ABSTRACT

Fourteen selected isolates of salmonella obtained from Kalubia and Giza governorates which isolated from chicken (5 isolates), chicken eggs (1 isolates), duck (3 isolates), duck eggs (3 isolates) and (2 isolates) from turkey origin. These isolates were characterized by phenotypic and genotypic methods. The serotyping revealed typical salmonella serovars: *Salmonella rubislaw, Salmonella poona, Salmonella typhimurium, Salmonella Virginia, Salmonella enteritidis, Salmonella montevideo* and *Salmonella sandiago.* The antibiotic sensitivity test revealed that 78.6%, 71.4%, 64.3%, 57% and 50% of the isolates were sensitive to (ciprofloxacin and sulphamethaxazone-trimethoprim), (norfloxacin and ofloxacin), gentamycin, ampicillin and chloramphenicol respectively. While 100%, 71.4% and 57% of the isolates were resistant to flucloxacillin, amoxicillin and tetracycline respectively. Whole cell protein analysis using SDS-PAGE of different salmonella strains revealed about 18 protein bands ranged from 16-289.5 KDa but the differences were insufficient for differentiation between the isolates. Salmonella isolates showed a degree of variation in plasmid number from 1 plasmid up to 8 plasmid and molecular size from 2121 upto 22864 bp. Only one isolate of *S.rubislaw* have a plasmid of (22864 bp), while 71.4% of the isolates had plasmid of (16904 bp) that showed the highest incidence of antimicrobial resistance which may probably contributes for high resistance showed by these isolates. Also, different plasmids with variable molecular size from 2121 upto 15804 bp were observed in other salmonella isolates. Random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR) analysis was carried out on salmonella isolates by using five random primers. We couldn't use primer (1) and (4) as serotype-specific primers in differentiation between salmonella strains, while primers (2), (3) and (5) can be used as serotype-specific primers in differentiation between salmonella isolates.

Key words: Salmonella, SDS-PAGE, plasmid analysis, RAPD-PCR, random primers.

المستخلص العربي

تم إختبار عدد أربعة عشر عزلة من ميكروب السالمونيلا المعزولة من الدجاج (٥ عزلات) وبيض الدجاج (عزلة واحدة) والبط (٣ عزلات) وبيض البط (٣ عزلات) والرومي (عزلتان) من محافظتي القليوبية والجيزة بالطرق الظاهرية والجينية. أوضحت الدراسة نتيجة التصنيف السيرولوجي للعزلات أنها تنتمى إلي سبعة انواع من السالمونيلا وهى السالمونيلا روبسلو والسالمونيلا بونا والسالمونيلا تيفيموريم والسالمونيلا فرجينيا والسالمونيلا انتريتيدس والسالمونيلا مونتفيديو والسالمونيلا ساندیجو. تم عمل إختبار الحساسية بإستخدام عشرة مضادات حيوية مختلفة وقد وجد أن ٧٨,٦% و ٧١,٤% و ٦٤,٣% و ٥٧% و ٥٠% من العزلات كانت حساسة لكل من السيبروفلوكساسين والسلفاميثاكزازول-ترايميثوبريم والنوروفلوكساسين والأوفلوكساسين والجنتاميسين والأمبيسلين والكلورامفنيكول على الترتيب وأظهرت بعض العزلات مقاومة لكل من الفلوكلوكساسين والأموكساسلين والتتراسيكلين بنسب ١٠٠% و ٧١,٤% و ٥٧% تباعاً. تم عمل التحليل الكلي للبروتين لعزلات السالمونيلا المختلفة بإستخدام SDS-PAGE والتي بينت وجود أنماط بروتينية متشابهة في عينات السالمونيلا المعزولة. أوضحت الدراسة وجود فروق بين عزلات السالمونيلا في أعداد البلازميدات المعزولة منها (من ١ إلى ٨ بلازميدات) وبأوزان جزيئية مختلفة (من ٢١٢١ إلى ٢٢٨٦٤) ، ووجد أن عزلة واحدة من السالمونيلا روبيسلو تم عزل البلازميد ذو الوزن الجزيئي ٢٢٨٦٤ منها، بينما تم عزل البلازميد ذو الوزن الجزيئي ١٦٩٠٤ من ٧١,٤% من العزلات والتي أظهرت نسبة مقاومة مرتفعة للمضادات الحيوية المستخدمة مما قد يشير إلى إحتمال أن يكون هذا البلازميد يشفر لبعض المقاومة لهذه المضادات الحيوية وقد تم أيضاً عزل عدة بلازميدات يتراوح وزنها الجزيئي (من ٢١٢١ إلى ١٥٨٠٤) من بعض العزلات الأخرى. تم عمل تفاعل التكبير العشوائي للحامض النووي (RAPD-PCR) بإستخدام خمس بادئات عشوائية على عزلات السالمونيلا ووجد أن البادئات (١) و (٤) لا يمكن إستخدامهم كبادئات خاص للتفرقة بين عزلات السالمونيلا المختلفة بينما يمكن إستخدام البادئات العشوائية (٢) و (٣) و (٥) في التفرقة بين عزلات السالمونيلا.

Contents

	Page
Abstract	--
Introduction	1
Aim of the Work	4
Literatur Review	5
Occurrence of salmonella in poultry	5
Antibiogram studies among salmonellae	12
Genotyping based on whole cell protein profile analysis by SDS-PAGE	19
Genotyping based on plasmid profile analysis	24
Genotyping based on polymerase chain reaction (PCR)	32
Materials and methods	41
Materials	41
Salmonella isolates	41
Media used	41

Contents(Cont..)

Page

Media used for cultivation and identification of salmonella 41

Media used for biochemical identification of salmonella 42

Media used for antibiogram assay for salmonella 42

Media used for Plasmid and Genomic DNA preparation 43

Chemicals and Reagents 43

Gram's Stain 44

Diagnostic salmonella antisera 44

Antimicrobial sensitivity discs 44

Materials used for protein analysis by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) 45

Materials used for plasmid profile analysis 47

Contents(Cont..)

Page

Materials used for genomic DNA extraction..... 49

Materials and reagents for Random Amplified Polymorphism DNA polymerase Chain Reaction (RAPD-PCR) 50

Materials used for detection of PCR product 51

Other materials and equipments 52

Methods 53

Colonial Morphology 53

Microscopical examination 54

Motility test 54

Biochemical examination 54

Serological identification of salmonella..... 57

Sensitivity test for salmonella isolates 58

Contents(Cont..)

Page

Protein profile analysis by SDS-PAGE..... 59

Plasmid profile analysis..... 61

Extraction of salmonella genome 64

Polymerase chain reaction assay 67

Agarose gel electrophoresis..... 69

Results 71

Discussion 100

Conclusion..... 119

Summary 120

References 125

Arabic summary ..... --