



Användningen av pro- och prebiotika till häst

The use of pro- and prebiotics to horses

Malin Hägg

Examensarbete/Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
HUV
Husdjursagronom
Uppsala 2021



Användningen av pro- och prebiotika till häst

The use of pro- and prebiotics to horses

Malin Hägg

Handledare: **Katrin Lindroth, Sveriges lantbruksuniversitet, institutionen för husdjurens utfodring och vård**

Examinator: Johan Dicksved, Sveriges Lantbruksuniversitet, institutionen för husdjurens utfodring och vård

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0865

Program/utbildning: Agronomprogrammet - husdjur

Kursansvarig inst.: Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2021

Omslagsbild: Malin Hägg

Nyckelord: *Mjölksyrabakterier, Saccharomyces cerevisiae, Frukt-oligosackarider, bakterier, foder, grovtarmsjäsa*

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Hästen får största delen av sin energi genom mikrobernas fermentationen av fiber i grovtarmen. Miljön i grovtarmen är känslig och tillstånd som kolik, kolit och diarré hos häst har kunnat associeras till en obalans i grovtarmens bakterieflora. För att förebygga och lindra problem med hästens mag-tarmkanal har användning av pro- och prebiotika blivit allt vanligare. Syftet med arbetet var att sammanställa litteratur kring användningen av pro- och prebiotika till häst för att öka förståelsen kring dess eventuella funktion, risk och effekt. En kortare enkätstudie utfördes för att undersöka vilka pro- och prebiotika som användes och varför. Resultaten från enkätstudien visade att mjölksyrabakterier, *Saccharomyces cerevisiae* och frukto-oligosackarider (FOS) var vanligt förekommande substanser i preparaten. Hästägarna angav att preparaten användes framförallt för att förhindra diarré, men även för att förbättra näringsupptag och motverka magsår. Dessa substanser undersöktes i litteraturstudien och visade att preparat med *S. cerevisiae* hade funktionen att öka den enzymatiska förekomsten i grovtarmen utan någon bevisad negativ effekt på mag-tarmkanalen. Mjölksyrabakterier som också var vanligt förekommande har i tidigare studier visat en inhiberande effekt mot flera vanliga patogener, men *in vivo* försök resulterade i försvårad diarré hos föl. Tidigare studier med FOS och inulin kunde inte utesluta risker att framkalla magsår. Ytterligare studier behöver genomföras för att öka förståelsen kring användningen av pro- och prebiotika till häst för att få ytterligare förståelse kring dess effekt och risker.

Nyckelord: Mjölksyrabakterier, Saccharomyces cerevisiae, Fruktoligosackarider, bakterier, foder, grovtarmsjäsare

Abstract

As a hindgut fermenter, the horse receives most of the energy from microbial fermentation of fibers in the hindgut. The environment of the hindgut is sensitive to disturbances and conditions like colic, colitis and diarrhoea have been shown to be associated with microbial dysbiosis. In order to prevent and relieve problems with the gastrointestinal tract of the horse, the use of pro- and prebiotics have increased. The aim of this work was to compile literature about the use of pro- and prebiotics to horses to increase the understanding about eventual functions, risks and effects. A short survey directed to horse owners was performed to investigate which pro- and prebiotics that were used and why. The results of the survey showed that lactic acid bacteria, *Saccharomyces cerevisiae* and fructo-oligosaccharides (FOS) were the most common substances in the different commercial pro- and prebiotic additives used. Horse owners indicated that the

additives were used to prevent diarrhoea, but also to increase the uptake of nutrients and to prevent gastric ulcer. These substances were further investigated in a literature study which showed that additives with *S. cerevisiae* had the ability to increase the enzymatic presence in the hindgut without any negative effects of the gastrointestinal tract. Lactic acid bacteria is also common in the additives and has previously been shown to have inhibiting effects against a number of pathogens, but has also been associated with increased diarrhoea in foals. Earlier studies with FOS and inulin could not exclude risks to induce gastric ulcers in horses. Due to these uncertain effects and the risks shown, further studies need to be performed to increase the knowledge about the use of pro- and prebiotics to horses.

Keywords: Lactobacillus, Saccharomyces cerevisiae, fructo-oligosaccharides, bacteria, feed, hindgut fermenter

Innehållsförteckning

Sammanfattning	5
Abstract.....	5
Introduktion	7
Bakgrund	8
Störning i mag-tarmkanalen	8
Pro-och prebiotikans funktion.....	9
Olika typer av pro- och prebiotika	9
Mjölksyrabakterier	9
Frukto-oligosackarider	9
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
Material och metod.....	10
Resultat.....	10
Användningen av pro-och prebiotika.....	10
De olika preparaten.....	12
Frukto-oligosackarider	12
Mjölksyrabakterier.....	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
Diskussion	15
Effekter att utfodra med pro- och prebiotika.....	15
Risker att utfodra med pro- och prebiotika	16
Vanliga typer av pro- och prebiotika	17
Slutsats	20
Bilaga 1.....	21
Referenser	24

Introduktion

Hästen är grovtarmsjäsnare och den största delen av hästens energi kommer från flyktiga fettsyror (VFA) som är slutprodukten av den mikrobiella fermentationen som sker i hästens grovtarm (Dougal *et al.*, 2013). Det är den mikrobiella sammansättningen som påverkar mängd och förhållande mellan de olika VFA som bildas (Dougal *et al.*, 2013). Obalans, som riskerar att ge negativa konsekvenser för hälsan, mikrobiell dysbios, kan orsakas av externa faktorer, till exempel om hästen utsatts för långvarig stress (Garber *et al.*, 2020), foderbyten (Dougal *et al.*, 2013) och antibiotikaanvändning (Venable *et al.*, 2016).

Miljön i grovtarmen är känslig vilket gör att mikrobiell dysbios har sammankopplats med sjukdomar och orsaka sjukdomar och tillstånd som kolik (Venable *et al.*, 2016), kolit (Costa *et al.*, 2012) och diarré (Schoster *et al.*, 2015). När hästen drabbas av mikrobiell dysbios kan en följd bli kolik genom en minskad mängd av gynnsamma bakterier, samtidigt som potentiella patogena bakterier ökar i mängd som leder till störningar och obalans i mag-tarmkanalen (Venable *et al.*, 2016). Identifiering av hästens mikrobiom har varit ett steg på vägen för att kunna karakterisera ett dysbiotiskt mikrobiom. Vid undersökningar av mikrobiomet hos hästar drabbade av kolit och diarré har förekomsten av *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp. och *Clostridium perfringens* förekommit i större utsträckning än hos friska hästar (Costa *et al.*, 2012 ; Frederick., *et al.*, 2009). Däremot har associationerna som gjorts mellan tarmflora och kolik påvisat en generell dysbios snarare än överväxt av en specifik patogen (Costa *et al.*, 2012).

För att kunna förstå innebörden av mikrobiell dysbios är det viktigt att förstå den friska hästens mikrobiella sammansättning. Flera studier har genomförts för att kunna fastställa den normala bakteriefloran för hästens mag-tarmkanal, bland annat en studie på hästar på en gräsbaserad foderstat där resultaten var att de dominerande bakterierna i grovtarmen hörde till fylumen, firmicutes och Bacteroidetes och att Fibrobacteres, Spirochaetes och Proteobacteria fanns i en lägre förekomst i grovtarmens träck (Dougal *et al.*, 2013). Liknande resultat har visats i andra studier där Firmicutes är den vanligaste bakteriegruppen, men att Verrucomicrobia är näst störst (Almeida *et al.*, 2016). I studierna har även

funktionen av bakterierna i mag-tarmkanalen försökt identifierats. Såsom en jämförelse av mikrobiota hos hästar med kolit och hästar utan kolit. I denna studie var resultatet att friska hästar hade högre andel av fylumen Actinobacteria, Spirochaetes och familjen Lachnospiraceae men mindre av fylumen Fusobacteria och Bacteroidetes än de sjuka hästarna (Costa *et al.*, 2012). Studier har bidragit till förståelsen att mikrobiota i mag-tarmkanalen påverkas av hästens ålder, inhysningsform, kön och utfodring samt att den är föränderlig över tid och därför är det svårt att identifiera en specifik tarmfloresammansättning som representerar de friska hästarna (Costa *et al.*, 2015). För att hjälpa hästens känsliga mag-tarmkanal att behålla sin balans har pro-och prebiotika börjat användas.

Den mest vedertagna definitionen av probiotika är, ”levande mikroorganismer som vid intag bidrar med fördelar för värdjuret” (Bajagai & Yadav 2016), medan prebiotika är näringsämnen tänkta att specifikt gynna de goda mikroberna som redan finns i mag-tarmkanalen (Julliand, 2006). Syftet med användningen av pro-och prebiotika är att förbättra mag-tarmkanalens funktion samt direkta effekter på tarmen genom att balansera och aktivera mikroorganismer i mag-tarmkanalen hos värdjuret (Saeidi *et al.*, 2021;Chaucheyras-Durand *et al.*, 2010).

I dagsläget är kunskapen kring användningen av pro- och prebiotika till häst bristfällig och det finns många frågor gällande dess användning och effekt (Cehak *et al.*, 2019). Syftet med detta arbete var därför att sammanställa de studier som finns kring ämnet genom att svara på frågeställningarna om vilka de vanligaste typerna av pro- och prebiotika till häst är samt, vilka eventuella effekter och risker som finns med att inkludera pro- och prebiotika som tillskott.

Bakgrund

Störning i mag-tarmkanalen

En vanlig orsak till störningar i mag-tarmkanalen hos häst är grovtarmsacidosis, vilket kan vara en komplikation vid överkonsumtion av stärkelse (Garber *et al.*, 2020; Harlow *et al.*, 2017). Utfodring med stärkelse till häst leder till en ökad koncentration av bakterier såsom anaeroba bakterier, mjölksyrabakterier, mjölksyrafermenterande bakterier och streptokocker i grovtarmen (Respondek *et al.*, 2008) samt en ökad koncentration av mjölksyra i cecum ($p=0,012$) (Jouany *et al.*, 2009). Den ökade koncentrationen leder till ett reducerat pH vilket kan generera skador på tarmslemhinnan och reduktion av naturligt förekommande fibernedbrytande bakterier (Dougal *et al.*, 2013).

Probiotikans funktion

Flertalet studier har genomförts för att undersöka om det finns något pro- eller prebiotika som har någon effekt mot mikrobiell dysbios (Glatter *et al.*, 2016; Respondek *et al.*, 2008; Cehak *et al.*, 2019) och hur det kan påverka magtarmkanalen (Schoster, *et al.*, 2014).

Probiotikan och dess metaboliter kan inhibera och stimulera immunsystemet (Oelschlaeger, 2010). Probiotika kan även binda till tarmepitelcellernas receptorer (Oelschlaeger, 2010) vilket resulterar i färre patogener som binds till tarmepitelcellerna vilket leder till en ökad mucin produktion och ökad överlevnad av celler i tarmepitelet (Oelschlaeger, 2010; Schoster *et al.*, 2014). Probiotika kan även ha en antimikrobiell produktion (Antimikrobiell innebär att den är verksamt mot andra mikroorganismer (*FASS*)). Probiotika kan även inhibera bakterietoxin genom metabolism eller inbindning av toxinet till probiotikan (Schoster *et al.*, 2014). Mjölksyrabakterier är en av de bakterier som kan inhibera toxin från bland annat salmonella och *E. coli* (Schoster *et al.*, 2014).

Olika typer av pro- och prebiotika

Baserat på enkätstudien fokuserar denna litteraturstudie på användningen av fruktooligosackarider, mjölksyrabakterier och jästsvampen *S. cerevisiae*. Arbetet fokuserar även på inulin, anledningen till detta är att studierna som används i arbetet som utreder FOS även inkluderat inulin.

Mjölksyrabakterier

Mjölksyrabakterier (LAB) är ett bakteriesläkte som finns naturligt i magtarmkanalen hos häst (Schoster *et al.*, 2017). Den huvudsakliga produkten från LAB är mjölksyra (Schoster *et al.* 2017), men även ättiksyra kan produceras vid för lågt pH i tarmen (Harlow *et al.*, 2017). Intresset av att ge tillskott av LAB har genererats bland annat genom dess effekt att påverka pH i hästens träck (Harlow *et al.* 2017).

Frukto-oligosackarider

Frukto-oligosackarider (FOS) och inulin är kolhydrater som inte kan smältas av hästens egna digersionsenzymer. Kolhydraterna bryts ned av mikroberna i däggdjurens grovtarm och är gynnsamma för de goda bakterierna i tarmen (Cehak *et al.*, 2019).

Saccharomyces cerevisiae

Saccharomyces cerevisiae är en encellig jäst med potential att användas som probiotika till häst (Stewart, 2014).

Material och metod

Denna uppsats är till övervägande del en litteraturstudie. För artikelsök användes Google scholar, Web of science, Sciencedirect och Pubmed och de sökord som användes var "cecum", "colon", "equine", "fermentation", "Fructo-oligosaccarider", "hindgut", "horse", "lactobacillus", "microbiota", "patogen", "prebiotic", "probiotic" och "*Saccharomyces cerevisiae*".

För att kunna begränsa litteraturstudien till de vanligaste preparaten genomfördes en kortare enkätstudie, programmet som användes var Enalyser.com. Syftet var att ta reda på vad för typ av pro- eller prebiotika hästägare använder sig av till sina hästar, varför de använder ett specifikt preparat och om de upplever att preparatet har någon funktion. Länk till enkäten publicerades i olika grupper på Facebook med koppling till hästhållning i Uppland och riktades till hästägare i Sverige som någon gång utfodrat sin häst med pro- eller prebiotika. Enkäten fanns tillgänglig i två veckor. Tillsammans med enkäten publicerades även tillhörande text kring enkätens syfte och även vilken målgrupp den riktade sig mot. Frågorna i enkäten handlade om hästen (typ, ålder och användningsområde) samt användningen av pro- och prebiotika (typ, orsak till användning och resultat av användningen). Ett urval av svaren på enkäten gjordes genom att enbart ta med de svar där hela enkäten var fullföljd. Hela enkäten finns i bilaga 1.

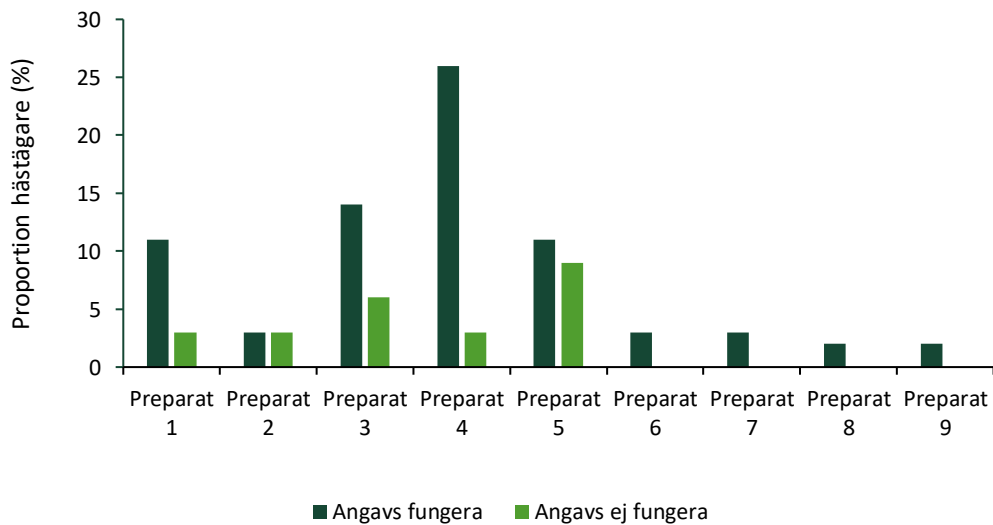
Resultat

Totalt 75 hästägare svarade på enkäten, varav 35 hade fullföljt hela enkäten vilket resulterade i en svarsfrekvens på 47 %. På fråga 5 kunde hästägarna ange flera olika alternativ, vilket gör att den totala andelen för de olika svarsalternativen överstiger 100 % (Bilaga 1). Majoriteten av hästägarna som svarade på enkäten rapporterade ha en häst av varmblod/halvblodstyp (51%, n=18), medan resterande hästägare rapporterade ha ponny (26%, n=9), kallblod (13%, n=5) eller fullblodstyp (9%, n=3). Majoriteten av hästägarna rapporterade ha hästar mellan 4–20 år (66 %, n=23), medan resterande var över 20 år (28 %, n=10), eller under 4 år (6%, n=2).

Användningen av pro-och prebiotika

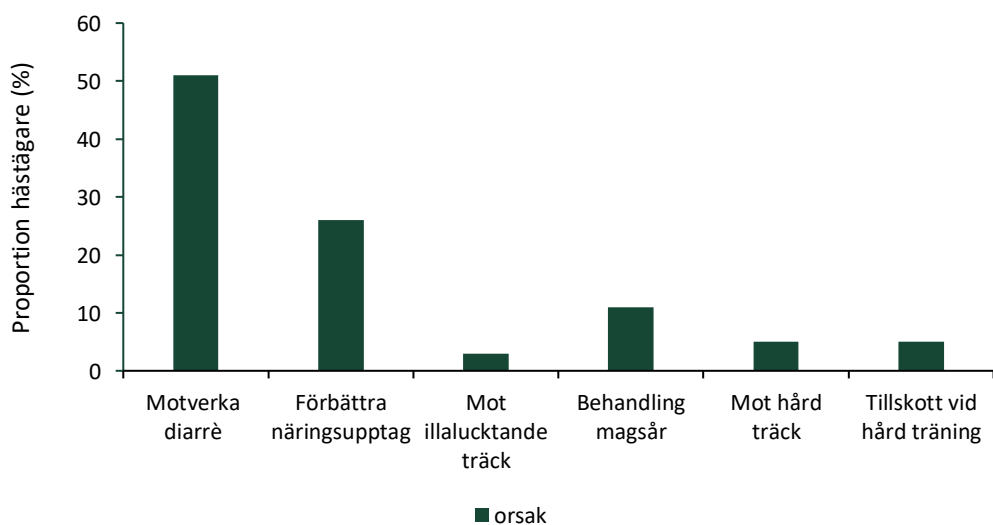
De preparat som användes mest frekvent av hästägarna var preparat 5 (n=7, 20%), preparat 3 (n=7, 20%), preparat 4 (n=10, 29%) och preparat 1 (n=5, 14%), övriga fem preparat som användes finns redovisat i figur 1. Majoriteten av hästägarna

angav att de upplevde önskad effekt av preparatet (n=27, 77%), resterande såg inte den önskade effekten (n=8, 23%).



Figur 1. Önskad effekt hos olika typer av pro- och prebiotika som användes till hästarna rapporterat av hästägarna (n=35).

Hästägarna som svarade på enkäten angav flera olika anledningar till varför de valt att ge pro- eller prebiotika till sina hästar (Figur 2). Hästägarna angav att den vanligaste orsaken till användning av pro- eller prebiotika var att hästen hade diarré (51%, n=18). Andra orsaker var för att hästen lättare skulle kunna ta upp näringsämnen i foderstaten (26%, n=9), för att hästen hade tendenser till magsår (11%, n=4), för att hästen hade hård träck (5%, n=2), för att träcken luktade illa (3%, n=1) eller för att hästen tränas hårt (3%, n=1).



Figur 2. De vanligaste orsakerna till att hästägarna utfodrar med pro-och prebiotika.

De olika preparaten

De preparat som användes mest frekvent var preparat 5, preparat 3, preparat 4 och preparat 1. Preparat 5 innehåller de aktiva substanserna *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, inulin och *S. cerevisiae*. Preparat 3 innehåller *S. cerevisiae* och FOS. Preparat 4 innehåller *L. plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* och inulin. Preparat 1 innehåller *S. cerevisiae*.

Frukto-oligosackarider

Studien av Garber *et al.* (2020) identifierade att streptokocker, en mjölksyraproducerande bakterie, var en vanlig orsak till grovtarmsacidosis. I en studie undersöktes FOS påverkan på koncentrationen streptokocker i mag-tarmkanalen, studien visade ingen effekt på mängd streptokocker (Respondek *et al.*, 2008). Det kunde heller inte ses någon förändring av koncentrationen VFA, ättiksyra eller smörsyra i grovtarmen ($p > 0.05$) (Respondek *et al.*, 2008). I en annan studie som genomfördes åtta år senare gav samma resultat. Försöket genomfördes på tolv friska hästar som utfodrades med hö och havrekross, där hälften av gruppen även utfodrades med ett substrat innehållande FOS och inulin, i denna studie kunde inga skillnader mellan grupperna i VFA koncentration påvisas (Glatter *et al.*, 2016).

Mätdata från Glatter *et al.* (2016) kring koncentrationen smörsyra som bildades vid tillskott av FOS och inulin användes i studien av Cheak *et al.* (2019). Mätdata användes för att undersöka risken att framkalla magsår vid utfodring av FOS och inulin. I studien togs biopsier av magsäcksslemhinnor som exponerades för smörsyra *in vitro* (Cehak *et al.*, 2019). Resultaten visade genom histologiska studier att koncentrationen smörsyra som identifierades i studien från Glatter *et al.* (2016) hade en skadlig effekt på körtelslemhinnan i magsäcken men inte på den körtelfria slemhinnan (Cehak *et al.*, 2019).

Mjölksyrabakterier

I en studie utfodrades hästar med en grovfoder-baserad foderstat (Harlow *et al.* 2017). Träckprover samlades in och exponerades för tillsatser av LAB och spannmål *in vitro* under 24 timmar. Detta för att studera interaktion mellan spannmål och bakterierna *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus* och *Lactobacillus buchneri* (Harlow *et al.*, 2017). Resultaten visade att alla LAB hade en reducerande effekt på pH i jämförelse med kontrollgrupp ($p < 0.05$). Resultaten visade även att *L. reuteri* resulterade i den största pH-reduceringen på 0,2-0,3 enheter ($p < 0.05$) (Harlow *et al.*, 2017). Resultaten visade även att *L. buchneri*

metaboliserar mjölksyra till ättiksyra om pH i grovtarmen är för lågt (Harlow *et al.*, 2017), anledningen till detta är för att mjölksyra har en lägre syra konstant (pKa) än ättiksyra, vilket gör att metabolism av mjölksyra till ättiksyra leder till ökat pH i grovtarmen (Harlow *et al.*, 2017).

En annan orsak till intresset av LAB är att reducering av pH och ökad mängd mjölksyrabakterier har visat sig ha en inhiberande effekt mot patogena bakterier (Weese *et al.*, 2004). I en studie av Weese *et al.* (2004) samlades träckprover in från 20 vuxna hästar och 18 föl. Träckproverna användes i syftet att identifiera LAB i träcken med hjälp av 16s rRNA gen sekvensering (Weese *et al.*, 2004). Bakterierna exponerades för pH och patogener såsom *C. perfringens*, *C. difficile* och *Salmonella spp.* genom *in vitro* försök. Totalt sekvenserades 47 olika LAB och av dessa hade fyra en inhiberande effekt mot *Salmonella spp.*, *E. coli*, *C. difficile* och *C. perfringens*. *L. pentosus* valdes att studeras djupare för att den hade en bättre förmåga till tillväxt *in vitro* än de andra tre, de andra tre nämns inte vid namn (Weese *et al.*, 2004). I samma studie administrerades *L. pentosus* oralt och redan en dag efter givan fanns *L. pentosus* i träcken hos sju av åtta vuxna hästar, men efter sex dagar fanns *L. pentosus* i träcken hos två av åtta vuxna hästar. Liknande resultat visades hos föl, och resultaten indikerade att *L. pentosus* inte koloniserar hästens tarm (Weese *et al.*, 2004).

Vidare studier på LAB har genomförts för att undersöka dess inhiberande effekt mot patogener. Ett *in vitro* försök utfördes där *L. plantarum*, *L. rhamnosus* och *Bifidobacterium animalis lactis* effekt mot *C. perfringens*, *E. coli* och *Staphylococcus aureus* i mag-tarmkanalen testades i samband med olika pH koncentrationer (Schoster *et al.*, 2013). Resultaten visade att alla LAB verkade inhiberande mot *C. perfringens* oberoende av pH och att *L. plantarum* även inhiberade *E. coli* och *S. aureus* oberoende av pH, men att *B. animalis lactis* inte gjorde det. Även *L. rhamnosus* verkade inhiberande men var pH beroende mot alla patogener (Schoster *et al.*, 2013).

Baserat på resultaten från Schoster *et al.* (2013) genomfördes en *in vivo* studie på *L. plantarum*, *L. rhamnosus* och *B. animalis lactis*. Studien utfördes på totalt 72 föl med syfte att undersöka effekten av probiotika till föl med diarré (Schoster *et al.*, 2015). Substratet som användes var preparat innehållande *L. plantarum*, *L. rhamnosus* och *B. animalis lactis*. Resultatet från studien visade att fölen som fått probiotika i 21 dagar fick värre diarré och behövde oftare få veterinärvård jämfört med fölen som inte fick något probiotiskt preparat (Schoster *et al.*, 2015).

Saccharomyces cerevisiae

Tillskott med *S. cerevisiae* har visat sig påverka digestionen av växtens cellväggar (Jouany *et al.*, 2008). En slumpmässig studie med åtta hästar, med två hästar i varje grupp som antingen var kolon- och cecumfistulerade utfodrades antingen med en foderstat med mycket fiber eller med mycket stärkelse. Utöver det fick hälften av hästarna i båda grupperna även tillskott av *S. cerevisiae*. För att kunna mäta passagehastighet utfodrades de även med antinutritionella substanser. Efter sju dagar samlades träckprover in och analyserades för förekomst av de antinutritionella substanserna, där man kom fram till att passagehastigheten inte förändrades mellan någon av utfodringarna eller vid tillskott av *S. cerevisiae*. Resultaten visade även att hästarna som utfodrades med *S. cerevisiae* hade ett ökat intag av torrsbstans ($p = 0.03$), hemicellulosa ($p = 0.023$) och neutralt smältbart fiber (NDF) ($p = 0.023$) jämfört med hästarna utan tillskott av *S. cerevisiae* (Jouany *et al.*, 2008).

Ett år senare utfördes ytterligare en studie med samma försöksupplägg med syfte att ta reda på effekterna av *S. cerevisiae* i foderstaten (Jouany *et al.*, 2009). Cecum- och kolon prover samlades in fyra timmar efter utfodring och analyserades för mikrobiell och enzymatisk sammansättningen. Proverna visade att *S. cerevisiae* fanns i både i cecum- och kolon vid fistelproverna. Däremot kunde ingen skillnad i förekomst av streptokocker, LAB eller mjölksyrafermenterande bakterier detekteras vid någon av dieterna, fiberrik, stärkelserik eller tillsats av *S. cerevisiae* (Jouany *et al.*, 2009). Författarnas slutsats av studien var att *S. cerevisiae* ökade aktiviteten av flertalet enzymer (CMC-ases, Beta-D-cellobiosidaser, beta-D-xylosidaser och beta-D-glucosidaser ($p < 0.041$)) som är aktiva vid nedbrytningen av växter i cecum men inte i kolon. Slutsatserna som drogs blev därmed att *S. cerevisiae* kan användas för att stabilisera magtarmkanalen och användas som ett potentiellt probiotika till häst (Jouany *et al.*, 2009).

Diskussion

Effekter att utfodra med pro- och prebiotika

Enligt detta arbete är *S. cerevisiae* ett potentiellt probiotika genom dess positiva effekt på matsmältningen. Vissa forskare anser att *S. cerevisiae* kan användas som ett probiotika till häst på grund av förmågan att öka koncentrationen av växtväggsnedbrytande enzymer (Jouany *et al.*, 2009). I studien av Jouany *et al.* (2009) blir slutsatsen att *S. cerevisiae* har effekten att öka förmågan till nedbrytning av kolhydrater i grovtarmen, vilket ger *S. cerevisiae* en effekt mot mikrobiell dysbios hos hästar som konsumerar stora mängder stärkelse och kolhydrater (Jouany *et al.*, 2009).

I Jouany *et al.* (2009) studie sågs ingen ökad koncentration av streptokocker i grovtarmen vid utfodring av stärkelse och inte heller någon effekt av utfodring med *S. cerevisiae*. Men enligt Garber *et al.* (2020) är streptokocker en vanlig orsak till grovtarmsacidosis hos häst genom den mjölksyraproducerande effekten (Garber *et al.*, 2020). Därför hade det varit intressant med vidare studier kring hur streptokocker påverkas av utfodring med stärkelse och om *S. cerevisiae* kan ha någon effekt mot dess förekomst. Även generella studier på *S. cerevisiae* bör genomförts för att kunna fastställa att jästsvampen har effekt till en större grupp hästar eftersom mikrosammansättningen skiljer sig mellan hästar med olika kön, ålder, inhysningsform etc. (Costa *et al.*, 2015).

FOS och inulins effekt att öka koncentrationen av fibernedbrytande bakterier i grovtarmen har studerats utan att visa sig ge någon effekt (Cehak *et al.*, 2019). Att utföra vidare studier på *S. cerevisiae*s funktion i hästens mag-tarmkanal är relevant eftersom *S. cerevisiae* redan visat sig ha goda effekter i mag-tarmkanalen hos häst. Anledningen till att vidare studier bör genomföras är för att det i dagsläget enbart finns ett fåtal studier och studierna som finns är enbart gjorda på ett fåtal hästar vid grovfoderbaserad utfodring.

L. reuteri, *L. acidophilus* och *L. buchneri* har visats reducera pH sänkningen i träckprover vid tillsats av spannmål, *L. reuteri* hade största effekt mot pH reduktionen (Harlow *et al.*, 2017). Syftet med att reducera pH sänkningen är att minska risken för grovtarmsacidosis och mikrobiell dysbios i grovtarmen (Harlow *et al.*, 2017). Effekten att sänka pH bör studeras vidare för att fastställa effekten *in vivo* samt om det finns några risker att utfodra med eftersom utfodring med andra mjölksyrabakterier har påvisats skada värdjuret.

Risker att utfodra med pro- och prebiotika

Litteraturen som används i detta arbete har påvisat risker med att utfodra med pro- och prebiotika som används av hästägarna som svarade på enkäten. Vid utfodring av FOS och inulin ökade smörsyra koncentrationen till en mängd som är skadlig för körtelslemhinnan i magsäcken, vilket ger en ökad risk för magsår (Cehak *et al.*, 2019). Det blir därmed inte riskfritt att utfodra med FOS och inulin, vilket är ett av kriterierna för att ett preparat ska vara ett potentiellt pro- eller prebiotika (Julliand, 2006). Enligt Cehak *et al.*, (2019) bör fler studier utföras på FOS och inulin, men eftersom inga positiva effekter är signifikanta är inte FOS och inulin av lika stort intresse att studera vidare som *S. cerevisiae* och LAB. Om vidare studier på FOS och inulin genomförs bör studierna inriktas på skaderisken av magsäckenslemhinna för att säkerställa att den inte skadas vid administrering av FOS och inulin. Därefter kan vidare studier på funktion genomföras.

L. plantarum, *L. rhamnosus* och *B. animalis lactis* visades ha effekt mot *C. perfingens*, *E. coli* och *S. aureus in vitro* (Schoster *et al.*, 2013). Men i *in vivo* försök resulterade tillskott av *L. plantarum*, *L. rhamnosus* och *B. animalis lactis* till förvärrande av diarré hos föl (Schoster *et al.*, 2015).

Fölen har en mindre stabiliserad mikrobiota än vuxna hästar, och en instabil mikrobiota kan även vara en anledning till att vuxna hästar drabbas av diarré, kolik och kolik (Venable *et al.*, 2016). Dessa hästar var enligt enkäten de man vanligen utfodrade med pro- eller prebiotika. Det innebär att det kan finnas en likhet mellan vuxna hästar med obalans i mag-tarmkanalen och fölens reaktion på *L. plantarum*, *L. rhamnosus* och *B. animalis lactis*. Därför bör inte dessa hästar utfodras med *L. plantarum*, *L. rhamnosus* och *B. animalis lactis* och vidare studier bör göras på andra mjölksyrabakterier som kan ha både effekt och vara riskfria.

Vanliga typer av pro- och prebiotika

Majoriteten av hästägarna som hade svarat på enkäten gav pro- eller prebiotika för att motverka diarré eller för att förbättra näringsupptaget hos hästen. Enligt de fåtal studier som gjorts innehåller ett av de fyra vanligaste pro- och prebiotiska preparaten som hästägarna angav ämnen som kan utfodras riskfritt, och de andra tre innehåller ämnen där det finns en risk för både förvärrad diarré och magsår. Däremot behöver fler studier genomföras inom området för att resultaten ska vara trovärdiga.

Enkäten som genomförts i studien använder sig av 35 respondenter vilket är ett fåtal svar som inte ger ett resultat som blir generellt för Sveriges hästägare.

Tabell 1: Innehåll av aktiva substanser i fyra olika pre- och probiotiska preparat.

	Preparat 5	Preparat 3	Preparat 4	Preparat 1
<i>L. plantarum</i>	X		X	
<i>L. rhamnosus</i>	X			
<i>L. acidophilus</i>			X	
<i>L. paracasei</i>			X	
<i>L. delbrueckii</i>			X	
<i>Inulin</i>			X	
<i>S. cerevisiae</i>	X	X		X
FOS		X		

Enkäten var dessutom publicerad i några specifika grupper på sociala medier vilket medför att respondenterna inte blir ett generellt stickprov av Sveriges hästägare utan per automatik blir riktad till en specifik grupp hästägare. Om meningen med studien varit att ge en generell inblick i hur Sveriges hästägare använder sig av pro- och prebiotika skulle ett alternativ till att sprida enkäten varit att mejla ut enkäten till alla registrerade hästägare. Med utskicket via sociala medier missas den grupp hästägare som inte har sociala medier eller inte är aktiva i grupper på sociala medier som inriktar sig på häst. Om en ny enkät skulle skickats ut hade enkäten också formaterats om, exempelvis genom ett fritextsvar där man fick beskriva vad man såg för resultat av sitt pro- eller prebiotika användande, hur ofta man gav pro- eller prebiotika och vilken mängd man gav.

Pro- och prebiotiska effekter är ofta stamspecifika. Däremot anges inte alltid vilka stammar av mjölksyrabakterier som används i de olika preparaten. Detta medför problematik då effekten eller risken med en specifik mjölksyrabakterie inte går att applicera på de olika preparaten. Problemet blir även att brukarna av preparaten inte kan ta reda på vilken effekt preparatet har på deras häst.

Preparat 4 innehöll bland annat inulin och *L. plantarum* (Tabell 1) vilket innebär att utfodring av preparat 4 kan leda till både magsår och förvärrad diarré om *L. plantarum* är av samma stam som i studien av Schoster *et al.* (2013). I marknadsföreningen av preparatet framgår det inte vilka stammar bakterierna tillhör vilket medför att litteraturstudien inte kan säkerställa varken effekter eller risker med utfodring av preparatet. Däremot säger resultaten från enkäten att 90 % av de som använt preparat 4 upplever den önskade effekten, vilket är intressant eftersom det är högre än de andra preparatens angivna effekt. Däremot påvisar respondenternas uppfattning av preparatet ingen effekt som går att använda för att säkerställa preparatets effekt eftersom enkäten och studien är bristfällig. Vidare studier med en mer utvecklad enkät som skickas ut till en större andel hästägare hade därför varit intressant. Utöver det behöver även de som marknadsför preparaten ange vilka specifika bakteriestammar och arter som preparatet innehåller för att studier ska kunna göras.

En annan anledning till att effekterna inte stämmer överens är att det skulle kunna ske en effekt, eller att effekterna slår ut varandra när man blandar flera olika probiotikastammar och prebiotikapreparat i ett och samma preparat. För att förhindra att ämnena har en annan effekt när de blandas med andra ämnen behöver de olika sammanställningarna av ämnen i preparaten studeras för att undersöka dess eventuella effekt och risk. Det skulle även kunna vara så att ämnena i de olika preparaten har en effekt men att man inte gjort några direkta studier på de specifika stammarna som används.

Den litteratur som använts i arbetet har påvisat att det enda preparat som både har en effekt och inte finns några risker att utfodra med är preparat 1. Det var 4/5 v respondenterna till enkäten som upplevde en önskad effekt från Preparat 1 som enbart innehåller *S. cerevisiae*. Att det skiljer sig mellan effekten som respondenterna upplever och effekten som litteraturen anger kan bero på enkätstudiens brister men även på den begränsade kunskapen om *S. cerevisiae*.

Den vanligaste anledningen till användning av pro-och prebiotika hos respondenterna var för att motverka diarré. Studierna beskriver att en orsak till diarré kan vara hög förekomst av specifika patogener och att mjölksyrabakterier har påvisats ha en inhiberande effekt mot diarré. Däremot har inhiberingen inte kunnat ses hos *S. cerevisiae*. *S. cerevisiae* har istället en effekt på förbättrat näringsupptag vilket inte var en lika vanlig anledning till att ge pro-och prebiotika. Att en större andel av respondenterna vill motverka diarré gentemot att öka näringsupptagsförmågan skulle kunna vara en anledning till att respondenterna inte såg en lika stor effekt av preparat 1 som preparat 4.

Slutsats

I enkätstudien såg flest respondenter effekt av preparat 4 och den vetenskapliga litteraturen visar att LAB kan förhindra patogener, men att det kan finnas vissa risker med att utfodra med LAB och inulin som preparat 4 innehöll. Litteraturen indikerar att *S. cerevisiae* kan bidra till ökad enzymatisk aktivitet, och har hittills inte heller sammankopplats med några negativa bieffekter. Men i enkätstudien hade inte *S. cerevisiae* som ensam produkt lika positiva effekter.

Bilaga 1

Tabell 1. Enkät riktad till hästägare med syfte att förstå vilka de vanligaste preparaten är och varför de används.

1. Vad har du för typ av häst?

- Kallblod
- Varmblod / Halvblod
- Fullblod
- Ponny

2. Hur gammal är hästen du utfodrar/utfodrade med pro- eller prebiotika?

- Under 4 år
- Mellan 4 och 20 år
- Över 20 år

3. Vad gör din häst?

- Dressyr
- Allround/hobby
- Trav
- Galopp
- Western
- Hoppning
- Avel

4. Skriv namnet på det probiotiska eller prebiotiska preparatet du har använt (Fritextsvar)

5. Varför använde/använder du preparatet?¹

- För att hästen hade diarré
- För att hästen hade hård träck
- För att hästens träck luktade illa
- För att hästen hade tendenser till magsår
- För att hästen lättare skulle kunna ta upp näringsämnen i foderstaten
- För att hästen tränas hårt

6. Fick du den effekt du hade förväntat dig?

- Ja
 - Nej
-

Bilaga 1: Bilagan visar enkätfrågorna samt svarsalternativ. Svarsalternativen till varje fråga finns i punktform under varje fråga.¹flersvarsfråga.

Referenser

Alakomi, H. L. *et al.* (2000) 'Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane', *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), pp. 2001–2005. doi: 10.1128/aem.66.5.2001-2005.2000.

Almeida, M. L. M. de *et al.* (2016) 'Intense Exercise and Aerobic Conditioning Associated with Chromium or L-Carnitine Supplementation Modified the Fecal Microbiota of Fillies', *PLOS ONE*, 11(12), p. e0167108. doi: 10.1371/journal.pone.0167108.

Bajagai. Yadav S (2016) *Probiotics in animal nutrition: production, impact and regulation*.

Cehak, A. *et al.* (2019) 'Does prebiotic feeding affect equine gastric health? A study on the effects of prebiotic-induced gastric butyric acid production on mucosal integrity of the equine stomach', *Research in Veterinary Science*, 124, pp. 303–309. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.04.008.

Chaucheyras-Durand, F. and Durand, H. (2010) 'Probiotics in animal nutrition and health', *Beneficial Microbes*, 1(1), pp. 3–9. doi: 10.3920/BM2008.1002.

Cooke, C. G., Gibb, Z. and Harnett, J. E. (2021) 'The Safety, Tolerability and Efficacy of Probiotic Bacteria for Equine Use', *Journal of Equine Veterinary Science*, 99, p. 103407. doi: 10.1016/j.jevs.2021.103407.

Costa, M. C. *et al.* (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*, 7(7), p. e41484. doi: 10.1371/journal.pone.0041484.

Costa, M. C. *et al.* (2015) 'Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses', *The Veterinary Journal*, 205(1), pp. 74–80. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.03.018.

Dougal, K. *et al.* (2013) 'Identification of a Core Bacterial Community within the Large Intestine of the Horse', *PLOS ONE*, 8(10), p. e77660. doi: 10.1371/journal.pone.0077660.

Frederick, J., Giguère, S. and 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. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0383.x>.

Garber, A., Hastie, P. and Murray, J.-A. (2020) 'Factors Influencing Equine Gut Microbiota: Current Knowledge', *Journal of Equine Veterinary Science*, 88, p. 102943. doi: 10.1016/j.jevs.2020.102943.

Glatter, M. *et al.* (2016) 'Fermentation Characteristics along the Gastrointestinal Tract after Feeding of Jerusalem Artichoke Meal to Adult Healthy Warmblood Horses', *Journal of Animal Research and Nutrition*, 1(3). doi: 10.21767/2572-5459.100016.

Harlow, B. E. *et al.* (2017) 'Exogenous lactobacilli mitigate microbial changes associated with grain fermentation (corn, oats, and wheat) by equine fecal

microflora ex vivo', *PLOS ONE*, 12(3), p. e0174059. doi: 10.1371/journal.pone.0174059.

Jouany, J.-P. *et al.* (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. doi: 10.2527/jas.2006-796.

Jouany, J.-P. *et al.* (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 diet¹', *Journal of Animal Science*, 87(9), pp. 2844–2852. doi: 10.2527/jas.2008-1602.

Julliand, V. (no date) 'Pre - and Probiotics: Potentials for Equine Practice', p. 6.

Oelschlaeger, T. A. (2010) 'Mechanisms of probiotic actions – A review', *International Journal of Medical Microbiology*, 300(1), pp. 57–62. doi: 10.1016/j.ijmm.2009.08.005.

Ordlista - FASS Allmänhet (no date). Available at: <https://www.fass.se/LIF/wordlist?page=A> (Accessed: 5 May 2021).

Respondek, F., Goachet, A. G. and 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. doi: 10.2527/jas.2006-782.

Saeidi, E. *et al.* (2021) 'Effect of Feeding Fructooligosaccharides and Enterococcus faecium and Their Interaction on Digestibility, Blood, and Immune Parameters of Adult Horses', *Journal of Equine Veterinary Science*, 99, p. 103410. doi: 10.1016/j.jevs.2021.103410.

Schoster, A. *et al.* (2013) 'In vitro inhibition of Clostridium difficile and Clostridium perfringens by commercial probiotic strains', *Anaerobe*, 20, pp. 36–41. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.02.006.

Schoster, A. *et al.* (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. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.12584>.

Schoster, A. *et al.* (2017) 'Comparison of the fecal bacterial microbiota of healthy and diarrheic foals at two and four weeks of life', *BMC Veterinary Research*, 13(1). doi: 10.1186/s12917-017-1064-x.

Schoster, A., Weese, J. S. and 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. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.12451>.

Stewart, G. G. (2014) 'SACCHAROMYCES | Saccharomyces cerevisiae', in Batt, C. A. and Tortorello, M. L. (eds) *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*. Oxford: Academic Press, pp. 309–315. doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00292-5.

Venable, E. B. *et al.* (2016) 'Role of the gut microbiota in equine health and disease', *Animal Frontiers*, 6(3), pp. 43–49. doi: 10.2527/af.2016-0033.

Weese, J. S. *et al.* (2003) 'Preliminary investigation of the probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in horses: fecal recovery following oral administration and safety', *The Canadian Veterinary Journal*, 44(4), pp. 299–302. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372248/> (Accessed: 19 April 2021).

Weese, J. S. *et al.* (2004) 'Screening of the equine intestinal microflora for potential probiotic organisms', *Equine Veterinary Journal*, 36(4), pp. 351–355. doi: <https://doi.org/10.2746/0425164044890616>.