



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Probiotika till häst

Fungerar det?

Probiotica in horse.
Does it work?

Julia Stenius

*Uppsala
2019*

Probiotika till häst. Fungerar det?

Probiotica in horse. Does it work?

Julia Stenius

Handledare: Erik Pelve, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet,
institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kursansvarig institution: Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Kurskod: EX0862

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Häst, mikrobiom, probiotika, foder.

Key words: Horse, equine, microbiota, probiotics, feed.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	4
Litteraturoversikt.....	4
<i>Hästens mikrobiom</i>	4
<i>Förändringar i mikrobiomet</i>	5
<i>Stress</i>	5
<i>Medicinering</i>	5
<i>Diet</i>	5
<i>Vad är probiotika?</i>	6
<i>Prebiotika</i>	7
<i>Kliniska evidens för effekten av probiotika</i>	8
<i>Enterokolit</i>	8
<i>Salmonellainfektion</i>	8
<i>Földiarré</i>	9
<i>Sandkolik</i>	10
<i>Fekal mikrobiell transplantation</i>	10
<i>Produktion, foderutnyttjande och foderbyte</i>	10
Diskussion	11
Litteraturförteckning	14

SAMMANFATTNING

Hästen är en herbivor vars naturliga diet till stor del består av gräs. För att kunna tillgodogöra sig strukturella kolhydrater är hästen helt beroende av mikrober, som i grovtarmen fermenterar cellulosa, hemicellulosa och pektin till lättupptagliga flyktiga fettsyror. Hästens mag-tarmkanal innehåller en mycket rik population mikroorganismer; virus, arkéer, svampar, parasiter och bakterier. I mikrobiomet är bakterier mest studerade och tros vara viktigast för att upprätthålla homeostas. Flera studier är överens om att *Firmicutes* är dominerande fylum men delade meningar råder om vilket som är näst största fylum, *Bacteroidetes* eller *Verrucomicrobia*. Stress, foderbyte, avvänjning och medicinering kan leda till dysbios i hästens mikrobiom. Om balansen mellan kommensaler och normalt ofarliga patogener förskjuts kan opportunistiska mikroorganismer proliferera med sjukdom som följd. Det är idag mycket vanligt att hästägare ger probiotika med syfte att återställa homeostas i mikrobiomet men frågan är om det fungerar. Syftet med denna uppsats är att redovisa aktuella kliniska evidens för effekten av probiotika till häst med avstamp i den pågående kartläggningen av hästens föränderliga mikrobiom.

Probiotika är enligt WHO "levande mikroorganismer som, när de administreras i adekvata mängder, ger en gynnsam hälsoeffekt". Syftet med att ge probiotika är att stimulera de bakteriepopulationer som främjar en god funktion i hästens gastrointestinala system, vilket kan förbättra hälsan och öka prestationen. Flera olika mikroorganismer, främst jäst och bakterier, används som probiotika.

Probiotika har visats kunna behandla bland annat infektiös diarré, antibiotika- och *C. difficile*-associerad diarré samt ulcerös kolit, irritable bowel syndrome (IBS) och inflammatorisk bowel disease (IBD) hos människa, men än så länge pekar studieresultaten på häst åt olika håll. Studier som undersökt hur probiotika påverkar enterokolit, salmonellos och utsöndring av *Salmonella spp.* redovisar varierande och motsägelsefulla resultat. Till skillnad från studier på vuxna hästar har två försök med probiotika till föl resultat i negativa konsekvenser och ökad risk för sjukdom. Det verkar finnas viss evidens för att tillskott av jäst ger bättre foderutnyttjande samt skydd mot stärkelseinducerade tarmstörningar. Studier på fekal mikrobiell transplantation visar att det framgångsrikt kan användas vid behandling av infektion med *C. difficile* på människa och det finns omfattande empirisk historik på häst men ännu inga kliniska studier.

I de probiotikastudier som gjorts på häst har man främst använt bakteriestammar som inte är vanligt förekommande i hästens grovtarm, utan stammar som utvärderats och använts på human- och smådjurssidan; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* och *Enterococci*. Dessa förekommer i främre delen av hästens gastrointestinala system. Bristen på resultat i försöken på häst skulle kunna härröras från detta faktum.

Behandling med probiotika är i allmänhet ansett som riskfritt, kostnadseffektivt och enkelt men med dagens evidensläge kan man inte rekommendera någon probiotika för behandling av sjukdom på häst. Mer forskning krävs och denna bör inrikta sig på att fortsätta kartlägga den friska hästens mikrobiom, dess förändringar vid sjukdom och hur kunskapen från humanvården kan överföras till häst på ett relevant sätt.

SUMMARY

The horse is a herbivore whose natural diet consists of grass. Largely dependent on hindgut microbes, the horse ferments structural carbohydrates to volatile fatty acids for energy. The gastrointestinal tract of the horse is populated by a rich microbiome, constituting of bacteria, viruses, archaea, fungi, and parasites. Of these, bacteria are most extensively studied and believed to be vital for homeostasis. Several studies agree *Firmicutes* to be the dominant phyla, but opinions differ on the runner up. Some studies state *Bacteroidetes* and other *Verrucomicrobia*. Stress, weaning, medication, and change of diet can lead to dysbiosis in the sensitive microbiome leading to an unbalance between commensal and normally unharmed pathogens. This change opens up for a proliferation of opportunistic microorganisms which could lead to gastrointestinal upset and illness. Horse owners commonly give probiotics to restore microbial homeostasis, but does it work? The aim of this study is to present the current clinical evidence for the effectivity of equine probiotics, taking off in the ongoing mapping of the interchangeable microbiome of the horse.

The World Health Organization (WHO) define probiotics as “live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host”. Probiotics are often utilized therapeutically to stimulate or re-establish beneficial bacterial populations, improving health and performance. Several microorganisms are tried and used as probiotics, but today commercial products mainly contain yeast and different species of bacteria.

Probiotics have been proven to treat infectious diarrhea, antibiotic-associated diarrhea, ulcerative colitis, irritable bowel syndrome (IBS) and inflammatory bowel disease (IBD) in humans but results from clinical studies on horses still point in different directions. Trials evaluating probiotics on enterocolitis, salmonellosis, and shedding of *Salmonella spp.* present various and contradictory results. Studies on adult horses have not shown any harmful side effects of probiotics as opposed to studies on foals where two clinical trials presented negative consequences and increased risk of disease. There seems to be some evidence for better feed conversion and protection from starch induced disruptions of the gut supplementing yeast. Studies on fecal microbial transplant show promising results in the treatment of recurrent *C. difficile* infections in humans and there is also an extensive empirical history of this treatment in horses but no clinical trials yet.

In the studies of administering probiotics to horses the selected species have mainly been the same ones used and tried on humans and small animals; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Enterococci*. These bacteria are mainly found in the equine front gut and are not abundant in the hindgut. The lack of results in the trials on horses could derive from this choice of microorganisms.

Probiotic treatment is generally considered safe, cost-effective and easy but with the present lack of clinical evidence of effectiveness on horses, no probiotic supplement can be recommended for treatment of equine disease. More research is warranted and should focus on the continuous mapping of the microbiome of the healthy horse and how knowledge from successful human probiotic treatment could be transferred to horses adequately.

INLEDNING

Den vilda hästen har sedan miljoner år levt i flock och ägnat majoriteten av dygnets timmar åt att långsam röra sig över stora ytor för att söka föda (Burla *et al.*, 2016). Den äter stora mängder växter med hög andel fiber och låg andel stärkelse (Daly *et al.*, 2012). Sedan ett par tusen år har människan domesticerat hästen och genom avel utvecklat arten i många avseenden; den moderna hästen är starkare, springer fortare och hoppar högre än sin anfader. Trots denna utveckling är hästens digestionssystem i princip oförändrat, men det vi utfodrar med idag är ofta långt ifrån hur den åt i det vilda (Daly *et al.*, 2012). Mängden grovfoder har minskat samtidigt som andelen spannmål och koncentrat har ökat. Resultatet är färre men mer energirika mål, kortare ät-tid samt ökat intag av stärkelse. (Jouany *et al.*, 2008)

Hästen är en grovtarmsjäsnare, vilket innebär att den får i sig upp till 75% sitt näringsbehov från att fermentera cellulosa, hemicellulosa och pektin till flyktiga fettsyror i cecum och kolon (Kern *et al.*, 1974). Denna foderomvandling sker inte med enzymer utan hästen är helt beroende av mikrober. Hästens mikrobiom består av virus, arkéer, svampar, parasiter och bakterier och varierar mycket utifrån hästens ålder, hälsostatus och levnadsmiljö. Bakterier tros vara viktigast för att upprätthålla homeostas i denna komplexa miljö (Chaucheyras-Durand & Durand, 2010).

Tarmfloran har under senare år studerats flitigt och man har visat att tarmbakterier kan orsaka, eller medverka till utveckling av bland annat allergier, inflammatoriska tarmsjukdomar, rektal cancer, diabetes och fetma (Goulet, 2015). Många faktorer kan leda till dysbios i hästens känsliga mikrobiom. Stress, foderbyte, avvänjning och medicinering kan göra att balansen mellan kommensaler och normalt ofarliga patogener i hästens mikrobiom förskjuts och opportunistiska mikroorganismer tillåts proliferera med sjukdom som följd (Costa *et al.*, 2012). En konsekvens av förändringar i denna mikroflora är en ökning av gastrointestinala störningar, så som kolik, vilket är den vanligaste orsaken till att hästar avlivas idag (Daly *et al.*, 2012).

Idag lägger de svenska hästägarna upp till 2,8 miljarder på tillskottsfoder och vitaminer (Samhällsekonomiska effekter av hästnäringen i Sverige, 2017). Detta vittnar om att det saluförs en mängd tillskott som sägs förbättra hästens hälsa och prestation och många av dessa beskrivs innehålla probiotika. Man använder probiotika till häst av två huvudsakliga anledningar; i profylaktiskt syfte, för att upprätthålla en hälsosam tarmfunktion samt åstadkomma ett bättre foderutnyttjande och som behandling vid olika sjukdomstillstånd, till exempel enterokolit, diarré och sandkolik (Barnhart, 2015).

Behandling med probiotika visar stor potential. Det är i allmänhet ansett som riskfritt, kostnadseffektivt och enkelt (Schoster, 2018) samt har visats kunna behandla sjukdom hos människa (Wilkins & Sequoia, 2017). Frågan är om den probiotika som säljs och ges till många hästar idag har någon effekt. Syftet med denna uppsats är att redovisa de kliniska evidens som finns till dags dato och det görs med avstamp i kartläggningen av hästens mikrobiom.

MATERIAL OCH METODER

Den här uppsatsen är en litteraturstudie, som syftar till att sammanfatta forskning och kunskap gällande pro- och prebiotiska preparat till hästar. Vid sökningen användes Pubmed, Sciencedirect, Google scholar samt Web of science. Sökorden som användes var "probiotic" och "prebiotic" i kombination med "horse", "microbiota", "digestion" och "hindgut". Mer specifika sökord som "yeast", "fermentation" och "lactobacillus" användes också. När studier på hästar saknats har "ruminant" och "ovine" använts. Dessutom har referenser i lästa artiklar nyttjats.

LITTERATURÖVERSIKT

Hästens mikrobiom

Hästen är en herbivor vars naturliga diet till stor del består av gräs. Födan är normalt energifattig och innehåller stor andel kolhydrater och mindre delar fett och protein. I tunntarmen spjälkas proteiner, lipider och icke-struktuella kolhydrater, så som stärkelse, av enzymer och mikroorganismer (Barnhart, 2015). För att kunna tillgodogöra sig strukturella kolhydrater är hästen helt beroende av mikrober, vilka i grovtarmen fermenterar cellulosa, hemicellulosa och pektin till flyktiga fettsyror (VFA). Denna process täcker normalt upp till 75% av hästens totala energibehov. Tarmfloran har även flera ytterligare uppgifter, så som laktat-nyttjande, proteolys samt amylos-digestion (Kern *et al.*, 1974). Den skyddar även mot överväxt av patogener, har en roll i tarmepitelets differentiering samt modulerar det lokala immunförsvaret (Costa & Weese, 2018).

Mikrobiomet i hästens mag-tarmkanal är mycket rikt och består av virus, arkéer, svampar, parasiter och bakterier. Bakterier är mest studerade och tros vara viktigast för att upprätthålla homeostas i denna komplexa miljö (Costa & Weese, 2018).

I en färsk artikel sammanfattar Costa & Weese (2018) 14 studier som har försökt definiera den friska hästens mikrobiom. Alla dessa författare, exempelvis Dougal *et al.*, (2013), O'Donnell *et al.*, (2013) och Almeida *et al.*, (2016), är överens om att *Firmicutes* är dominerande fylum, liksom hos de flesta däggdjur (Dougal *et al.*, 2013). Vissa hävdar däremot att *Bacteroidetes* är näst största population (Daly *et al.*, 2001; Costa *et al.*, 2012; O'Donnell *et al.*, 2013) medan andra har visat att fylum *Verrucomicrobia* är näst störst (Shepherd *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2016). I tidiga studier, när man använde odling som identifieringsteknik, konstaterades att 89% av de undersökta bakterierproven förblev oidentifierade (Daly *et al.*, 2001), men senare studier har kunnat kartlägga större delen av mikrobiomet och de allra senaste, som använder next-generation sequencing, har nu genererat mer detaljerad taxonomisk information (Costa & Weese, 2018). Flera studier har dock konstaterat att egenskaper som hästens levnadsplats, ålder, föda och hållningssätt gör det svårt att bestämma en enda normal mikrobiom-profil, utan man ser en mängd varierande sammansättningar i friska hästar (Venable *et al.*, 2016). För att bättre förstå mikrobiomet krävs dock mer specifika beskrivningar på lägre taxonomisk nivå (Al Jassim & Andrews, 2009).

Förändringar i mikrobiomet

Många faktorer kan leda till att balansen i hästens dynamiska mikrobiom förskjuts. Stress, foderbyte, avvänjning och medicinering (Willing *et al.*, 2009; Grønwald *et al.*, 2010; Lyte *et al.*, 2010; Mach *et al.*, 2017) har visats orsaka dysbios, vilket i vissa fall kan leda till sjukdom (Costa & Weese, 2012). Störningar i tarmfloran har associerats med sjukdomar som kolit, fång, ekvin grässluka och kolik (Garrett *et al.*, 2002; Milinovich *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2012; Weese *et al.*, 2014).

Stress

Orsaker till stress hos hästar kan vara transport, avvänjning och sjukdom (Barnhart, 2015). När en individ utsätts för psykologisk stress utsöndras stress-mediatorer så som noradrenalin. Lyte *et al.* (2010) visade att noradrenalin kunde orsaka förändringar i interaktionen mellan tarmmukosa och de kommensala tarmbakterierna. Följden blev ett förändrat koloniseringsmönster och sålunda en värd som var mer mottaglig för tarminfektion. I en något äldre pilotstudie av Boensma *et al.* (2006) transporterades sex ponnies i 3,5 timme, varvid man inte kunde se någon förändring i fekal konsistens eller pH. Däremot såg man signifikanta förändringar i hästarnas mikrobiella profiler.

Medicinering

Vid infektion, skada eller sjukdom är det vanligt att ge antibiotika och smärtlindring till hästar. Denna medicinering kan förändra tarmmiljön (McConnico *et al.*, 2008) och förskjuta homeostasen i mikrobiomet (Guardabassi *et al.*, 2008). De här förändringarna kan leda till diarré och att tarmen koloniserar av patogener (Barnhart, 2015). Exempelvis visade Frape (2010) ett samband mellan överanvändning av oxytetracykliner och kronisk diarré samt salmonellos hos hästar. Senare beskriver också Venable *et al.* (2016) liknande samband i en reviewartikel. Vid behandling med erythromycin, rifampicin, doxycyklin, enrofloxacin, och penicillin sågs en dysbios i den kommensala bakteriepopulationen, vilket tillät opportunistiska och naturligt resistenta bakterier, som *Clostridium difficile*, *C. perfringens* och *Salmonella spp.* att kolonisera kolon och cecum med kolit som följd (Gustafson, 2004; Barr *et al.*, 2013).

Anmärkningsvärt är dock att Costa & Weese (2018) i sin reviewartikel menar att flera nyligen publicerade studier har visat att majoriteten species i hästens grovtarm tillhör klassen *Clostridia* och mer specifikt *Clostridium spp.*, vilka tidigare endast associerats med patogenicitet. Nu har flera forskare alltså definierat dem som kommensala och i kliniska försök till och med återställt skadade humana mikrobiom med hjälp av *Clostridium spp.* (Petrof *et al.*, 2013). I samma artikel nämner Costa & Weese (2018) även att bakterier ur familjen *Lachnospiraceae* i klass *Clostridia* verkar helt utplånade i sjuka hästar men för att förstå vilken betydelse detta har krävs mer forskning.

Diet

Hästens digestionssystem är anpassat till att beta stora mängder foder med låg energi och högt fiberinnehåll under lång tid (Sjaastad *et al.*, 2016). I takt med domesticeringen har människan förändrat dess foderstat (Daly *et al.*, 2012). Mängden grovfoder har minskat samtidigt som

andelen spannmål och koncentrat har ökat. Resultatet är färre men mer energirika mål, kortare ät-tid samt ökat intag av stärkelse. En konsekvens av detta är en ökning av gastrointestinala störningar, så som kolik, vilket är den vanligaste orsaken till avlivning hos tama hästar (Daly *et al.*, 2012).

Hästens förmåga att spjälka stärkelse i tunntarmen är begränsad och vid stora givor passerar intakt stärkelse vidare till grovtarmen där det då snabbt produceras en stor mängd VFA. Trots att VFA lätt tas upp över tarmepitelet bildas ett överskott som sänker pH och missgynnar de cellulosanedbrytande mikroberna och istället främjar snabb tillväxt av laktat-producerande bakterier. Laktat absorberas långsamt i grovtarmen och istället sker en ackumulering, vilket kan leda till epitelskador. (Sjaastad *et al.*, 2016)

I en experimentell studie jämförde Daly *et al.* (2012) hästar som hölls på en stärkelsrik koncentrat-diet med hästar på en fiberrik gräs-diet. Vid byte från fiber- till stärkelsediet förändrades hästarnas mikrobiom signifikant. *Lachnospiraceae*, *Bacteriodes* och laktat-producerande *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus* ökade progressivt samtidigt som man såg en korresponderande sänkning av obligata fibrolytiska, syra-intoleranta *Fibrobacter* och *Ruminococcaceae*. I kolon hos hästarna på stärkelsediet visade man också på en avsevärt högre laktatkoncentration i korrelation med ökningen av laktatproducerande bakterier. Trots laktatökningen kunde man inte se någon förändring i laktat-nyttjande bakterier, *Veillonellaceae*, utan denna population var konstant genom hela försöket. Detta skulle kunna vara en faktor som medverkar till laktatackumuleringen som sågs hos hästarna på koncentrat-diet. (Daly *et al.*, 2012)

Vad är probiotika?

Probiotika definieras av World Health Organisation (WHO) och Food and Agriculture Organization (FAO) som ”levande mikroorganismer som, när de administreras i adekvata mängder, ger en gynnsam hälsoeffekt” (Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, 2002). Syftet med att ge probiotika är att stimulera de bakteriepopulationer som främjar en god funktion i hästens gastrointestinala system, vilket kan förbättra hälsan och öka prestationen. Ofta ger man probiotika med syfte att återställa homeostas i mikrobiomet (Barnhart, 2015). Flera olika mikroorganismer, främst jäst och bakterier, används som probiotika. Vanligtvis används laktat-producerande bakteriefamiljer som *lactobacilli* och *bifidobacteria*. Dessa har i det närmsta blivit synonyma med probiotika men det är vanskligt att generalisera, då bakteriestammar som tillhör samma familj kan ha mycket skilda probiotiska egenskaper. Vidare anger WHO och FAO att probiotiska stammar behöver kunna överleva i magtarmkanalen, adherera till tarmepitel eller mukus samt inneha antimikrobiella egenskaper. (Schoster, 2018)

I EU klassas probiotika som fodertillsats och regleras i gruppen zootekniska tillskott inom kategorin ”medel som stabiliserar tarmfloran”. Endast probiotika som följer reglerna i (EC)1831/2003 får släppas ut på marknaden. Produktens tillstånd är kopplat till djurslag och gäller i 10 år. Vid tidpunkten för denna rapports författande, april 2019, finns endast fyra produkter som är godkända för häst på marknaden i EU; Biosprint, Levucell och Yea-Sacc

innehåller alla *Saccharomyces cerevisiae* och är registrerade med påstående att de förbättrar fiberdigestionen. ColiCure innehåller *Escherichia coli* och anges förbättra fekal konsistens och lukt. Studierna som ligger till grund för dessa godkännanden är inte publicerade i några tidskrifter med peer-review men European Food Safety Authority (EFSA) har ändå bedömt dess resultat som tillräckligt för att utfärda licens, trots att evidens i tillgängliga studier och data är svagt. (Schoster *et al.*, 2014)

I Nordamerika kan probiotika klassas som läkemedel, men behöver då godkännande av Food and Drug Administration (FDA). I dagsläget finns inga godkända läkemedel innehållande probiotika till hästar. Alternativt kan probiotika klassificeras som fodertillskott, vilket i så fall måste vara ”generally regarded as safe” (GRAS). Då krävs endast att producenten med ett expertutlåtande visar hur produkten kan anses säker (GRAS). FDA och Center for Veterinary Medicine (CVM) har möjlighet att avslå denna ansökan, men kräver i praktiken endast att tillskottsprodukterna ska märkas sanningsenligt och ej missledande. Etiketterna ska tydligt identifiera vilken ingrediens som är den aktiva och hur den brukas effektivt och säkert. Endast expertutlåtande och etikett ska alltså granskas av CVM innan produkterna släpps ut på marknaden. Påståenden om att tillskotten botar, behandlar eller förbygger sjukdom är inte tillåtna, dock kan ”meningsfull hälsoinformation” tillåtas. Till exempel godkänns påståenden om ”förbättrad gastrointestinal hälsa” med hänvisning till att det är just meningsfull hälsoinformation och en stor mängd tillskottsprodukter marknadsförs med detta och andra liknande påståenden (Schoster *et al.*, 2014). Detta trots bristfälliga eller ibland helt obefintliga studier av dess effektivitet, eftersom det inte krävs för godkännande. (Schoster *et al.*, 2014)

Trots att etiketterna kontrolleras av FDA ses många exempel där informationen inte är korrekt. I två kanadensiska studier såg man stora brister i beskrivningen av bakterieinnehållet så som saknade namn, ospecificerade stammar, icke-existerande namn, potentiellt patogena stammar och utdaterade namn (Weese, 2002; Weese & Martin, 2011). Endast 8% av veterinära probiotiska produkter hade tillfredställande märkning. Även en studie som kontrollerade den aktiva ingrediensen visar nedslående resultat (Weese, 2003). Endast 15% av produkterna innehöll rätt mängd av den mikroorganism som specificerats på etiketten. Vissa produkter saknade aktiv mikroorganism helt medan andra hade upp till 215% av deklarerad mängd.

Man föreslår flera olika mekanismer bakom att probiotika kan motverka sjukdom samt hindra patogener från att kolonisera hästens tarm. Verknings sätt som föreslås är; modulering av hästens immunförsvar, produktion av antimikrobiella substanser, inhibering eller inaktivering av toxiner, kompetitiv exkludering av patogener, ökad absorption av spårämnen samt stärkt epitelbarriär. (Schoster, 2018)

Prebiotika

Prebiotika är en grupp näringsämnen som förändrar både komposition och aktivitet i mikrobiomet, med syfte att förbättra världens hälsa (Julliand, 2006). Prebiotika regleras inom EU av direktiv 82/471/EEC. Produkterna ska inte vara hälsofarliga, måste vara generika och påståenden om effektivitet i likhet med läkemedel är inte tillåtna. En reviewartikel av Davani-Davari *et al.* (2019) menar att om man ser på hälsofördelarna och säkerhetsaspekten, där pre-

och probiotika är väldigt lika men adderar fördelarna prebiotika har med avseende på produktion och lagring, är prebiotika väldigt lovande i vår strävan att förbättra human hälsa, både som ersättning till eller tillsammans med probiotika. Få studier har gjorts på häst, men en crossover-studie av Respondek *et al.* (2008) visade att kortkedjade fruktooligosaccharider kunde reducera störningar i mikrofloran, vilka orsakats av stressande situationer så som ett snabbt foderbyte med stort överskott av stärkelse som följd.

Kliniska evidens för effekten av probiotika

I en sammanfattande studie presenterar Wilkins & Sequoia, (2017) att probiotika visats effektivt i behandling av bland annat infektiös diarré, antibiotika- och *C. difficile*-associerad diarré samt ulcerös kolit, irritable bowel syndrome (IBS) och inflammatory bowel disease (IBD) hos människa. Nedan följer en genomgång av ett flertal studier där probiotika har testats på häst, både för att behandla och förebygga sjukdom men även för att öka prestation och foderutnyttjande. Resultaten från studierna varierar och motsäger ibland varandra.

Enterokolit

Två studier som undersöker probiotikas effekt på vuxna hästar med enterokolit har gjorts och resultaten skiljer sig åt. I en randomiserad, enkelblindad, placebokontrollerad studie på 21 hästar, vilka var hospitaliserade av olika orsaker men alla utvecklade antibiotika-relaterad diarré, fann man inga signifikanta skillnader mellan de hästar som fått jästsvampen *Saccharomyces boulardii* och kontrollgruppen. Man tittade bland annat på fekal konsistens, allmäntillstånd, aptit, hjärt- och andningsfrekvens, kroppstemperatur, tid för hospitalisering och sekundära komplikationer. Dock såg man i samma studie att den probiotika som administrerats, vilken ej var kommensal för hästarna, tre dagar efter intag kunde detekteras i 58,3% av hästarnas feces. Därav hävdar författarna att studien är den första som kan demonstrera att *S. boulardii* överlever i tarmen på sjuka hästar. (Boyle *et al.*, 2013)

I en annan studie fann man att hästar som led av akut enterokolit och fick *S. boulardii* hade mildare kliniska symtom vilka pågick under kortare tid än kontrollgruppen. Dock såg man ingen skillnad i längden på sjukhusvistelse eller huruvida diarrén återkom. Studien omfattade 14 hästar och genomfördes på djursjukhus. (Desrochers *et al.*, 2005)

Salmonellainfektion

Forskare har undersökt om probiotika skulle kunna reducera förekomst av salmonellos och utsöndring av salmonellabakterier. Även här kommer studierna fram till olika resultat.

Ward *et al.*, (2004) visade att man genom att ge *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* och *Enterococcus faecium* kunde reducera incidensen för utsöndring av salmonellabakterier med 65% efter 48 timmars hospitalisering. Det randomiserade, dubbelblindade, kliniska försöket utfördes på 130 hästar som hospitaliserats för annat än gastrointestinala störningar. Vidare säger de att inga signifikanta skillnader kunde ses mellan grupperna med avseende på ålder, ras, kön, transporterad distans, åkomma, hospitaliseringslängd, antal träckprov eller utskrivningsstatus. Forskarna avslutar med att hävda att probiotika innan stressbelagda händelser så som transport, kirurgi och

antibiotikabehandling, kan reducera kontamination av sjukhusmiljön och på så sätt minska risken för salmonellautbrott. Dock kritiserar Schoster (2018) denna studie och menar att detta resultat inte alls är signifikant med hänvisning till studiens låga power.

En tidigare studie presenterade att administration av probiotika bestående av *L. lactis*, *E. faecium* och levande jästceller inte förändrade sannolikheten för utsöndring av salmonellabakterier eller kliniska tecken på salmonellos. Studien gjordes på 246 hästar som behandlats och lagts in på sjukhus med anledning av koliksymtom. (Kim *et al.*, 2001)

Földiarré

Över 60% av alla föl utvecklar diarré under sina första sex veckor i livet (Frederick *et al.*, 2009). Flera försök har därför fokuserats på att försöka behandla eller förebygga detta. Till skillnad från studier på vuxna hästar så har några försök med probiotika till föl resulterat i negativa konsekvenser och ökad risk för sjukdom. Weese & Rousseau (2005) visade på signifikant högre incidens för diarré, fler kliniska symtom som trötthet, feber och anorektisk kolik samt ökat behov av veterinärvård i gruppen som fått probiotika. Det kliniska försöket var randomiserat, blindat och placebokontrollerat och bestod av 153 föl, där behandlingsgruppen fick *L. pentosus* WE7. Denna stam hade valts ut eftersom Weese *et al.* (2004) konstaterat att den verkade överlägsen bland de 47 bakteriestammar försöket testat som potentiell probiotika. Stammen var tolerant mot magsyra och galla, inhiberade *Salmonella spp*, *E. coli* samt var moderat inhibitorisk för *S. zooepidemicus* och *C. difficile* och var även mildt inhibitorisk för *C. perfringens*. Efter giva kunde den isoleras i feces hos 89% av fölen samt 87,5% av de vuxna hästarna, vilket betyder att den överlevde genom hela tarmkanalen.

Även Schoster *et al.* (2015) fann potentiellt negativa effekter med probiotika till föl. Sjuttio två friska neonatala föl ingick ett randomiserat, placebokontrollerat fältförsök. Resultatet visade att diarré var lika vanligt i gruppen som fick probiotika som kontrollgruppen men föl som fått probiotika behövde i större utsträckning veterinärvård för diarrén än kontrollfölen. Probiotikan som administrerades var *L. rhamnosus* SP1, *L. rhamnosus* LRH19, *L. plantarum* LPAL, *L. plantarum* BG112 och *Bifidobacterium animalis lactis* eftersom Schoster *et al.* (2013) visat att just dessa stammar in vitro hade fördelaktiga egenskaper med avseende på probiotisk användning samt dess förmåga att inhibera alla stammar av *C. difficile* och *C. perfringens*, vilket gjorde dem intressanta för fortsatt utvärdering i kliniska försök.

Positiva resultat sågs i ett annat randomiserat, dubbel-blindat, placebokontrollerat kliniskt försök där 54 föl ingick. De som fick probiotika hade lägre incidens för diarré och större viktökning. Probiotikan bestod i *L. salivarius* YIT 0479, *L. reuteri* YIT 0480, *L. crispatus* YIT 0481, *L. johnsonii* YIT 0482 and *L. equi* YIT 0483. (Yuyama *et al.*, 2004) Ytterligare ett försök som utfördes av Tanabe *et al.*, (2014) visade att administration av *L. ruminis* KK14, *L. equi* KK15, *L. reuteri* KK18, *L. johnsonii* KK21 och *Bifidobacterium boum* HU reducerade incidensen för diarré med 60% hos neonatala fullblodsföl. Schoster (2018) påpekar dock att detta försök har omfattande brister då det inte var blindat, hade ojämna behandlingsgrupper och inkonsekvent monitorering av symtom.

Sandkolik

Hos häst kan konsumtion av sand och jord leda till kronisk diarré, viktnedgång och kolik, vilket orsakas av irritation och obstruktion av tarmen (Landes *et al.*, 2008). En studie på åtta friska hästar och mulåsnor visade att probiotika i form av *S. cerevisiae*, *L. acidophilus* och *E. faecium* tillsammans med prebiotikan psylliumfrön signifikant ökade mängden sand i djurens feces från fjärde administrationsdagen. Sandclearance fortsatte att vara 2,5 gånger högre än baseline hos de djur som fick behandlingen genom hela försöket. Resultaten antyder att denna behandling kan vara ett effektivt sätt att undvika sandinpackning i tarmen och således fungera som profylax vid risk för sandkolik. (Landes *et al.*, 2008)

Fekal mikrobiell transplantation

De studier på terapeutisk förändring av hästens mikrobiota som finns tillgängliga till dags dato har fokuserat på att administrera en eller ett fåtal probiotiska stammar. I ljuset av kunskapen om hästens komplexa mikrobiom och hur det varierar genom magtarmkanalen, har forskare nu börjat intressera sig för den andra änden av skalan, fekal mikrobiell transplantation (FMT), där man istället administrerar ett fullständigt mikrobiom från en frisk individ till en sjuk. Denna metod har exempelvis varit effektiv vid behandling av återkommande infektioner med *C. difficile* hos människor (Gough *et al.*, 2011) och det finns en lång empirisk tradition som säger att denna metod är effektiv för att bota akut och kronisk diarré samt inflammatorisk bowel disease (Mullen *et al.*, 2018) på häst, men än finns inga kliniska studier. (Costa & Weese, 2018)

Produktion, foderutnyttjande och foderbyte

I en studie visade Medina *et al.* (2002) att tillskott av *Saccharomyces cerevisiae* kunde begränsa de oönskade förändringar ett stort intag av stärkelse genererar. Man såg att probiotikan modifierade pH och koncentrationerna av laktat och ammoniak, så att skadliga förändringar tycktes kunna undvikas. Några år senare designade Jouany *et al.* (2008) en studie där man satte åtta vuxna korsningshästar på fyra olika fiber- och stärkelsesrika foderstater och fann att tillskott av *S. cerevisiae* signifikant stimulerade digestionen av cellulosa och förbättrade näringsstatusen på hästar som stod på både fiber- och stärkelsesrik foderstat.

I en uppföljande studie året efter konstaterade Jouany *et al.*, (2009) att tillskottsodring med *S. cerevisiae* hade positiv effekt på fiberutnyttjande eftersom tillskottet ökade mängden enzymer som är delaktiga i nedbrytning av växternas cellväggar. Ett annat försök till förklaring av jästens effektivitet är att jästen tar upp syre, vilket främjar den anaeroba tarmmiljön. Vidare hjälper jästen även till med nyttjande av socker och bidrar med B-vitamin, vilket leder till stimulering av snabbare etablering av mikroorganismer, ökad mikrobiell populationsdensitet och kolonisering av fibrer. Tillsammans leder detta till främjande av fibrolytisk aktivitet och därmed ett bättre foderutnyttjande (Chaucheyras-Durand & Durand, 2010).

Slutligen publicerade Salem *et al.* (2016) en randomiserad, kontrollerad studie där 16 ston administrerades *S. cerevisiae* i tre olika kommersiellt tillgängliga fodertillskott enligt doseringsanvisningarna på förpackningarna. Biocell F53, Biosaf SC47 och Procreatin 7 gavs tillsammans med en kontroldiet under 15 dagar. Man fann att stona som fick Biocell F53 ökade

sitt foderintag samt foderutnyttjande. De ston som fick Biocell F53 hade tillsammans med Procreatin 7-gruppen även en ökad mängd totalprotein i blodet, vilket forskarna beskrev bero på högre råproteinintag samt bättre foderomvandling. De ston som fick Biosaf SC47 hade, i jämförelse med kontrollgruppen, istället en sänkt mängd totalprotein i blodet.

I en sammanfattande studie konstaterar Chaucheyras-Durand & Durand (2010) stora likheter mellan hästens grovtarm och våmmen hos idisslare kan ses med avseende på effekten jäst har på det mikrobiella matspjälkningssystemet. Vidare beskriver de att jäst alltså bör kunna användas för att förbättra digestionen hos häst på samma sätt som hos idisslare. Många studier har nämligen visat att ett dagligt jästtillskott kan öka foderintag och mjölkproduktion hos mjölkkor och även hos köttjur har man sett en ökad daglig tillväxt, slaktvikt samt bättre foderutnyttjande (Chaucheyras-Durand & Durand, 2010).

DISKUSSION

Behandling med probiotika är i allmänhet ansett som riskfritt, kostnadseffektivt och enkelt. Probiotika har visats kunna behandla sjukdom hos människa, men än så länge är resultaten på häst spretiga. Mer forskning krävs och denna bör inrikta sig på att fortsätta kartlägga hästens friska mikrobiom, dess förändringar vid sjukdom och hur kunskapen från humanvården kan överföras till häst på ett relevant sätt.

De studier som utvärderat probiotika ovan har administrerat givorna olika med avseende på dos, frekvens och studielängd. Jag har valt att inte ta med denna information, då jag fokuserat på att ge en överblick av ämnet. Dessutom varierar många andra parametrar ganska kraftigt och studierna är svåra att jämföra när man tittar på detaljer. Jag har därför i mångt och mycket valt att lita på författarnas egna konklusioner.

Marknaden både i Sverige och internationellt är fylld med produkter som riktar sig till hästägare. År 2018 omsatte den svenska hästnäringen 31,3 miljarder svenska kronor (Hästnäringens nationella stiftelse, 2018) och under kategorin övrigt, vilken låg på 2,8 miljarder, fann man tillskottsfoder och vitaminer. Detta vittnar om att det säljs en uppsjö av tillskott som sägs förbättra hästens hälsa och prestation och många av dessa innehåller probiotika. Diskrepansen mellan vad som stod på etiketten och vad som fanns i förpackningen som Weese & Martin (2011) såg i sin studie samt de svaga evidens som finns för probiotikans effekt, gör mig minst sagt tveksam till denna kommers.

Eftersom Weese (2002) visat att märkning och innehåll ofta stämmer dåligt överens, kan det vara svårt att lita på resultatet i kliniska studier av kommersiella produkter. Man kan helt enkelt inte veta om det faktiskt rör sig om en utebliven biologisk effekt eller bara en för låg dos mikroorganismer. Samma sak gäller naturligtvis också för specialgjorda bakterieformuleringar där förvaring och produktion kan påverka innehållet och varje studie bör innehålla en utvärdering av antalet mikroorganismer som standard.

Probiotika har visat sig effektivt vid behandling av vissa sjukdomar på människa, men det finns fortfarande mycket få och svaga evidens för samma resultat på häst. De studier som är gjorda

på specifika sjukdomar har utvärderat väldigt få bakteriestammar och studiepopulationen har ofta varit liten. Med den kunskap vi har idag, så kan man inte rekommendera någon probiotika för behandling av sjukdom på häst och framför allt kan man inte hoppas på att ta fram en enda probiotika för behandling av flera sjukdomar. Framöver bör man fokusera på att försöka hitta rätt kombination av stammar specifikt sammansatta för de sjukdomar man vill behandla. In vitro- och därefter randomiserade placebokontrollerade kliniska studier bör ligga till grund för valet av stammar.

Ofta är de probiotika som utvecklas till häst tänkta att verka i grovtarmen, där många sjukdomar uppstår. Trots detta används bakteriestammar som inte är de vanliga just i grovtarmen, utan stammar som utvärderats och använts i human- och smådjursvården; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* och *Enterococci*, samt förekommer i främre delen av hästens gastrointestinala system. Bristen på resultat i försök på häst skulle kunna härröras från detta faktum och mer forskning och kliniska försök med fokus på den mikrobiota som faktiskt finns i kolon och cecum hos hästen krävs framöver.

Fekal mikrobiell transplantation är ett mycket intressant fält med bra resultat på människa och empirisk historia på häst. Där bör forskningen fokusera på vad som utgör en bra donator samt screening- och administreringsmetoder och dessutom på hur transplanterade mikroorganismer ska kunna överleva miljön i magsäck och tunntarm innan de når stora kolon vid oral administration.

Det verkar finnas viss evidens för att tillskott av jäst ger bättre foderutnyttjande samt skydd mot stärkelseinducerade förändringar, men endast en handfull kliniska försök är gjorda på häst. Dock finns många jämförbara studier på idisslare, vilka visat att *S. cerevisiae* ger större foderintag, högre mjölkproduktion och slaktvikt, bättre foderutnyttjande samt visst skydd mot acidosis och således dess påföljande hälsoproblem så som fång (Chaucheyras-Durand & Durand, 2010). Hästen fermenterar dock sin föda i grovtarmen, sist i matspjälkningskanalen till skillnad från idisslarna som istället gör det i förmagarna proximalt om magsäcken och tarmarna. Den mikrobiella densiteten anses även vara likvärdig i idisslarnas förmagar och hästens grovtarm och miljön är i båda fallen anaerob. Jouany *et al.*, (2009) såg ju även stora likheter mellan hästens grovtarm och våmmen hos idisslare med avseende på effekten jäst har på det mikrobiella matspjälkningsystemet, vilket indikerar att resultaten från idisslare kanske kan extrapoleras till häst.

Studierna på föl är svåra att jämföra då de använt helt eller delvis olika bakteriestammar. Det är dock viktigt att det endast är här man sett att probiotikan givit negativ påverkan på djuren, och man kan tro att det kanske beror på att föl har en mer känslig mikrobiota än vuxna hästar. Framöver är det mycket viktigt att de bakteriestammar som administreras till föl testas och utvärderas noggrant.

Hästens digestion är till stor del beroende av en väl fungerande mikrobiota. Förändringar i denna ses vid sjukdom men sjukdom är också en följd av obalans i tarmfloran. För häst är kolik den näst vanligaste diagnosen i Sverige och den vanligaste orsaken till avlivning enligt Daly *et*

al., (2012). Därför är fortsatt utveckling av diagnosticering, behandling och profylax mycket viktig. Probiotika har stor potential och skulle kunna vara en del i detta men mer forskning krävs.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Almeida, M., Feringer, W. H. J., Carvalho, J. R. G., Rodrigues, I. M., Jordão, L. R., Fonseca, M. G., de Rezende, A. S. C., Neto, A. Q., Weese, J. S., Costa, M. C., Lemos, E. G. M., Ferraz, G. C. (2016) Intense exercise and aerobic conditioning associated with chromium or L-carnitine supplementation modified the fecal microbiota of fillies. *PLoS ONE*: e0167108.
- Barnhart, K. L. (2015). *The influence of Probiotic Supplements on Mikrobial Diversity in the Gastrointestinal Microbiom of Healthy horses*. Diss. The Ohio State University.
- Barr, B. S., Waldridge, B. M., Morrese, P. R., Reed, S. M., Clark, C., Belgrave, R., Donecker, J. M. & Weigel, D. J. (2013). Antimicrobial-associated diarrhoea in three equine referral practices. *Equine Veterinary Journal*. 45(2). pp 154–158.
- Boensma, N., S. Van Weyenburg, H. Panneman, L. Mulder, H.M. Timmerman, M. Hesta, J. Buyse, G.P.J. Janssens and D.A. Van Doorn. (2006). The effect of transportation and probiotic administration on the microflora of horses using microbial community profiling and characterization: A pilot study. In: Proc. 3rd Eur. Equine Health Nutr. Congr., 17–18 of March., Ghent, Belgium. pp 83–87.
- Boyle, A. G., Magdesian, K. G., Gallop, R., Sigdel, S. & Durando, M. M. (2013). *Saccharomyces boulardii* viability and efficacy in horses with antimicrobial-induced diarrhoea. *Veterinary Record*, 172(5), pp 128–131.
- Burla, J.-B., Ostertag, A., Patt, A., Bachmann, I. & Hillmann, E. (2016). Effects of feeding management and group composition on agonistic behaviour of group-housed horses. *Applied Animal Behaviour Science*, 176, pp 32–42.
- Chaucheyras-Durand, F. & Durand, H. (2010). Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes*, 1(1), pp 3–9.
- Costa, M. C., Arroyo, L. G., Allen-Vercoe, E., Stämpfli, H. R., Kim, P. T., Sturgeon, A. & Weese, J. S. (2012). Comparison of the Fecal Microbiota of Healthy Horses and Horses with Colitis by High Throughput Sequencing of the V3-V5 Region of the 16S rRNA Gene. *PLoS ONE*, e41484.
- Costa, M. C., Silva, G., Ramos, R. V., Staempfli, H. R., Arroyo, L. G., Kim, P. & Weese, J. S. (2015). Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. *The Veterinary Journal*, 205(1), pp 74–80.
- Costa, M. C. & Weese, J. S. (2012). The equine intestinal microbiome. *Animal Health Research Reviews* 13(1). pp 121–128.
- Costa, M. C. & Weese, J. S. (2018). Understanding the Intestinal Microbiome in Health and Disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 34(1), pp 1–12.
- Daly, K., Proudman, C. J., Duncan, S. H., Flint, H. J., Dyer, J. & Shirazi-Beechey, S. P. (2012). Alterations in microbiota and fermentation products in equine large intestine in response to dietary variation and intestinal disease. *British Journal of Nutrition*, 107(07), pp 989–995.
- Daly, K., Stewart, C. S., Flint, H. J. & Shirazi-Beechey, S. P. (2001). Bacterial diversity within the equine large intestine as revealed by molecular analysis of cloned 16S rRNA genes. *FEMS Microbiology Ecology*, 38(2–3), pp 141–151.
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S., Berenjian, A. & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods*, 8(3). doi:10.3390/foods8030092. 2019-03-16.

- Desrochers, A. M., Dolente, B. A., Roy, M.-F., Boston, R. & Carlisle, S. (2005). Efficacy of *Saccharomyces boulardii* for treatment of horses with acute enterocolitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227(6), pp 954–959.
- Dougal, K., de la Fuente, G., Harris, P. A., Girdwood, S. E., Pinloche, E. & Newbold, C. J. (2013). Identification of a Core Bacterial Community within the Large Intestine of the Horse. *PLoS ONE*, e77660.
- Frape, D. (2010). *Equine Nutrition and Feeding*. Fourth edition. London: Blackwell Science.
- Frederick, J., Giguère, S. & Sanchez, L. C. (2009). Infectious Agents Detected in the Feces of Diarrheic Foals: A Retrospective Study of 233 Cases (2003–2008). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(6), pp 1254–1260.
- Garrett, L. A., Brown, R. & Poxton, I. R. (2002). A comparative study of the intestinal microbiota of healthy horses and those suffering from equine grass sickness. *Veterinary Microbiology*, 87(1), pp 81–88.
- Gough, E., Shaikh, H. & Manges, A. R. (2011). Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 53(10), pp 994–1002.
- Goulet, O. (2015). Potential role of the intestinal microbiota in programming health and disease: Figure 1. *Nutrition Reviews*, 73(suppl 1), pp 32–40.
- Grønwald, A. R., L'Abée-Lund, T. M., Strand, E., Sørsum, H., Yannarell, A. C & Mackie, R. I. (2010). Fecal microbiota of horses in the clinical setting: Potential effects of penicillin and general anesthesia. *Veterinary Microbiology*, 145. pp 366–372.
- Guardabassi, L., L.B. Jensen & H. Kruse. (2008). *Guide to antimicrobial use in animals*. First edition. Hoboken, New Jersey: Blackwell Publishing Ltd.
- Gustafsson, A. (2004). *Antibiotic associated diarrhea in horses with special reference to Clostridium difficile*. Diss. Uppsala: Sveriges Lantbruksuniversitet.
- Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. (2002). *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food Report*. London Ontario, Canada.
- Jouany, J.-P., Gobert, J., Medina, B., Bertin, G. & Julliand, V. (2008). Effect of live yeast culture supplementation on apparent digestibility and rate of passage in horses fed a high-fiber or high-starch diet. *Journal of Animal Science*, 86(2), pp 339–347.
- Jouany, J.-P., Medina, B., Bertin, G. & Julliand, V. (2009). Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their polysaccharidase and glycoside hydrolase activities in horses fed a high-fiber or high-starch diet. *Journal of Animal Science*, 87(9), pp 2844–2852.
- Julliand, V. (2006). Pre - and Probiotics: Potentials for Equine Practice. In: Proc. 3rd Eur. Equine Health Nutr. Congr., 17–18 of March., Ghent, Belgium. pp 6–11.
- Kern, D. L., Slyter, L. L., Leffel, E. C., Weaver, J. M. & Oltjen, R. R. (1974). Ponies vs. Steers: Microbial and Chemical Characteristics of Intestinal Ingesta. *Journal of Animal Science*, 38(3), pp 559–564.
- Kim, L., Morley, P. S., Traub-Dargatz, J. L., Salman, M. D. & Gentry-Weeks, C. (2001). Factors associated with *Salmonella* shedding among equine colic patients at a veterinary teaching hospital. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(5), pp 740–748.
- Landes, A. D., Hassel, D. M., Funk, J. D. & Hill, A. (2008). Fecal Sand Clearance Is Enhanced with a Product Combining Probiotics, Prebiotics, and Psyllium in Clinically Normal Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(2), pp 79–84.

- Lyte, M., Vulchanova, L. & Brown, D. R. (2010). Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa–bacteria interactions. *Cell and Tissue Research*. doi: 10.1007/s00441-010-1050-0. 2010-10-13.
- Mach, N., Foury, A., Kittelmann, S., Reigner, F., Moroldo, M., Ballester, M., Esquerré, D., Rivière, J., Sallé, G., Gérard, P., Moisan, M. P & Lansade, L. (2017). The effects of weaning methods on gut microbiota composition and horse physiology. *Frontiers in Physiology*. doi: 10.3389/fphys.2017.00535. 2017-07-25.
- McConnico, R. S., Morgan, T. W., Williams, C. C., Hubert, J. D. & Moore, R. M. (2008). Pathophysiologic effects of phenylbutazone on the right dorsal colon in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 69(11), pp 1496-1505.
- Medina, B., Girard, I. D., Jacotot, E. & Julliand, V. (2002). Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *Journal of Animal Science*, 80(10), pp 2600–2609.
- Milnovich, G. J., Trott, D. J., Burrell, P. C., Croser, E. L., Al Jassim, R. A .M., Morton, J. M., van Eps, A. W. & Pollitt, C. C. (2007). Fluorescence in situ hybridization analysis of hindgut bacteria associated with the development of equine laminitis. *Environmental Microbiology*, 9(8), pp 2090–2100.
- Mullen, K. R., Yasuda, K., Divers, T. J. & Weese, J. S. (2018). Equine faecal microbiota transplant: Current knowledge, proposed guidelines and future directions. *Equine Veterinary Education*, 30(3), pp 151–160.
- O’ Donnell, M. M., Harris, H. M. B., Jeffery, I. B., Claesson, M. J., Younge, B., O’ Toole, P. W. & Ross, R. P. (2013). The core faecal bacterial microbiome of Irish Thoroughbred racehorses. *Letters in Applied Microbiology*, 57(6), pp 492–501.
- Petrof, E. O., Gloor, G. B., Vanner, S. J., Weese, S. J., Carter, D., Daigneault, M. C., Brown, E. M., Schroeter, K. & Allen-Vercoe, E. (2013). Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: ‘RePOOPulating’ the gut. *Microbiome*. doi:10.1186/2049-2618-1-3. 2019-02-28.
- Respondek, F., Goachet, A. G. & Julliand, V. (2008). Effects of dietary short-chain fructooligosaccharides on the intestinal microflora of horses subjected to a sudden change in diet. *Journal of Animal Science*, 86(2), pp 316–323.
- Salem, A. Z. M., Elghandour, M. M. Y., Kholif, A. E., Barbabosa, A., Camacho, L. M. & Odongo, N. E. (2016). Influence of feeding horses a high fiber diet with or without live yeast cultures supplementation on feed intake, nutrient digestion, blood chemistry, fecal coliform count, and in vitro fecal fermentation. *Journal of Equine Veterinary Science*, 39, pp 12–19.
- Samhällsekonomiska effekter av hästnäringen i Sverige (2017). *Hästnäringen i siffror – viktigare än du tror*. Stockholm: Hästnäringens nationella stiftelse.
- Schoster, A. (2018). Probiotic Use in Equine Gastrointestinal Disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 34(1), pp 13–24.
- Schoster, A., Kokotovic, B., Permin, A., Pedersen, P. D., Bello, F. D. & Guardabassi, L. (2013). In vitro inhibition of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* by commercial probiotic strains. *Anaerobe*, 20, pp 36–41.
- Schoster, A., Staempfli, H. R., Abrahams, M., Jalali, M., Weese, J. S. & Guardabassi, L. (2015). Effect of a probiotic on prevention of diarrhea and *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* shedding in foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(3), pp 925–931.

- Schoster, A., Weese, J. S. & Guardabassi, L. (2014). Probiotic Use in Horses - What is the Evidence for Their Clinical Efficacy? *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), pp 1640–1652.
- Shepherd, M. L., Swecker, W. S., Jensen, R. V. & Ponder, M. A. (2012). Characterization of the fecal bacteria communities of forage-fed horses by pyrosequencing of 16S rRNA V4 gene amplicons. *FEMS Microbiology Letters*, 326(1), pp 62–68.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. Third edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Tanabe, S., Suzuki, T., Wasano, Y., Nakajima, F., Kawasaki, H., Tsuda, T., Nagamine, N., Tsurumachi, T., Sugaya, K., Akita, H., Takagi, M., Takagi, K., Inoue, Y., Asai, Y. & Morita, H. (2014). Anti-inflammatory and intestinal barrier-protective activities of commensal Lactobacilli and Bifidobacteria in thoroughbreds: Role of probiotics in diarrhea prevention in neonatal thoroughbreds. *Journal of Equine Science*, 25(2), pp 37–43.
- Venable, E. B., Bland, S. D., McPherson, J. L. & Francis, J. (2016). Role of the gut microbiota in equine health and disease. *Animal Frontiers*, 6(3), pp 43–49.
- Ward, M. P., Alinovi, C. A., Couëtil, L. L., Glickman, L. T. & Wu, C. C. (2004). A randomized clinical trial using probiotics to prevent salmonella fecal shedding in hospitalized horses. *Journal of Equine Science*, 24(6), pp 242–247.
- Weese, J. S. (2002). Microbiologic evaluation of commercial probiotics. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(6), p 794–797.
- Weese, J. S., Anderson, M. E. C., Lowe, A., Penno, R., Costa, T. M., Button, L. & Goth, K. C. (2004). Screening of the equine intestinal microflora for potential probiotic organisms. *Equine Veterinary Journal*, 36(4), pp 351–355.
- Weese, J. S. & Martin, H. (2011). Assessment of commercial probiotic bacterial contents and label accuracy. *Canadian Veterinary Journal*, (52), p 43–46.
- Weese, J. S. & Rousseau, J. (2005). Evaluation of Lactobacillus pentosus WE7 for prevention of diarrhea in neonatal foals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(12), pp 2031–2034.
- Weese, J. S., Holcombe, S. J., Embertson, R. M., Kurtz, K. A., Roessner, H. A., Jalali, M. & Wismer, S. E. (2014). Changes in the faecal microbiota of mares precede the development of postpartum colic. *Equine Veterinary Journal*. 47, pp 641–649.
- Wilkins, T., Sequoia, J. (2017). Probiotics for gastrointestinal conditions: a summary of the evidence. *American Family Physician*, 96(3), pp 170–180.
- Willing, B., Vörös, A., Roos, S., Jones, C., Jansson, A & Lindberg, J. E. (2009) Changes in faecal bacteria associated with concentrate and forage-only diets fed to horses in training. *Equine Veterinary Journal*, 41(9), pp 908–914.
- Yuyama, T., Yusa, S. & Takai, S. (2004). Evaluation of a Host-Specific Lactobacillus Probiotic in Neonatal Foals. *The International Journal of Applied Research*, (2), pp 26–33.