

Hauptanliegen der Arbeit war es, einen Überblick über das Vorkommen von *Cl. perfringens* und dessen Enterotoxin, sowie von *Cl. difficile* im Darminhalt von Pferden zu bekommen. Der Vergleich der Ergebnisse klinisch gesunder Pferde mit denen von Tieren mit Darmerkrankungen diente dazu, die Bedeutung der beiden Keimarten im Enteropathiegeschehen bei Pferden besser interpretieren zu können.

Einhundert Kotproben klinisch gesunder Pferde verschiedener Altersgruppen und unterschiedlicher Fütterung, 50 Kotproben von Pferden, die eine mit Diarrhö einhergehende Enteropathie aufwiesen, acht Caecuminhaltproben von zwei klinisch gesunden Pferden, die Fütterungsversuchen mit unterschiedlichen Stärkearten und -rationen unterzogen wurden, sowie Dünn- und/oder Dickdarm von 25 verendeten Pferden, die eine Darmerkrankung gezeigt hatten, standen für die Untersuchungen zur Verfügung. Ferner sollte in zwei, an vier klinisch gesunden Ponys durchgeführten Fütterungsversuchen, die mit regelmäßigen Kotprobenentnahmen einhergingen, der Einfluß der Aminosäuren Lysin und Methionin auf die Vermehrung von *Cl. perfringens* und die Bildung seines Enterotoxins untersucht werden.

Der Nachweis der Erreger umfaßte die kulturelle Isolierung, sowie die mikroskopische, biochemische und gaschromatographische Identifizierung. Für den Nachweis des *Cl. perfringens* Typ A-Enterotoxins kam ein auf Reverser Passiver Latex-Agglutination basierender Test zur Anwendung.

Die Nachweishäufigkeit für *Cl. perfringens* betrug bei klinisch gesunden Pferden 22 %, bei Pferden mit Diarrhö 32 %, wobei der Erreger in zwei Kotproben von Pferden mit Diarrhö in einer Keimzahl von 10^6 KbE/g Faeces isoliert werden konnte, während in allen anderen Fällen die Keimgehalte bei $<10^2$ KbE/g Kot lagen. Das Vorkommen von *Cl. perfringens* bei klinisch gesunden Pferden war altersunabhängig. Bei ausschließlich mit Grassilage gefütterten Tieren konnte ein Anstieg der Nachweishäufigkeit

des Erregers festgestellt werden. Im Dünn- bzw. Dickdarminhalt der verendeten Pferde konnte *Cl. perfringens* in 52 % der Fälle nachgewiesen werden, davon dreimal in einem geringgradigen, bei zehn Tieren in einem mittelgradigen Keimgehalt. Aus dem Caecuminhalt der klinisch gesunden Ponys wurde der Keim in keinem Fall isoliert. Im Rahmen der beiden Fütterungsversuche blieb der kulturelle Nachweis von *Cl. perfringens* entweder negativ, oder aber der Keim wurde in Konzentrationen von $<10^2$ KbE/g Kot isoliert, wobei das Vorkommen des Erregers in diesen Keimgehalten nicht im Zusammenhang mit der Gabe der Aminosäuren stand.

Cl. perfringens-Enterotoxin wurde in einer von 36 Kotproben von Pferden mit Diarrhö nachgewiesen.

Der Nachweis von *Cl. difficile* blieb in allen 20 untersuchten Kotproben von Pferden mit Diarrhö, sowie in den Darminhaltproben von neun verendeten Tieren negativ.

54 aus dem Untersuchungsmaterial isolierte *Cl. perfringens*-Stämme, drei Referenzstämme, sowie ein als negative Kontrolle dienender Stamm wurden nach Anzüchtung auf dem Sporulationsmedium nach Phillips auf ihre Fähigkeit zu Sporenbildung und Enterotoxinsynthese geprüft. Erstere erfolgte bei den isolierten Stämmen in 98 % der Fälle, wobei der Versporungsgrad 1-53 % im Durchschnitt 19 %, nach zweifacher Hitzeaktivierung 21-79 % durchschnittlich 43 % betrug.

Der Enterotoxinnachweis über das Sporulationsmedium verlief bei allen isolierten *Cl. perfringens*-Stämmen negativ, während die drei Referenzstämme dieses Toxin bildeten.

Aus den eigenen Untersuchungen ergaben sich keine Hinweise auf eine mögliche pathogene Bedeutung von enterotoxinbildenden *Cl. perfringens*-Stämmen, sowie von *Cl. difficile* im Enteropathiegeschehen bei Pferden.

6 S U M M A R Y

Investigations about the occurrence of enterotoxin producing *Clostridium perfringens* strains and *Clostridium difficile* in the intestinal tract of horses

The main object of this treatise was to gain a knowledge of the occurrence of *Cl. perfringens*, its enterotoxin and of *Cl. difficile* in the intestinal content of horses. In order to be able to interpret better the importance of these two bacteria for the development of enteropathy, the results obtained from clinically healthy horses were compared to those from horses with intestinal diseases.

The following samples were available for examination: 100 samples of faeces from clinically healthy horses of different age groups and feeding habits, 50 samples of faeces from horses suffering from enteropathy accompanied by diarrhoea, 8 samples of the caecum contents of two clinically healthy horses on feeding experiments with different kinds and rations of starch, and finally, small and/or large intestine from 25 horses that died after an intestinal disease. Furthermore, the influence of the amino acids lysine and methionine over the proliferation of *Cl. perfringens* and the production of its enterotoxin was to be examined during two feeding experiments. These were conducted on four clinically healthy ponys from which faecal samples were taken regularly throughout the experiments.

Detection of the bacteria consisted of cultural isolation and identification by means of microscopy, biochemistry and gas-liquid-chromatography. A test based on reversed passive latex agglutination was used to detect the enterotoxin of *Cl. perfringens* type A.

The frequency with which *Cl. perfringens* was detected was 22 % in clinically healthy horses and 32 % in horses with diarrhoea.

In two faecal samples from the latter, the microbial count of *Cl. perfringens* was 10^6 cfu/g faeces, whereas in all other cases the microbial counts were less than 10^2 cfu/g faeces. The occurrence of *Cl. perfringens* in clinically healthy horses was not influenced by age. In animals fed exclusively on grass silage, *Cl. perfringens* was found more frequently. In the content of the small and large intestines of the horses that died, *Cl. perfringens* was identified in 52 % of the samples. Three of these had a low microbial count and ten a middle one. The microorganism was not isolated at all from the caecum contents of the clinically healthy ponys. During the two feeding experiments, cultural detection of *Cl. perfringens* was either impossible, or else the bacterium was isolated in concentrations of $<10^2$ cfu/g faeces. Hereby the occurrence of the microorganism in these counts was unconnected with the feeding of amino acids.

The enterotoxin of *Cl. perfringens* was identified in one of 36 faecal samples from horses with diarrhoea.

Cl. difficile could not be isolated either from 20 faecal samples from horses with diarrhoea, or from intestinal samples taken from 9 animals that died.

54 *Cl. perfringens* strains isolated from material examined, three reference strains and one negative control strain were examined for their ability to sporulate and to produce enterotoxin after growing in sporulation medium of Phillips.

Of the isolated strains, 98 % formed spores; the degree of sporulation was 1-53 %, mean value 19 %. After being twice activated by heat, the degree of sporulation was 21-79 %, mean value 43 %.

Identification of enterotoxin via the sporulation medium was not possible in any of the isolated strains, whereas the three reference strains produced enterotoxin.

The results of these investigations do not suggest any pathogenic relevance of enterotoxin producing *Cl. perfringens* strains or of *Cl. difficile* to the development of enteropathy in horses.