

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde in Fütterungsversuchen mit sechs Hunden der Einfluß einer unterschiedlichen Proteinaufnahme (Ration Rp+: 63,3 % Rp i. TS, überwiegend bindegewebsreiche Produkte tierischer Herkunft, Ration Rp-: 21,9 % Rp i. TS, überwiegend pflanzlicher Herkunft) auf das Vorkommen und die Enterotoxinsynthese von *Cl. perfringens* Typ A untersucht. Weiterhin wurden die Keimzahlen von Streptokokken, Laktobazillen und Bifidobakterien als Vertreter der autochthonen Flora und einige Stoffwechselprodukte der Mikroflora (Ammoniak, flüchtige Fettsäuren, Wasserstoff) im Darmkanal von Hunden untersucht (1. Versuchsabschnitt). Des Weiteren erfolgte eine orale Infektion der Hunde mit einem enterotoxinbildenden *Cl. perfringens*-Stamm bei unterschiedlicher Fütterung (s. o.; 2. Versuchsabschnitt) sowie ca. zwei Monate später die Überprüfung der Persistenz der Infektion (3. Versuchsabschnitt). Abschließend wurde versucht, den Infektionsstamm mit Hilfe einer oralen Antibiose mit Metronidazol (50 mg/kg KM/Tag) über fünf Tage zu eliminieren (4. Versuchsabschnitt).

In sämtlichen der insgesamt 103 untersuchten Kotproben der Hunde konnte *Cl. perfringens* in Keimzahlen zwischen $10^2,9$ und $10^{10,1}$ /g nachgewiesen werden. Bei Fütterung der Ration Rp+ lagen die Keimzahlen von *Cl. perfringens* um bis zu vier Zehnerpotenzen höher als nach Verabreichung des proteinärmeren Futters, gleichzeitig wurden die Fäzes der Hunde schmierig-breilig bis weich geformt. Bifidobakterien wurden nur in insgesamt vier von 48 untersuchten Kotproben in Keimzahlen zwischen $10^8,2$ und $10^9,3$ /g nachgewiesen. Streptokokken konnten aus sämtlichen Kotproben in Keimkonzentrationen zwischen $10^6,1$ und $10^{10,3}$ /g isoliert werden. Die Nachweishäufigkeit der Laktobazillen betrug 85,0 %, wobei sich die Keimzahlen in einem Bereich zwischen $10^3,9$ und $10^{10,2}$ /g bewegten, ohne daß auf diese Keimarten ein Einfluß durch die Fütterung beobachtet werden konnte.

Im ersten Versuchsabschnitt konnte *Cl. perfringens* Typ A-Enterotoxin nur nach Fütterung der Ration Rp+ in 3 von 24 (12,5 %) untersuchten Kotproben nachgewiesen werden. Im zweiten Versuchsabschnitt betrug die Nachweishäufigkeit des Enterotoxins in den Fäzes der mit Ration Rp+ gefütterten Hunde nach der Infektion mit einem enterotoxinbildenden *Cl. perfringens*-Stamm 83,3 %, bei den mit Rp- ernährten Tieren 55,6%. Ein Hund (Fütterung Ration Rp+) reagierte etwa 15 Stunden nach der Infektion mit passagerer flüssig-schleimiger Diarrhoe. Die anderen mit Ration Rp+ ernährten Tiere hatten während der gesamten Versuchsperiode schmierig-breilige bis weich geformte Fäzes. Die mit Ration Rp- gefütterten Hunde hatten trotz

teilweise relativ hoher Enterotoxintiter (bis 1:2048) in der gesamten Versuchsperiode geformte Fäzes

In den beiden ersten Versuchsabschnitten waren nach Fütterung von Ration Rp+ höhere pH-Werte und Ammoniakkonzentrationen sowie ein Anstieg des postprandial ausgeschiedenen Wasserstoffs zu beobachten. Der prozentuale Anteil der Propionsäure am Spektrum der flüchtigen Fettsäuren in den Fäzes wurde geringer, während die Anteile der I-Buttersäure, der I- und der N-Valeriansäure zunahmen. Die Infektion mit einem enterotoxinbildenden Cl. perfringens-Stamm wirkte sich nicht auf diese Parameter aus

Etwa zwei Monate nach der oralen Infektion konnte Enterotoxin bei Verabreichung des proteinreichen Futtermittels in 91,7 % der Kotproben nachgewiesen werden, während die Nachweishäufigkeit nach Fütterung der proteinreduzierten Ration nur 33,3 % betrug, womit sich eine Persistenz des enterotoxinbildenden Cl. perfringens-Stammes im Darmkanal der Hunde abzeichnete

Nach einer antibiotischen Behandlung mit Metronidazol wurde in 8 von 12 (66,6 %) Kotproben der behandelten Hunde Enterotoxin nachgewiesen, so daß es bei Fütterung von Ration Rp+ nicht zu einer Eliminierung der enterotoxinbildenden Cl. perfringens-Stämme gekommen war.

Als Schlußfolgerung ist festzustellen, daß eine unausgewogene proteinreiche Fütterung nicht nur zu einer Zunahme der Cl. perfringens-Keimzahlen im Darmkanal, sondern auch zu einer höheren Enterotoxinbildung führt. Eine derartige Ernährung führt zu einer Disposition für die Entstehung von Verdauungsstörungen bzw. Diarrhoen, an denen bereits im Darmkanal vorhandene oder exogen zugeführte enterotoxinbildende Cl. perfringens-Stämmen beteiligt sein können

6. SUMMARY

van der Steen, Iris: Studies on the influence of diet on the occurrence of *Clostridium perfringens* and its enterotoxin in the intestinal tract of dogs

In feeding experiments with six dogs the influence of diets with different protein content (diet Rp+: 63,3 % crude protein/DM, mainly slaughter offalls, diet Rp-: 21,9 % crude protein/DM, predominatly vegetable origin) on the occurrence of *Cl. perfringens* type A and the production of enterotoxin by this clostridial species was studied. In addition the indigenous bacterial flora was evaluated by counting streptococci, lactobacilli and bifidobacteria. Moreover some products of the microbial metabolism (ammonia, volatile fatty acids, hydrogen) were analysed (1st experimental period). In a second step the dogs were infected with a strain of *Cl. perfringens* known to produce enterotoxin. Again they were fed with either a diet high or low in protein (see above). In order to see whether the infection with the toxigenic strain of *Cl. perfringens* had persisted it was tried to induce enterotoxin production by putting the dogs on experimental diet again after they had been back on a standard diet for more than two month (3rd experimental period). Finally the dogs associated with the enterotoxin producing strain were orally treated with metronidazol (50 mg/kg BW/day) for a period of five days to see whether this strain could be eliminated again from the intestinal tract by means of antibiotics (4th experimental period).

Cl. perfringens was found in a total of 103 examined faecal specimens of dogs with bacterial counts of lg 2,9 - lg 10,1/g. When dogs were fed diet Rp+ bacterial counts of *Cl. perfringens* were up to four logs higher compared to the diet reduced in protein content (diet Rp-). The faeces of the dogs given Rp+ became wet or soft formed. Bifidobacteria were detected only in four of 48 faecal samples with bacterial counts of lg 8,2 - lg 9,3/g. Streptococci were isolated from all faeces samples with bacterial counts of lg 6,1 - lg 10,3/g. Lactobacilli occurred in most faecal specimens (85,0 %) with bacterial counts of lg 3,9 - lg 10,2/g. Dietary influences on these bacteria could not be noticed.

During the first experimental period the enterotoxin of *Cl. perfringens* type A was only detected after feeding Rp+. Three of 24 faecal samples (12,5 %) from this feeding group were positive. During the second experimental period enterotoxin could be found in 83,3 % of faecal samples from dogs fed Rp+ compared to 55,6 % of samples from dogs on diet Rp-. One dog (fed Rp+) showed transient mucous diarrhoea about 15 hours after infection with enterotoxin producing *Cl. perfringens*. The faeces of the other dogs of the Rp+ feeding group were wet or soft

formed during the whole experimental period. The faeces of the dogs with the low protein diet were formed in spite of occasional high enterotoxin titers (up to 1 2048)

During the first two experimental periods there were high pH-values, concentration of ammonia and an increase of postprandial hydrogen excretion after feeding diet Rp+. The proportion of propionic acid decreased whereas the relative amounts of i-butyric acid and i- and n-valeric acid increased. The oral infection with an enterotoxin producing strain of *Cl. perfringens* did not affect these parameters

About two month after the oral infection with the toxigenic *Cl. perfringens* enterotoxin could still be detected in 91,7 % of faecal samples if dogs were fed diet Rp+. When feeding the diet Rp- only 33,3 % of faecal samples were positive for enterotoxin. These results indicate a persistence of the enterotoxin producing *Cl. perfringens* strain. After antibiotic treatment with metronidazol enterotoxin was detectable in eight of twelve (66,6 %) faecal samples. Thus the enterotoxin producing strain presumably could not be cleared off only by means of antibiotics.

In conclusion these studies show, that feeding an unbalanced diet high in protein content sustains the growths of *Cl. perfringens* and may induce enterotoxin production by this clostridial species and thus may predispose dogs for indigestion or diarrhoea. Enterotoxin producing *Cl. perfringens* may be indigenous or may be acquired by exogenous infection especially in situations where dogs live close together.