

Anliegen dieser Arbeit war es, einen Beitrag zur Aufklärung der Ätiologie von Enteropathien unter besonderer Berücksichtigung der Typhlokolitis der Pferde zu leisten. Aus diesem Grunde wurde im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen der Frage nachgegangen, ob potentiell enteropathogene Clostridienarten, insbesondere *Cl. difficile* bei Pferden mit Darmerkrankungen, regelmäßig im Dickdarm bzw. Kot der Patienten anzutreffen sind. Zusätzlich wurde auch das Vorkommen von Salmonellen berücksichtigt.

Für die Untersuchungen standen insgesamt 51 Proben von Pferden, die an einer Enteropathie erkrankt waren, zur Verfügung. Das Probenmaterial wurde drei Gruppen zugeordnet. Gruppe I enthielt Zäkuminhaltsproben von 24 Pferden, die aufgrund einer Kolik in einer Klinik stationär aufgenommen worden waren. Gruppe II umfaßte Zäkum- und Koloninhalt von 16 Pferden, bei denen der Verdacht auf das Vorliegen einer Typhlokolitis bestand. Die Gruppe III enthielt 11 Kotproben von Pferden, die an einer Diarrhoe litten.

Die durchgeführten Untersuchungen waren auf den qualitativen Nachweis von Clostridien im Probenmaterial ausgerichtet. Die weitere Differenzierung der kulturell isolierten Clostridien-Stämme erfolgte durch mikroskopische, biochemische und gaschromatographische Untersuchung. Die *Cl. difficile*-Stämme wurden einer Resistenzprüfung unterzogen. Der Nachweis von *Cl. difficile*-Toxin A und B im Probenmaterial fand mittels ELISA statt. Sämtliche aus dem Probenmaterial isolierten *Cl. difficile*-, *Cl. cadaveris*-, *Cl. sordellii*-, *Cl. glycolicum*-, *Cl. sp. X*- sowie einige *Cl. perfringens*-Stämme wurden im Zellkulturtest mit VERO-Zellen vergleichend auf die Bildung von Zytotoxinen geprüft.

In der Gruppe I konnte *Cl. difficile* in 16,7%, *Cl. perfringens* in 66,7%, *Cl. cadaveris* in 8,3% und *Cl. sordellii* in 20,8% der Proben nachgewiesen werden. Bei einem Tier dieser Gruppe wurde *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* isoliert.

In einer Probe der Gruppe I, in der bereits *Cl. difficile* kulturell isoliert worden war, war gleichzeitig *Cl. difficile*-Toxin nachweisbar. Die Nachweishäufigkeit für Clostridien mit möglicher enteropathogener Bedeutung lag in der Gruppe II für *Cl. difficile* bei 31,2%, für *Cl. perfringens* bei 93,7%, für *Cl. cadaveris* bei 18,7% und für *Cl. sordellii* bei 12,5%. Aus drei Proben dieser Gruppe wurde *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* isoliert. *Cl. difficile*-Toxin war im Untersuchungsmaterial von zwei Pferden nachweisbar, gleichzeitig war bei diesen Tieren *Cl. difficile* isoliert worden. In den Kotproben der Gruppe III ergab sich eine Nachweishäufigkeit für *Cl. difficile* von 36,7% sowie für *Cl. perfringens* von 54,5%. *Cl. cadaveris*, *Cl. sordellii* und *Salmonellen* waren bei diesen Pferden nicht nachweisbar. Im Kot eines Tieres der Gruppe III wurde *Cl. difficile* kulturell und gleichzeitig das Toxin mittels ELISA nachgewiesen. Bei zwei Pferden, je einem Tier aus den Gruppen I und II, lag eine Mischinfektion von *Cl. difficile* und *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* vor. Im Zäkuminhalt dieser Tiere konnte zusätzlich *Cl. difficile*-Toxin nachgewiesen werden.

Die erzielten Ergebnisse lassen erkennen, daß Pferde mit Darmerkrankungen ein vielfältiges Spektrum an verschiedenen Clostridienarten beherbergen. Im Vergleich zu den von anderen Autoren bei klinisch gesunden Pferden erhobenen Befunden ist hierbei die Häufigkeit des Vorkommens und das gleichzeitige Auftreten zahlreicher Clostridienpezies hervorzuheben. Unter dem Einfluß prädisponierender Faktoren ist somit stets die Möglichkeit der ursächlichen Beteiligung am Krankheitsverlauf für enteropathogene Clostridien gegeben. Dies scheint vor allem für *Cl. difficile* zuzutreffen. Bei vier Pferden, von denen zwei Tiere an einer Typhlokolitis erkrankt waren, konnten im Untersuchungsmaterial neben dem Erreger auch gleichzeitig die Toxine von *Cl. difficile* nachgewiesen werden, so daß dieser Clostridienart im Komplex der Enteropathien, insbesondere der Typhlokolitis, eine ursächliche Bedeutung zugemessen werden muß.

Verspohl, Jutta: Investigations into the occurrence of clostridia in the intestinal tract of horses with special reference to *Clostridium difficile*.

The aim of this study was to contribute to the understanding of the aetiology of enteric diseases, especially typhlocolitis, in horses. Since various clostridia, in particular *Clostridium* (*C.*) *difficile*, are suspected of being potentially enteropathogenic, it seemed of interest whether these clostridia are regularly encountered in the intestinal contents or faeces of horses with intestinal diseases. In addition the occurrence of salmonellae was recorded.

A total of 51 specimens from horses suffering from intestinal diseases were available for this investigation. The samples were classified in three groups. Group I consisted of caecal samples from 24 horses hospitalised with colic symptoms. Group II comprised samples from the caecum or colon of 16 horses suspected of suffering from typhlocolitis. Group III included 11 faecal samples from horses with diarrhoea.

For best isolation rates samples were examined by direct culture as well as after selective enrichment using different spore selection techniques (heat, alcohol) and various enrichment media. The isolated clostridia were differentiated by their microscopic, biochemical and gaschromatographic characteristics. Only *C. difficile* isolates were tested for their susceptibility to metronidazol and vancomycin. Native samples of intestinal contents or faeces were screened for *C. difficile*-toxin with a commercially available EIA. All isolates of *C. difficile*, *C. cadaveris*, *C. sordellii*, *C. glycolicum*, *C. sp. X* as well as some of the *C. perfringens* strains were examined for their ability to produce cytotoxins detectable in a cell culture assay with VERO cells.

From samples of group I-horses *C. perfringens* was isolated most frequently among the potentially enteropathogenic clostridia (66.7% of the samples). *C. sordellii* could be

found in 20.8% of these specimens and *C. difficile* in 16.7% of them. Only 8.3% of these horses contained *C. cadaveris* in their caecum. One animal of this group also harboured *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen*. *C. difficile*-toxin could be detected in one sample from which also the organism itself had been isolated.

Almost all samples from horses in group II (93.7%) contained *C. perfringens*. *C. difficile* could be isolated with a higher frequency (31.2%) than in group I. Isolation rates for *C. cadaveris* were 18.7% and for *C. sordellii* 12.5%. In addition, *S. typhimurium* var. *copenhagen* was isolated from three samples. Intestinal contents from two horses with evidence of *C. difficile* also was positive for the toxin of this clostridium.

Clostridia could be demonstrated less frequently in the faecal samples from horses of group III. *C. perfringens* could be isolated from 54.5% of these specimens whereas *C. sordellii* and *C. cadaveris* could not be isolated at all. *C. difficile*, however, could be identified in as many as 36.7% of these samples. In one of the samples positive for *C. difficile* its toxin could be demonstrated, too. None of the horses had salmonellae in their faeces.

It is noteworthy that one horse from group I and one from group II harboured *C. difficile* and *S. typhimurium* var. *copenhagen* at the same time. Caecal contents of these two animals also was positive for *C. difficile*-toxin.

Compared with healthy horses as investigated and described by other authors the results of this study indicate that horses with intestinal diseases harbour increased amounts and a greater variety of different clostridia. Thus there is a great potential for at least some of these clostridia to participate in the pathologic changes associated with intestinal diseases, in particular with typhlocolitis. This seems to be especially true for *C. difficile*, since this clostridium could be demonstrated along with its cytotoxins in four horses, two of which were suffering from typhlocolitis.