Cairo University

Faculty of Veterinary Medicine

Department of Microbiology

Name: **Nourhan Nagy Mohammad Abu Al-Ainain**

Title: **Studies on salmonellae isolated from chickens**

Degree: **Master Degree of Veterinary Science (M.V.Sc.)**

Specialization: **Microbiology (Bacteriology – Immunology- Mycology)**

Supervisors:

Prof. Dr. Jakeen Kamal Abdel Halim El- Jakee

Prof. of Microbiology

Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University

Dr. Hamed Mahmoud Hammam

Chief Researcher

Central laboratory for Control of Veterinary Biologics

Abbasia, Cairo, Egypt

Abstract

This investigation was carried on 4 standard strains (S. Enteritidis, *S.* Gallinarum, *S.* Pullorum and *S.* Typhimurium) and 6 local isolates (*S.* Anatum "2 isolates", *S.* Enteritidis "2 isolates", *S.* Meliagridis "1 isolate" and *S.* Typhimurium "1 isolate") collected from chickens. The present study was investigate the potency of examined salmonellae to produce toxin by using suckling mice assay and Vero cell assay. Electron microscope examination was carried out among *S.* Typhimurium and *S.* Enteritidis local isolates and the results were discussed Sensitivity test against 12 different antimicrobial discs revealed that salmonellae were highly sensitive to chloramphenicol, lincospectin and norfloxacin, meanwhile they were highly resistant to streptomycin, neomycin and doxycillin. Plasmid profile analysis of examined salmonellae revealed a common plasmid of molecular weight of 23130 base pair. Outer membrane profile of examined salmonellae showed a similarity between them in the presence of major protein of molecular weight of 37.6 kDa and the results were discussed.

عة القاهرة
ة الطب البيطرى
م الميكروبيولوجى

م الباحثة: **نورهان ناجى محمد أبو العينين**

وان الرسالة: **دراسات عن السالمونيلا المعزولة فى الدجاج**

رجة العلمية: ماجستير فى العلوم الطبية البيطرية

خصص: ميكروبيولوجى

شرفون:

./ جاكين كمال عبد الحليم الجاكى

اذ الميكروبيولوجيا-كلية الطب البيطرى-جامعة القاهرة

/ حامد محمود همام

س بحوث-المعمل المركزى للرقابة على المستحضرات الحيوية البيطرية-العباسية-القاهرة

المستخلص العربى

تمت هذه الدراسة على أربع عترات قياسية (سالمونيلا إنتريتيديس، سالمونيلا بلورم، سالمونيلا يوريوم، سالمونيلا جالينيرم) و٦ معزولات معزولة من الدواجن (سالمونيلا اناتم "معزولتين"، سالمونيلا يتيدس "معزولتين"، سالمونيلا تيفيميوريوم "معزولة واحدة"، سالمونيلا ميلياجريدس "معزولة واحدة"). وقد تم سة قدرة هذه العترات على إفراز السموم وذلك بحقنها فى معدة الفئران الرضع وكذلك فى خلايا الفيرو. ناً تم فحص عترتى السالمونيلا تيفيميوريوم والسالمونيلا إنتريتيديس بالمجهر الألكترونى. وتم اختبار سية العترات للمضادات الحيوية والسلفا وأثبتت النتائج أن جميع العترات شديدة الحساسية لكل من رامفينيكول واللينكوسبكتين والنورفلوكساسين بينما كانت شديدة المقاومة للإستربتومايسين والنيومايسين كسيسيلين. وكذلك تم فصل بلازميدات هذه العترات وقد أظهر تحليل البلازميد وجود بلازميد مشترك لهذه رات وله وزن جزيئى ٢٣١٣٠ بيزبير. وبتحليل بروتين الغلاف الخارجى للعترات أوضحت النتائج وجود تين مشترك له وزن جزيئى يكافئ ٣٧,٦ كيلو دالتون وقد نوقشت النتائج بالتفصيل.

List of contents

1.	**Introduction**	1
2.	**Review of literature**	
2.1.	Incidence and serotyping of salmonellae among chickens	4
2.2.	Identification of *salmonella* species	12
2.3.	Virulence attributes among salmonellae	17
2.4.	Electron microscope examination of salmonellae	22
2.5.	Antibiogram studies among salmonellae	24
2.6.	Plasmid profile analysis of *Salmonella*	28
2.7.	Analysis of *Salmonella* outer membrane protein	32
3.	**Material and methods**	36
3.1.	**Material**	36
3.1.1.	Salmonellae used	36
3.1.2.	Media used	36
3.1.3.	Chemicals and reagents	40
3.1.4.	Stains used	41
3.1.5.	Diagnostic *Salmonella* antisera	41
3.1.6.	Laboratory animals	41
3.1.7.	Cell used	42
3.1.8.	Material used for electron microscope examination	42
3.1.9.	Antimicrobial sensitivity discs	42
3.1.10.	Material used for plasmid profile analysis	43
3.1.11.	Material used for preparation and separation of outer membrane protein	45
3.1.12.	Chemicals and solutions used for SDS-PAGE	45
3.1.13	Other materials and equipments	47
3.2.	Methods	49
3.2.1.	Confirmation of salmonellae	49
3.2.1.1.	Morphological examination	49
3.2.1.2.	Motility examination	49
3.2.1.3.	Biochemical identification	49

3.2.1.4.	Serological identification of salmonellae	52
3.2.2.	Detection of *Salmonella* toxins	52
3.2.2.1.	Enterotoxin detection test	52
3.2.2.2.	Assay for Vero cell cytotoxicity	53
3.2.3.	Electron microscope examination	54
3.2.4.	Sensitivity test for *Salmonella* isolates	56
3.2.5.	Plasmid profile analysis of salmonellae	58
3.2.6.	OMP profile analysis of salmonellae	60
4.	**Result**	63
5.	**Discussion**	98
6.	**Summary**	112
7.	**References**	114
8.	**Arabic summary**	