. Degree in Veterinary Medical Science
Specification: (Bacteriology – Mycology - Immunology)
Supervisors:

- **Prof. Dr. Fawzy Riyad El-Seedy**
- **Prof. Dr. Ismail Abdel Hafez Radwan**
- **Prof. Dr. Elham Atta El-Ebiary**

Thesis Title:

"Immunological Studies on Salmonella and Bovine Viral Diarrhoea Vaccines in Cattle"

Abstract

A combined inactivated S. Typhimurium, S. Dublin and BVDV vaccine was prepared and evaluated for sterility, safety, potency and immunogenicity. The prepared inactivated combined vaccine immunogenicity vaccine was investigated in calves in comparison with bivalent inactivated S. Typhimurium – S. Dublin vaccine and monovalent inactivated BVDV vaccine with and without inoculation of levamisole as immunostimulant. It was found that combined inactivated S. Typhimurium, S. Dublin and BVDV vaccine was free from bacterial, fungal and mycoplasma contaminants, safe for mice and calves. In potency test in mice, the combined inactivated vaccine gave protection percentage 90% when virulent S. Typhimurium 2656V was used in challenge test but was 80% when virulent S. Dublin 2656V was used for challenge. For immunogenicity tests, best results obtained in calves group immunized with combined inactivated S. Typhimurium, S. Dublin and BVDV vaccine and inoculated with levamisole that maximum serum agglutinating antibody titre was 1/5120, maximum ELISA antibody titre was 9.51 and maximum serum neutralizing antibody titre was 512.

الاسم : حنان إبراهيم محمود محمد
الجنسية : مصرية
تاريخ الميلاد : ١٤/١٠/١٩٧٢، الجيزة
الدرجة : دكتوراه الفلسفة فى العلوم الطبية البيطرية
التخصص : (بكتريولوجيا – امينولوجيا – ميكولوجيا)
المشرفون : أ.د/ فوزى رياض الصعيدى
أ.د/ اسماعيل عبد الحفيظ رضوان
أ.د./ الهام عطا الإبيارى

عنوان الرسالة :

دراسات مناعية على لقاحات السالمونيلا وفيروس الإسهال البقرى فى الماشية

المستخلص

تم تحضير لقاح مركب مثبط مكون من السالمونيلا تيفيموريم، السالمونيلا دبلن وفيروس الاسهال البقرى كما تم تقييم اللقاح باستخدام اختبارات النقاوة والأمان والصد والقوة المناعية. كما تم دراسة القوة المناعية للقاح المركب المثبط الذى تم تحضيره فى العجول بالمقارنة باللقاح الثنائى المثبط المكون من السالمونيلا تيفيموريم و السالمونيلا دبلن واللقاح الأحادى المثبط المكون من فيروس الاسهال البقرى مع وبدون حقن الليفاميزول كمنشط مناعى. وقد وجد أن اللقاح المثبط المكون من السالمونيلا تيفيموريم و السالمونيلا دبلن وفيروس الاسهال البقرى خالى من الملوثات البكتيرية والفطرية والميكوبلازما. كما وجد أن اللقاح آمن فى الاستخدام للفئران المعملية والعجول. أما بالنسبة لاختبار الصد فى الفئران وجد أن اللقاح المركب المثبط حقن بنسبة صد ٩٠% عند استخدام العترة الضارية سالمونيلا تيفيموريم ٢٦٥٦ ف فى اختبار التحدى بينما نسبة الصد كانت ٨٠% عند استخدام العترة الضارية سالمونيلا دبلن ٢٥٦٥ ف فى اختبار التحدى. وفى اختبارات القوة المناعية للقاح أفضل النتائج تم الحصول عليها فى مجموعة العجول المحصنة باللقاح المثبط المركب المكون من السالمونيلا تيفيموريم، السالمونيلا دبلن وفيروس الإسهال البقرى والمحقونة بالليفاميزول كمنشط مناعى حيث كان أعلى مستوى للاجسام المناعية المتلزنة ١/٥١٢٠ وأعلى مستوى للاجسام المناعية فى اختبار الاليزا ٩,٥١ وأعلى مستوى للاجسام المناعية فى اختبار التعادل المصلى ٥١٢.

List of Contents

List of table
List of abbreviation abbreviation

		Page
1. INTRODUCTION	.....	1
2. REVIEW OF LITERATURE	.....	4
2.1. *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Dublin as enteropathogens for cattle	.....	4
2.2. Bovine viral diarrhoea (BVDV) as enteropathogen for cattle	.....	8
2.3. Relation between salmonella species and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) as enteropathogens for cattle	.....	15
2.4. Salmonella vaccines	.....	18
2.5. Immune response to salmonella vaccines	.....	30
2.6. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) vaccines	.....	46
2.7. Immune response to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) vaccines	.....	54
3. MATERIAL AND METHODS	.....	61
3.1. Materials	.....	61
3.1.1. Bacterial strains	.....	61
3.1.2. Viral strains	.....	61
3.1.3. Media	.....	62
3.1.4. Tissue culture cells for propagation and preparation of BVDV vaccine	.....	64
3.1.5. Biological reagents	.....	64

		Page
3.1.6. Solutions and chemical reagents	.....	65
3.1.7. Plates	.....	67
3.1.8. Experimental animals	.....	70
3.1.9. Samples	.....	70
3.2. Methods.	.....	71
3.2.1. Preparation of bivalent inactivated S. Typhimurium – S. Dublin vaccine	.....	72
3.2.2. Preparation of inactivated BVD vaccine	.....	77
3.2.3. Preparation of combined inactivated S. Typhimurium, S. Dublin and BVD vaccine	.....	77
3.2.4. Evaluation of the prepared combined inactivated S. Typhimurium, S. Dublin and BVDV vaccine	.....	78
3.2.5. Immunogenicity of the prepared combined inactivated S. Typhimurium, S. Dublin and BVDV in calves	.....	80
3.2.6. Effect of levamisole on the immune response of calves to combined inactivated S. Typhimurium, S. Dublin and BVD vaccine	.....	81
3.2.7. Effect of levamisole on the immune response of calves to bivalent inactivated S. Typhimurium – S. Dublin vaccine	.....	81
3.2.8. Monitoring and evaluation of the immune response of vaccinated calves to combined S. Dublin, S. Typhimurium and BVDV vaccine and bivalent S. Dublin-S. Typhimurium vaccine	.....	82

		Page
Experimental Design	.....	87
4. RESULTS	.....	90
5. DISCUSSION	.....	142
6. SUMMARY	.....	154
7. REFERENCES	.....	156
ARABIC SUMMARY		

List of Abbreviation

BEI	:	*Binary Ethyleneimine*
BVDV	:	*Bovine Viral Diarrhoea Virus*
CFU	:	*Colony Forming Unit*
ELISA	:	*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
I/M	:	*Intramuscular*
IgG	:	*Immunoglobulin – G*
IgM	:	*Immunoglobulin – M*
LPS	:	*Lipopolysaccharide*
MDBK	:	*Madin Darby Bovine Kidney cells*
MEM	:	*Minimal Essential Medium*
PBS	:	*Phosphate Buffer Saline*
S. Dublin	:	*Salmonella Dublin*
S. Typhimurium	:	*Salmonella Typhimurium*
S/C	:	*Subcutaneous*
SAT	:	*Serum Agglutination Test*
SNT	:	*Serum Neutralization Test*
S-S Agar	:	*Salmonella – Shigella agar*
XLD agar	:	*Xylose Lysine Deoxycholate agar*