



Påverkan av tid och temperatur vid analys av pH i träckprov från häst

Olivia Ahlstedt och Martina Löfgren

Självständigt arbete i djuromvårdnad • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Djursjukskötarprogrammet
Uppsala 2023



Påverkan av tid och temperatur vid analys av pH i träckprov från häst

The impact of time and temperature in the analysis of pH in equine faecal sample

Olivia Ahlstedt och Martina Löfgren

Handledare: Katrin Lindroth, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Cecilia Müller, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i djuromvårdnad

Kurskod: EX0994

Program: Djursjukskötarprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2023

Omslagsbild: Olivia Ahlstedt

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd

Nyckelord: ekvint, fecesprov, mag-tarmhälsa, metodstudie, pH, provförvaring, provhantering

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

Djuromvårdnad

Sammanfattning

Mätning av pH i träck är vanligt förekommande i vetenskapliga artiklar om nutrition och mag-tarmhälsa på häst. Metoderna för mätning av fekalt pH som beskrivs i litteraturen varierar mellan olika studier vilket gör att det finns en efterfrågan av ett mer standardiserat protokoll för mätning av fekalt pH.

Detta självständiga arbete inom djuromvårdnad syftade till att studera om olika behandling (provförvaring i olika temperaturer och analys efter olika lång tid av provförvaring) av insamlade träckprover från häst påverkade pH-värdet.

Studien var utformad som en metodstudie där redan insamlade data som innehöll registreringar av pH i träck från 105 hästar användes. Totalt inkluderades 945 av 1470 mätningar. Vid insamling av prov togs fekalt material från mitten av träckhögen inom en tid av en till två minuter efter träckavgång. Sedan pressades varje enskilt träckprov, fekal vätska erhöles och användes för mätning av pH. Mätning utfördes vid olika tidpunkter (2, 4, 12, 24 och 48 h) efter att ha förvarats vid olika temperaturer (rumstemperatur, kylskåp och frys). Referensprov (REF) mättes direkt vid provinsamling. För rumstemperatur (18–22°C) var tiden 2 timmar (R2). För kylskåp (4–6°C) var tiderna 2 (K2), 4 (K4), 12 (K12), 24 (K24) och 48 timmar (K48). För frys (-18°C) var tiderna 24 (F24) och 48 timmar (F48). Mätvärdena analyserades i SAS med hjälp av en generell linjär mixad-modell (GLMM) effekterna av tid och temperatur analyserades gällande påverkan på pH-värdet.

Resultatet visade att interaktionseffekten mellan tid och temperatur påverkade pH-värdet. Vid jämförelse med referensvärdet (REF) var pH-värdet lika då träckprov förvarades i rumstemperatur i 2 timmar (R2; $p=0.9722$) och i kylskåp i 48 timmar (K48; $p=0.0681$). I nuläget borde dock behandlingen K48 inte uppfattas som bekräftad säker.

Resultaten från denna studie visade på att tid och temperatur var viktiga parametrar vid provhantering och borde därför läggas till som två parametrar att justera vid utveckling av ett standardiserat protokoll för mätning av pH-värde i hästräck.

Nyckelord: ekvint, fecesprov, mag-tarmhälsa, metodstudie, pH, provförvaring, provhantering

Abstract

Measuring pH in faeces is commonly used in scientific articles about nutrition and gastrointestinal health in horses. The described methods for measuring faecal pH vary between studies and therefore there is a need for a more standardized protocol for measuring faecal pH.

This thesis in veterinary nursing aimed to study how different treatments (different temperatures and times of storage of the sample) of equine faecal samples affected faecal pH.

The study was designed as a method study where already collected data of registered faecal pH from 105 horses, with a total of 945 samples, were included. Faecal samples were collected from the middle of the faecal pile within one to two minutes of defecation. The faecal fluid used for analysing faecal pH was obtained by pressing faecal samples. Analysis of pH were performed at different times (2, 4, 12, 24 and 48 h) after storage in different temperatures (room temperature, fridge and freezer). Reference sample (REF) was measured immediately after sample collection. For samples at room temperature (18-22°C), the time was 2 hours (R2). For samples in the fridge (4-6°C), the times were 2 (K2), 4 (K4), 12 (K12), 24 (K24) and 48 hours (K48). For samples in the freezer (-18°C) the times were 24 (F24) and 48 hours (F48). The measurements were analysed using SAS with a linear mixed-model (GLMM) where the effects of time and temperature were analysed.

The results showed that interactions between time and temperature affected pH-value. In comparison with the reference value (REF), pH-value was similar when faecal samples were stored at room temperature for 2 hours (R2; $p=0.9722$) and in the fridge for 48 hours (K48; $p=0.0681$). At the moment, however, the treatment K48 should not be considered confirmed.

The result from this study showed that time and temperature are important parameters affecting the faecal pH and should therefore be included in a standard protocol and adjusted for when measuring pH in horse faeces.

Keywords: equine, faecal sample, gastrointestinal health, method study, pH, sample storage, sample handling

Innehållsförteckning

Tabellförteckning.....	8
Figurförteckning.....	9
Förkortningar.....	10
1 Inledning	11
1.1 Syfte och frågeställningar	11
2 Bakgrund	12
2.1 Olika faktorer som påverkar pH i hästens mag-tarmkanal	12
2.1.1 Utfodring	12
2.1.2 Kön och ålder	14
2.2 Association mellan förändrat pH och mag-tarmproblematik hos häst	14
2.2.1 Diarré.....	14
2.2.2 Grovtarmsacidosis	15
2.2.3 Magsår	15
2.3 Metoder för att mäta pH i olika delar av mag-tarmkanalen.....	16
2.3.1 Gastroskopi.....	16
2.3.2 Träckprov.....	17
2.4 Provhantering och analys av fekalt pH.....	17
2.4.1 Inom humanvården och på andra djurslag.....	18
2.4.2 Standardiserat protokoll för att mäta fekalt pH på häst.....	18
3 Material och metod.....	21
3.1 Litteratursökning	21
3.2 Insamling av träckprov.....	21
3.3 Analys av träckprov.....	22
3.4 Databearbetning och statistisk analys.....	22
4 Resultat.....	24
4.1 Temperatur och tid	24
4.2 Tid inom förvaringstemperatur	25
5 Diskussion	26
5.1 Resultat.....	26
5.2 Metod och material.....	29

6	Konklusion.....	34
	Referenser	35
	Tack	39

Tabellförteckning

Tabell 1. Metoder för att mäta pH-värde i hästräck i 16 olika studier, delvis modifierad efter Hydock et al. (2014).....	19
Tabell 2. Alla pH-mätningar som utförts vid specifika tidpunkter för respektive typ av förvaring av träckprov efter provtagning	22
Tabell 3. Typ av och tid för förvaring av träckprover före pressning av vätska för analys av pH-värde.....	23
Tabell 4. Förtydligande av förkortningar för benämning av behandlingar av träckprov ...	23
Tabell 5. Medelvärde för pH med standardavvikelse för de olika behandlingarna (temperatur, tid samt kombinationer mellan temperatur och tid). Antal prov för varje behandling.	24

Figurförteckning

Figur 1. Lådagrammet visar hur kombinationen av temperatur och tid för förvaring av prover påverkade träckens pH. På y-axeln utläses pH-värden och på x-axeln behandling. Linjen i lådan representerar medianen och krysset i lådan representerar medelvärdet. Lådan representerar 50% av alla mätvärden och är placerad mitt emellan första och tredje kvartilen. Förkortningar som gäller är referensprov (REF), 2 timmar i rumstemperatur (R2), 2 (K2), 4 (K4), 12 (K12), 24 (K24) och 48 (K48) timmar i kylskåp samt 24 (F24) och 48 (F48) timmar i frys. a, b, c, d, e, f anger behandlingar som är statistiskt skilda vid $p < 0.05$ 25

Förkortningar

FOS	Fruktooligosackarider
GLMM	Generalized linear mixed model
MOS	Mannanoligosackarider
SAS	Statistical Analysis System
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
VFA	Flyktiga fettsyror

1 Inledning

En enkel och icke invasiv metod som ofta används för att beskriva hästens mag-tarmhälsa är pH-mätning i träck (van den Berg et al. 2013; Hydock et al. 2014). Mätning av pH i träck kan användas som diagnostiskt verktyg framför allt vid problem lokaliserat i hästens mer distala delar av det gastrointestinala systemet, exempelvis vid tillståndet grovtarmsacidosis. I studier har pH i träck använts som indikator vid diarré (van den Berg et al. 2013), grovtarmsacidosis och fång (Davies et al. 2021).

I dagsläget finns dock inget standardiserat protokoll för analys av pH i träck från häst (Hydock et al. 2014). Metoderna för pH-mätning som beskrivs i litteraturen varierar mellan olika studier och det saknas ett mer standardiserat protokoll för mätning av fekalt pH där parametrar som hur lång tid (timmar, dagar, månader) och i vilken temperatur provet förvaras har föreslagits kunna tänkas påverka pH-värdet (Hydock et al. 2014). En standardisering av provhanteringen, både vid insamling av prover och vid analys, är viktigt för att få korrekta mätvärden och rapportera representativa och jämförbara resultat (Hydock et al. 2014).

För att undersöka faktorer som skulle kunna påverka resultatet vid analys av pH i träck, och därmed inkluderas som ytterligare parametrar i ett standardiserat protokoll, utfördes en metodstudie omfattande hur provets förvaring under olika lång tid och i olika temperatur påverkade pH i träck från häst.

1.1 Syfte och frågeställningar

Detta självständiga arbete inom djuromvårdnad syftade till att undersöka hur temperatur (temperaturen som proverna förvarades i från provtagning till analys) och tid (tiden från provtagning till analys) påverkade pH-värdet i träck från häst. Metodstudien undersökte om och hur pH-värdet i träcken förändrades beroende på olika behandling. Nedan följer frågeställningarna för arbetet.

- Hur påverkas pH i träck av provförvaring i kylskåp?
- Hur påverkas pH i träck av provförvaring i frys?
- Hur påverkas pH i träck av tid från provtagning till analys?
- Hur skiljer sig resultatet av pH-mätning vid olika tid och temperatur jämfört med prov analyserat direkt efter provtagning?

2 Bakgrund

2.1 Olika faktorer som påverkar pH i hästens mag-tarmkanal

Normalt kan pH-värdet i hästens mag-tarmkanal variera mellan lägre värden, runt pH 2, i proximala delar såsom körtelslemhinnan i magsäcken och högre värden mer distalt i mag-tarmkanalen, upp till pH 8 i träcken (Richards et al. 2006; Bell et al. 2007).

Det finns olika faktorer som visat sig påverka pH i träck hos häst. Yttre faktorer som visat sig påverka är typ av foderstat och utfodringsrutiner. Inre faktorer som visat sig påverka är kön och ålder.

2.1.1 Utfodring

Effekten av att komplettera en foderstat baserad på lusern med valsat korn, majs, skalad havre och havre på stärkelsesmältbarheten och jäsningsprodukterna i grovtarmen undersöktes hos 20 valacker (Hussein et al., 2004). Analys av pH och koncentrationen av flyktiga fettsyror (VFA) i träcken genomfördes och resultatet visade att spannmål som komplement i foderstaten minskade pH i träcken till 6.74 från 7.04 som gällde för kontrollgruppen som utfodrades enbart med lusern (Hussein et al. 2004). Det visade sig även att inklusion av korn i foderstaten resulterade i lägst pH på 6.64 och havre gav högst pH på 6.80 av de undersökta spannmålen, inte inräknat kontrollgruppen (Hussein et al. 2004).

Effekten på fekalt pH och bakteriepopulationen i träcken vid byte mellan en betesbaserad foderstat och en foderstat innehållande kraftfoder studerades av van den Berg et al. (2013). Hästarna studerades vid två foderstatsbyten (van den Berg et al. 2013). Första bytet var då hästarna gick från en betesbaserad foderstat till en kontrollerad foderstat innehållande kraftfoder. Det andra bytet var då hästarna gick tillbaka till betesbaserad foderstat från den kontrollerade foderstaten innehållande kraftfoder. Grundförutsättningen för hästarna i studien var fri tillgång på bete bestående av engelskt rajgräs (*Lolium perenne*) och vitklöver (*Trifolium repens*) (van den Berg et al. 2013). Den kontrollerade foderstaten bestod av konserverat vallfoder i form av ensilerad lusern (*Medicago sativa*) och ängshö samt kraftfoder

bestående av korn och pelleterat kraftfoder (van den Berg et al. 2013). Förhållandet mellan kraftfoder och konserverat vallfoder i foderstaten ökade successivt under försökstiden och fekalt pH analyserades dagligen (van den Berg et al. 2013). Resultaten visade att träck-pH ökade vid byte från bete (6.18) till en kontrollerad kraftfoderbaserad foderstat (pH 6.37 en dag efter bytet). Fram till fem dagar efter foderbytet var det en successiv reduktion av pH-värdet som sedan stabiliserades och därefter återgick till ursprungsvärdet (van den Berg et al. 2013). Vid det andra bytet då hästarna gick tillbaka till bete ökade pH-värdet igen och då till ett värde på 6.45 (van den Berg et al. 2013).

För att se hur hästens mag-tarmkanal påverkas av olika foderstater utförde de Fombelle et al. (2003) en studie där två foderstater jämfördes. Enligt författarna fanns ett samband mellan typ av foderstat och uppmätt pH i mag-tarmkanalens olika delar. Foderstat D1 bestod av fiberrik pellets och halm och foderstat D2 bestod av ängshö och pellets rik på spannmål (de Fombelle et al. 2003). Mätvärden av pH för foderstat D1 var 5.9 i duodenum, 6.9 i jejunum och 7.2 i ileum (de Fombelle et al. 2003). För foderstat D2 mättes pH till 6.6 i duodenum, 7.2 jejunum och 7.4 i ileum (de Fombelle et al. 2003). Resultatet visade att pH förändrades beroende på anatomisk lokalisation i mag-tarmkanalen. Lägst pH noterades i magsäcken och högst pH mättes i jejunum-ileum. Genom hela grovtarmen var pH i genomsnitt 6.1–6.6 för de båda foderstaterna, med undantag för lilla kolon där D2 gav ett lägre pH-värde.

I en *in vivo* studie på hästar undersöktes smältbarheten av enskilda växtfibrer (Brøkner et al. 2012). Studiepopulationen bestod av fyra hästar. Resultatet visade att intag av ett mål av icke processat korn var tillräckligt för att minska pH-värdet i cecum jämfört med andra foderstater. I studien redovisades lägsta uppmätta pH i cecum för de olika typerna av foderstat. Foderstaten baserad på oprocessat korn resulterade i lägst pH. Med en foderstat baserad på hö var lägst uppmätt pH 6.53 och för en foderstat baserad på icke processat korn var lägsta pH 6.38.

Vid överkonsumtion av en stärkelsebaserad foderstat undersöktes hur probiotika kunde öka smältbarhet och minska risken för acidosis (Swyers et al. 2008). Studiepopulationen bestod av 15 valacker. I studien analyserades bland annat fekalt pH. För insamling av träckprov fick hästarna i studien bära en sele som fångade upp träcken över dygnet. Ur träcken som fångades upp i selen samlades fekalt prov in vid tre tillfällen varje dag (0700, 1200, och 1600 h). Mätning av fekalt pH utfördes inom 30 minuter från provinsamling (Swyers et al. 2008). För varje prov utfördes tre upprepade mätningar för att få fram ett medelvärde. Resultatet var att lägst pH mättes i träck som samlades in 0700 h, alltså 14 timmar efter senaste foderintag, och uppmätt pH-värde var då mellan 6.35 och 6.5.

Fekalt pH och grovtarmens hälsa undersöktes gällande påverkan av olika kosttillskott till häst (Johnson & Rossow 2019). I studien jämfördes två kosttillskott. Kosttillskott SP (Smartpak) i pelletsform innehöll en blandning av

bakterier (*Lactobacillus acidophilus*), MOS (mannanoligosackarider) och FOS (fruktooligosackarider). Kosttillskott PP (Platinum Performance) i pulverform innehöll en blandning av jästsvamp (*Saccharomyces boulardii*) och bakterier (*Lactobacillus delbrueckii*). Johnson och Rossow (2019) samlade in träck genom rektal provtagning. Insamling av träckprov och mätning av pH) utfördes 13 timmar efter foderintag (Johnson och Rossow, 2019). I studien konstaterades att kosttillskott SP resulterade i en ökning av fekalt pH till 7.03 från 6.89 för kontrollgruppen och att kosttillskott PP gav liten effekt på fekalt pH. Kosttillskott PP kunde dock tolkas som mer skadlig för hästen jämfört med kosttillskott SP och kontrollgrupp utan kosttillskott på grund av lägre smältbarhet och ändå viss sänkning av fekalt pH.

2.1.2 Kön och ålder

Fekalt pH kan användas för att bedöma hästens mag-tarmhälsa (Johnson & Rossow 2019). Resultatet vid mätning av fekalt pH kan användas för bedömning av enskilda individer men bör inte jämföras mellan olika individer (Johnson & Rossow 2019). Detta eftersom författarna visade att pH i träcken kunde variera beroende på kön och ålder. För valacker var pH 7.1 och för ston 6.8. I studiens kontrollgrupp där hästarna inte utfodrades med kosttillskott och var i åldrarna 6–24 år noterades att yngre hästar hade ett mer neutralt fekalt pH än äldre hästar (Johnson & Rossow 2019). I en annan studie (Williamson et al. 2007) kunde man däremot inte visa att vare sig ålder eller kön på hästarna påverkade fekalt pH, i denna studie var hästarna i åldrarna 4–14 år gamla.

2.2 Association mellan förändrat pH och mag-tarmproblematik hos häst

Olika tillstånd av mag-tarmproblematik som visat sig påverka pH i träck hos häst är diarré, grovtarmsacidosis och magsår.

2.2.1 Diarré

Hästar med osmotisk diarré har rapporterats ha ett fekalt pH på över 7 (Lindroth et al. 2022). Vid pH-mätning i grovtarmen kan uppmätt pH-värde lägre än 6.0 associeras med osmotisk diarré (van den Berg et al. 2013). Vid mycket vattnig diarré kan den snabba förlusten av enterisk vätska leda till hypovolemisk chock och död på grund av uttorkning (Kauter et al. 2019). Akut diarré kan vara tecken på kolit som är livshotande (Shaw & Stämpfli 2018). Det kan vara svårt att diagnostisera varför en häst får akut diarré då olika anledningar till diarré har liknande kliniska symtom (Kauter et al. 2019).

2.2.2 Grovtarmsacidosis

Grovtarmsacidosis är ett tillstånd då laktatproducerande bakterier sänker pH i grovtarmen och vid ett pH lägre än 6.0 kan hästen diagnostiseras med grovtarmsacidosis (Davies et al. 2021). Grovtarmens pH kan reduceras på grund av ökad produktion av flyktiga fettsyror (VFA) (Davies et al. 2021). Vid ett överintag av kolhydrater som stärkelse eller oligofruktos sjunker pH-värdet till ett värde mellan 4.0 och 5.0 i grovtarmen vilket beror på ökad bildning av laktat (Milinovich et al. 2006). Foderstater innehållande mycket kraftfoder och täta kraftfodergivor kan orsaka hälsoproblem hos hästen genom förändrad bakteriepopulation i grovtarmen och därmed grovtarmsacidosis (Davies et al. 2021). Redan efter fem timmar med intensiv utfodring av kraftfoder påverkas bakteriepopulationen i grovtarmen (Davies et al. 2021). Miljön som då skapas är gynnsam för laktatproducerande bakterier och dessa ökar i antal. Detta innebär i sin tur en ogynnsam miljö för de bakterier som fermenterar fiber. Förändringen i bakteriepopulationen kan leda till grovtarmsacidosis med lågt pH (<6.0) i grovtarmen (Davies et al. 2021).

Grovtarmsacidosis kan även leda till fång (Davies et al. 2021) vilket kan resultera i en överväxt av grampositiva bakterier samt avdödning av gramnegativa bakterier (van den Berg et al. 2013). Fång är ett allvarligt och vanligt tillstånd av inflammation i lamellagret i hästens hov (Elliott & Bailey 2006; Crawford et al. 2007; Milinovich et al. 2007). Sjukdomen kan leda till kvarstående hälta då vävnad i hoven skadas permanent och rotation av hovbenet uppstår om fästet mot kringliggande vävnad kollapsar (Elliott & Bailey 2006).

2.2.3 Magsår

Vid undersökning av unga krubbitande hästar upptäcktes att majoriteten av dessa visades ha magsår och/eller inflammation i slemhinnan i magsäcken (Nicol et al. 2002). Vid mätning av fekalt pH hos de unga krubbitande hästarna var pH-värdet lägre (6.07) jämfört med gruppen av unga hästar som inte var krubbitare (6.58) (Nicol et al. 2002). Dock kunde ingen koppling ses mellan fekalt pH och bedömningen av magsår via gastroskopi. Nicol et al. (2002) kunde inte heller se att behandling med antacid diet (125 g Neighlox per dag) påverkade fekalt pH. Motsatta resultat har dock förekommit i en annan studie (Johnson et al. 1998), som fann att ett fekalt pH under 6.2–6.3 associerades med en snabb ökning av förekomst av stereotypa beteenden, som inkluderade bland annat krubbitning. Johnson et al. (1998) kopplade en ökad giva av kraftfoder till ett minskat fekalt pH. Resultatet visade också att behandling med antacid diet (Founderguard) ökade fekalt pH efter ökad utfodring av kraftfoder.

Magsår hos högpresterande tävlingshästar ökar vid en foderstat rik på spannmål och ökad magsyraproduktion under träning (Al Jassim & Andrews 2009). Även en foderstat med låg andel fiber kan öka risken för magsår eftersom en liten mängd

fiber leder till minskad salivproduktion som i sin tur medför minskat skydd mot syra i magsäcken (Al Jassim & Andrews 2009).

I den nedre delen av magsäcken utsätts körtelslemhinnan kontinuerligt för syra som ger ett pH mellan 1 och 3 (Sykes et al. 2015). För körtelslemhinnan i den nedre delen av magsäcken är patologin för magsår inte klarlagd (Sykes et al. 2015). Magsår i nedre delen av magsäcken tros uppkomma genom att körtelslemhinnans försvarsmekanismer bryts ned och då exponeras körtelslemhinnan för det sura maginnehållet (Sykes et al. 2015).

Magsår i övre delen av magsäcken, där väggen består av skivepitelslemhinna, uppstår då den exponeras för syra vilket kan bero på flera orsaker (Sykes et al. 2015). Sykes et al. (2015) beskrev att det finns en tydlig koppling mellan träning och ökad exponering av syra för skivepitelslemhinnan i övre delen av magsäcken. I gångarter snabbare än skritt ökar det intraabdominella trycket (Sykes et al. 2015). Skivepitelslemhinnan exponeras då för surt innehåll som trycks upp proximalt i magsäcken (Sykes et al. 2015).

2.3 Metoder för att mäta pH i olika delar av mag-tarmkanalen

Vid diagnostisering av mag-tarmproblematik finns olika metoder vilka kan innebära varierande grad av invasivt ingrepp och komplexitet. Mätning av pH i samband med mag-tarmproblematik kan göras via gastroskopi och i träckprov.

2.3.1 Gastroskopi

Gastroskopi är den mest exakta metoden för att diagnostisera magsår på häst (Sykes & Jokisalo 2014) och kan även användas vid pH-mätning av magsäcksinnehåll (Woodward et al. 2014). För att kunna utföra gastroskopi behöver hästen fasta i minst 16 timmar om den utfodras med en grovfoderbaserad foderstat. Vid för kort tid av fasta kan foder finnas kvar i magsäcken vilket begränsar möjligheten att inspektera slemhinnan i magsäcken och diagnostisering. Vid gastroskopi kan magsäcken fyllas med luft via biopsikanalen i instrumentet, detta för att kunna göra en grundlig undersökning av hela magsäcken (Sykes & Jokisalo 2014). I en studie av Woodward et al. (2014) aspirerades magsäcksvätskan genom biopsikanalen innan inblåsning av luft och sköljning med vatten. Mätning av pH genomfördes inom 30 minuter på den aspirerade magsäcksvätskan (Woodward et al. 2014).

Kontinuerlig pH-mätning i magsäcken har utförts under 24 timmar (Merritt et al. 2003) och upp till 72 timmar (Husted et al. 2008) med en antimon-pH-elektrod genom utveckling av spänning mellan två poler (Merritt et al. 2003; Husted et al. 2008). I studien utförd av Husted et al. (2008) användes elektroden för att mäta pH

i både övre och nedre delen av magsäcken. Elektroden i den övre delen av magsäcken placerades med hjälp av en nasogastrisk matningssond och en folieballong för att hålla elektroden på plats i magsäcken och sonden suturerades fast i nosvingen (Husted et al. 2008). För att mäta pH i den nedre delen av magsäcken kan elektroden placeras med hjälp av ett gastroskop (Husted et al. 2008) eller kirurgi (Meritt et al. 2003).

2.3.2 Träckprov

Fekalt pH kan användas för att bedöma hästens mag-tarmhälsa, specifikt i grovtarmen (van den Berg et al. 2013; Johnson & Rossow 2019). Att mäta pH i träck är en enkel och icke invasiv metod (Hydock et al. 2014). Vid provtagning är det viktigt att undvika kontamination av träcken vid insamling (kontakt med okänt material som exempelvis spån, golv eller foderrester) och därför är det viktigt att träcken samlas in kort efter träckavgång och att provet tas från mitten av träckhögen (Hydock et al. 2014). Lindroth et al. (2021) lät djurägare samla in 250 gram träck direkt efter träckavgång. Djurägarna blev instruerade att använda rena engångshandskar och ta träck som inte kommit i kontakt med marken eller golvet, och pH mättes sedan på pressvätska från träckproven (Lindroth et al. 2021).

För att säkerställa att proverna inte kontamineras av marken/boxgolvet går det även att använda en uppsamlingssele som hästen har på sig över dygnet (Swyers et al. 2008).

En annan metod för att undvika kontaminering är att ta träckprov direkt från rektum. I studien av Johnson och Rossow (2019) samlades träckprovet in via rektalisering vilket grundades på slutsatser redovisade av Næsset och Austbø (2010). Slutsatsen i studien av Næsset och Austbø (2010) var att fekalt pH varierade beroende på om träcken togs via rektalisering eller från marken, men ingen information om hur pH varierade beroende på provtagningsmetod angavs. Vid insamling av rektalt prov bedömdes första näven träck som kontaminerad och den andra näven användes för mätning av pH efter att provet späts med destillerat vatten (Johnson & Rossow 2019).

2.4 Provhantering och analys av fekalt pH

I olika studier beskrivs olika metoder gällande provförvaring, provhantering och analys av fekalt pH. Sökning efter standardiserade protokoll har gjorts inom humanvården och för andra djurslag så som ko. Inom djursjukvården på häst finns ännu inget färdigt standardiserat protokoll för mätning av pH-värde i träck.

2.4.1 Inom humanvården och på andra djurslag

Samband mellan pH i våmmen och fekalt pH hos icke dräktiga och icke lakterande Holsteinkor har undersökts (Khorrami et al. 2022). Provinsamling utfördes genom rektalisering (Khorrami et al. 2022). Fekalt pH mättes i direkt anslutning till provinsamling genom införsel av pH-mätaren direkt i träckprovet (Khorrami et al. 2022). Mätningarna av pH upprepades tre gånger för varje prov (Khorrami et al. 2022). Författarna fann ett samband mellan pH i våmmen och fekalt pH hos korna.

Mätning av fekalt pH på kvinnor utfördes i en studie av Petry et al. (2012). Inför mätningen av pH fick patienterna själva placera färskt fekalt prov i behållare med anaerob miljö (Petry et al. 2012). Proverna förvarades i 4°C i maximalt 12 timmar innan leverans till laboratoriet och direkt vid ankomst togs proverna om hand och förvarades i -20°C fram till analys. Mätningen av pH utfördes sedan med en digital pH-mätare. Total tid från insamling av provmaterial fram till analys av pH angavs inte av Petry et al. (2012).

I en studie fick föräldrar samla in färskt fekalt prov från sina barn, det fekala provet lades direkt i frysen och förvarades i -20°C fram till analys (Guimber et al. 2010). Tid från insamling av prov fram till analys av prov nämndes inte i artikeln.

I en annan studie som också utförde mätning av fekalt pH på barn utfördes pH-mätning direkt i färskt fekalt prov (Mohan et al. 2004).

2.4.2 Standardiserat protokoll för att mäta fekalt pH på häst

Syftet i studien av Hydock et al. (2014) var att ta fram ett protokoll för pH-mätning i hästens träck då författarna framhävde avsaknaden av ett standardiserat protokoll. I studien undersöktes olika förhållanden av spädning av hästräck med destillerat vatten (ingen spädning, spädning 1:1, 1:2, och 1:3), samt tidens påverkan från start av spädning fram till pH-mätning. I studien genomfördes totalt 400 pH-analyser i hästräck. Studiepopulationen bestod av 20 hästar. Resultatet visade en större variation i pH då träcken späddes med lika del destillerat vatten (1:1) vid jämförelse med att inte späda eller att späda med de två alternativa förhållandena 1:2 och 1:3. Resultatet visade även att för att uppnå minimal variation i pH bör träcken inte spädas i vatten utan analyseras genom att ta prov på den fekala vätskan som utvinns genom att pressa träcken. Vidare visades att tiden (0, 1, 3, 5 och 10 minuter) inte medförde någon variation i pH när träckproverna inte späddes. Om spädning används bör tiden från start av spädning till provtagning vara tre minuter för att minska variationen i mätresultaten (Hydock et al. 2014).

En sammanställning av mätmetoder i olika studier fanns i Hydock et al. (2014) som lyfte problematiken med de olika metoderna. Författarna menade att metoderna var inkonsekventa. Vidare förtydligade författarna att det saknades information gällande förhållanden för träck och spädningsvätska vid eventuell spädning, tid från start av spädning fram till analys, metod för insamling av träckprov, om analys genomfördes på färskt eller fryst träckprov samt vilken typ av

pH-mätare som användes. Med detta som underlag understryker Hydock et al. (2014) behovet av ett mer standardiserat protokoll för mätning av pH i hästens träck.

I tabell 1 presenteras mätningar av resultatet i 16 olika artiklar som mätt pH i hästens träck. Resultaten av pH-mätningarna i dessa artiklar varierade med lägst värde på 3.5 och högst värde på 7.9. Metoden för pH-mätning i dessa artiklar varierade bland annat gällande typ av pH-mätare, om träckprovet spädades alternativt filtrerades, typ av vätska som användes vid eventuell spädning, förhållandet mellan träck och vätska vid eventuell spädning, tid från start av spädning till pH-mätning, metod för insamling av träckprov, förvaring av träckprov fram till mätning samt tid från insamling av prov fram till pH-mätning.

Tabell 1. Metoder för att mäta pH-värde i hästträck i 16 olika studier, delvis modifierad efter Hydock et al. (2014)

Referens	Spädning ¹	Tid ²	Förvaring ³	pH
Zeyner et al. (2004)	35 g träck:35 mL destillerat vatten	Svårt att tyda ⁴	Svårt att tyda ⁵	6.36–6.68
Berg et al. (2005)	1:1 dubbelt avjoniserat vatten	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	6.38–6.48
Richards et al. (2006)	10 g träck :10 mL destillerat vatten	Svårt att tyda ⁴	Svårt att tyda ⁵	5.5–7.9
Crawford et al. (2007)	1:1 avjoniserat vatten	Svårt att tyda ⁴	Svårt att tyda ⁵	6.18–6.98
Milunovich et al. (2007)	Inte angivet ⁷	Svårt att tyda ⁴	Svårt att tyda ⁵	~3.5–7.1
Swyers et al. (2008)	Inte angivet ⁷	inom 30 min	Svårt att tyda ⁵	6.52–6.63
Muhonen et al. (2008)	Inte angivet ⁷	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	6.4–6.6
Müller et al. (2008)	Pressad fekalvätska (ingen spädning)	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	6.07–6.36
Müller (2009)	Pressad fekalvätska (ingen spädning)	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	6.39–6.87
Willing et al. (2009)	5 g träck:20 mL vatten	Svårt att tyda ⁴	Frys (-20°C)	6.63–6.79
Goachet et al. (2010)	Filtrerat ⁸ (ingen spädning)	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	6.5–7.1
Siciliano & Schmitt (2012)	50 g träck:50 mL avjoniserat vatten	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	6.92–7.42
van den Berg et al. (2013)	300 g träck	Svårt att tyda ⁴	Frys (-20°C)	6.18–6.58
Glunk et al. (2013)	50 g träck:50 mL avjoniserat vatten	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	7.21–7.67
Hydock et al. (2014)	Ingen spädning, 1:1, 1:2 och 1:3 destillerat vatten	Maximalt ca 75 min	Svårt att tyda ⁵	5.89–7.90
Sadet-Bourgeteau et al. (2017)	Filtrerat ⁸ (ingen spädning)	Provanalys direkt ⁶	Provanalys direkt ⁶	6.4–7.0

¹Förhållande vid eventuell spädning, träck:spädningsvätska

²Tid från provinsamling till provanalys

³Förvaring från provinsamling till provanalys

⁴Information om tid från provinsamling fram till analys var svår att tyda eller saknades

⁵Information om förvaring av provet var svår att tyda eller saknades

⁶Provanalys direkt i anslutning till provinsamling

⁷Uppgift saknades om tillsats av vätska

⁸Erhöll provvätska genom att sila träcken med ett Blutex 100µm filter

Utifrån resultaten i studien av Hydock et al. (2014) presenterades ett protokoll för hur pH i hästens träck borde mätas. Punkter i protokollet inkluderade:

1. Utför kalibrering av pH-mätare innan analys.
2. Bered prov i rumstemperatur eftersom temperaturen påverkar pH.

3. Analysera pH direkt på pressvätska från träcken. Späd inte ut provet.
 - 3a. Om spädning görs ska metod noteras (förhållande träck:vatten).
 - 3b. Om spädning görs ska tid från start av spädning till analys noteras.
4. Blanda provet väl innan analys.
5. Kontrollera att pH-mätaren är helt täckt med fekal vätska.
6. Låt pH-mätaren stabiliseras innan avläsning.

Avslutningsvis nämner Hydock et al. (2014) att ytterligare studier behöver göras för att kunna förstå hur mätning av pH i hästens träck påverkas av tid, temperatur, koldioxidkoncentration i atmosfären, förvaring och hantering av träcken inför provtagning.

3 Material och metod

Arbetet baserades på en metodstudie med redan insamlade data från provtagning för pH i hästträck samt vetenskaplig litteratur vilken inhämtades från databaserna Google Scholar, PubMed, Primo och Web of Science.

3.1 Litteratursökning

I detta arbete har en litteratursökning utförts med syfte att hitta relevanta vetenskapliga artiklar för att få en nyanserad bild av ämnet och för att hjälpa till att besvara arbetets syfte och frågeställningar. Inläsnings- och insamlingsperiod till litteraturdelen pågick mellan januari och april 2023. Databaser som användes var Google Scholar, PubMed, Primo och Web of Science. Sökord som användes för att hitta relevanta artiklar var horse, equine, feces, faecal, defecation, dung, sample, pH, pH-measurement, acid och base. Med inriktning på ämnet eftersöktes artiklar om pH i mag-tarmkanalen, hästar, träckprov och provhantering. För artiklar som refererades till i arbetet gjordes ett urval där de artiklar som var vetenskapligt granskade, relevanta för ämnet och som publicerats efter år 2000 inkluderades. Valet av inkludering av endast vetenskapligt granskade artiklar gjordes då dessa har granskats kritiskt av ämnesexperter innan godkänd publicering. Avgränsningen till publikationer efter år 2000 gjordes för att hitta artiklar som var aktuella i tid och hade uppdaterad forskning. Undantag gjordes i de fall då nyare studier inte fanns att tillgå och då inkluderades studier publicerade innan år 2000.

3.2 Insamling av träckprov

Provinsamlingen ägde rum mellan april och december 2020. Enskilda träckprov från 105 hästar samlades in och förslöts i dubbla plastpåsar inom en till två minuter efter träckavgång. Totalt 300g träck samlades in från varje häst. För att motverka kontamination från boxgolvet togs proverna från centrum av träckhögen. Insamlingen utfördes vid sex olika tillfällen på 11 gårdar i Uppsala kommun. Alla hästar hölls i gräshage under dagtid och på separat box under nattetid. De var vuxna (4–21 år) och stod på en grovfoderbaserad foderstat som i detta arbete avser en foderstat innehållande >75 % grovfoder.

3.3 Analys av träckprov

Totalt utfördes 1470 analyser av pH i hästräck. I samband med varje provtagningstillfälle utfördes kalibrering av pH-metern samt kontrollmätningar i vatten i syfte att kontrollera pH-meterns funktion och korrekthet. Vid analys av mätningar både i kontroller och träckprover genomfördes tre upprepade mätningar per prov.

Proverna förbereddes genom att pressas i en handhållen potatispress och sedan analyserades pH-värdet i den fekala pressvätskan med hjälp av en pH-mätare med glaselektrod (WTW pH 315i, Weilheim, Tyskland). Vid provinsamling i stallet analyserades en åttondel av varje prov för pH direkt. I detta arbete definieras det prov som analyserades direkt efter provtagning, det vill säga inom 2–3 minuter från att hästen avgivit träck, som referensprov. En pH-mätning av träck förvarad i fast form i rumstemperatur utfördes efter 2 timmar på pressad vätska. Resterande provmaterial transporterades i en kylväska till Institutionen för husdjurens utfodring och vård på Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) där proverna förvarades i antingen kylskåp eller frys i fast form. Efter förvaring och inför pH-mätning pressades proverna. Träckproverna som förvarades i kylskåp togs ut för pressning och pH-mätning efter 2, 4, 8, 12, 24 och 48 timmar. Träckproverna som förvarades i frys togs ut för pressning och pH-mätning efter 24, 48 och 72 timmar samt 1, 3 och 6 månader. Temperaturen i respektive förvaring var för rumstemperatur 18–22°C, för kylskåp 4–6°C och för frys -18°C. Alla tidpunkter och temperaturer finns angivna i tabell 2.

Tabell 2. Alla pH-mätningar som utförts vid specifika tidpunkter för respektive typ av förvaring av träckprov efter provtagning

Förvaring	Förvaringstid före pH-mätning								
Referensprov (ingen förvaring)	0 h								
Rumstemperatur (18-22°C)	2 h								
Kylskåp (4-6°C)	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	48 h			
Frys (-18°C)				24 h	48 h	72 h	1 mån	3 mån	6 mån

3.4 Databearbetning och statistisk analys

Datamaterialet bestod av pH-värden som analyserats i hästräck vid olika mätpunkter avseende tid och förvaring i olika temperaturer. Tid avser tiden från provinsamling till analys. Temperatur avser temperaturen proverna förvarades i från provinsamling till analys. Med behandling menas provhantering avseende tid och temperatur.

Inför statistisk analys gjordes sortering och bearbetning av det redan insamlade datamaterialet. I detta arbete gjordes en avgränsning inför den statistiska analysen

och pH-mätningar som inkluderades var referensprov (REF), 2 timmar i rumstemperatur (R2), 2 (K2), 4 (K4), 12 (K12), 24 (K24) och 48 (K48) timmar i kylskåp och 24 (F24) och 48 (F48) timmar i frys. Totalt inkluderades 945 analyser. Valet av inkluderade mätningar och exkludering av övriga mätningar baserades på det som av författarna ansågs vara mest relevant i klinisk verksamhet. Inkluderade mätningar finns presenterade i tabell 3. Förkortningar för inkluderade mätningar finns presenterade i tabell 4.

Tabell 3. Typ av och tid för förvaring av träckprover före pressning av vätska för analys av pH-värde

Förvaring	Förvaringstid före pH-mätning				
Referensprov (ingen förvaring)	0 h				
Rumstemperatur	2 h				
Kylskåp	2 h	4 h	12 h	24 h	48 h
Frys	24 h				48 h

Tabell 4. Förtydligande av förkortningar för benämning av behandlingar av träckprov

Förvaring	0 h	2 h	4 h	12 h	24 h	48 h
Referensprov (ingen förvaring)	REF					
Rumstemperatur (R)	R2					
Kylskåp (K)		K2	K4	K12	K24	K48
Frys (F)					F24	F48

I detta arbete utfördes statistisk analys i den statistiska programvaran SAS version 9.4 för Windows (Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC, USA). En statistisk analys utfördes genom att inkludera mätvärden från de tre upprepade analyserna per prov. I SAS användes en generell linjär mixad-modell (GLMM) för att beräkna samband mellan fixa och randomiserade faktorer. Parametrar som inkluderades i analysen var tid och temperatur som fixa faktorer samt hästarna som enskilda individer vilket var en randomiserad faktor. Analys genomfördes för att undersöka interaktionseffekten mellan förvaringstemperatur och förvaringstid på pH-värdet. För att undersöka effekten av tid på pH i träck jämfördes pH-mätningar av olika tider inom varje specifik förvaringstemperatur. Inga samband för effekt av tid i rumstemperatur kunde analyseras eftersom det endast fanns en behandling i rumstemperatur. Medelvärden där $p < 0.05$ bedömdes som statistiskt säkerställt åtskilda.

4 Resultat

Resultatet visade att tid, temperatur samt interaktionseffekten mellan tid och temperatur påverkade pH-värdet i träckprov från hästar. Resultaten av pH-mätningarna uppvisade en variation i pH från lägst 5.59 (K2) till högst 7.76 (F24). Efter urval till metodstudien genomfördes statistisk analys på totalt 945 mätningar. Medelvärden av pH för respektive behandling presenteras i tabell 5.

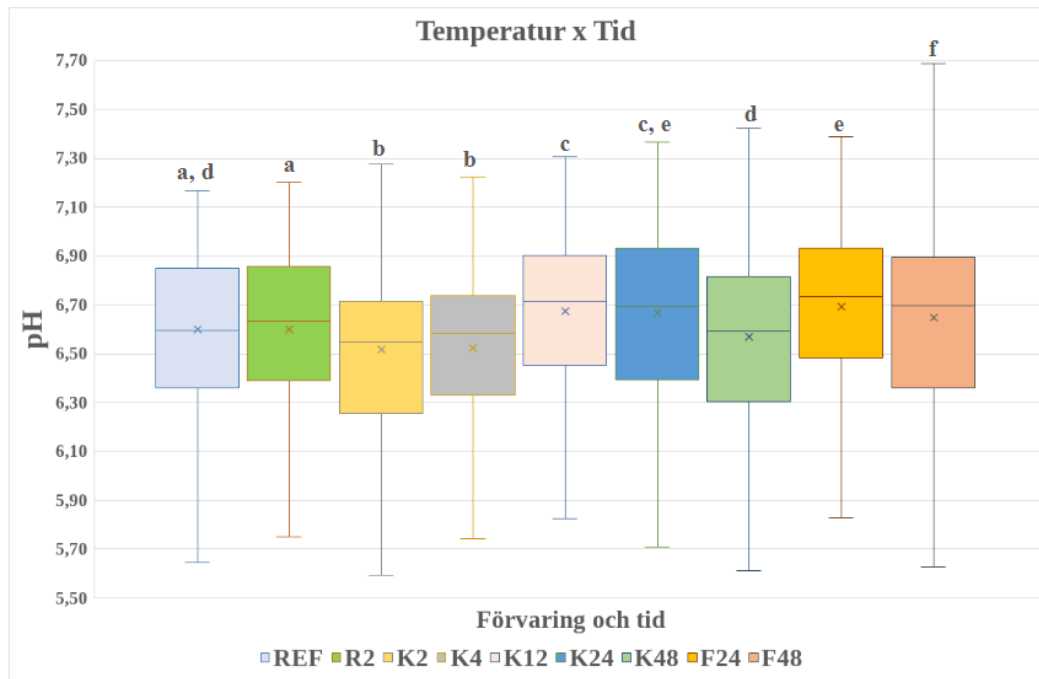
Tabell 5. Medelvärde för pH med standardavvikelse för de olika behandlingarna (temperatur, tid samt kombinationer mellan temperatur och tid). Antal prov för varje behandling.

Behandling	Medelvärde för pH ($\pm$ sd)	Antal prover
Referensprov (REF)	6.60 ($\pm$ 0.34)	n = 105
Rumstemperatur 2 h (R2)	6.60 ($\pm$ 0.37)	n = 105
Kylskåp 2 h (K2)	6.52 ($\pm$ 0.36)	n = 105
Kylskåp 4 h (K4)	6.52 ($\pm$ 0.36)	n = 105
Kylskåp 12 h (K12)	6.67 ($\pm$ 0.34)	n = 105
Kylskåp 24 h (K24)	6.67 ($\pm$ 0.38)	n = 105
Kylskåp 48 h (K48)	6.57 ($\pm$ 0.38)	n = 105
Frys 24 h (F24)	6.69 ($\pm$ 0.37)	n = 105
Frys 48 h (F48)	6.65 ($\pm$ 0.38)	n = 105

4.1 Temperatur och tid

Resultaten visade att det fanns en interaktionseffekt mellan provförvaringstemperatur och -tid som påverkade pH-värdet i hästräck ($p < 0.0001$, figur 1). Medelvärden för respektive tid och temperatur finns angivna i tabell 5. För behandlingen K2 var det en minskning på 0.08 pH-enheter jämfört med referensvärdet ($p < 0.0001$). För behandlingen K4 var det en minskning på 0.08 pH-enheter jämfört med referensvärdet ($p < 0.0001$). För behandlingen K12 var det en ökning på 0.07 pH-enheter jämfört med referensvärdet ($p < 0.0001$). För behandlingen K24 var det en ökning på 0.07 pH-enheter jämfört med referensvärdet ($p < 0.0001$). För behandlingen F24 var det en ökning på 0.09 pH-enheter jämfört med referensvärdet ($p < 0.0001$). För behandlingen F48 var det en ökning på 0.05 pH-enheter jämfört med referensvärdet ($p = 0.0006$). För behandlingen K48 fanns tendens till skillnad gentemot referensvärdet ($p = 0.0681$). För behandlingen R2

fanns ingen skillnad gentemot referensvärdet ($p=0.9722$). Spridningen av statistiskt skilda mätvärden var från 0.05-0.09 pH-enheter jämfört med referensvärdet vilket var inom den standardavvikelse som gällde för referensvärdet (± 0.34).



Figur 1. Lådagrammet visar hur kombinationen av temperatur och tid för förvaring av prover påverkade träckens pH. På y-axeln utläses pH-värden och på x-axeln behandling. Linjen i lådan representerar medianen och krysset i lådan representerar medelvärdet. Lådan representerar 50% av alla mätvärden och är placerad mitt emellan första och tredje kvartilen. Förkortningar som gäller är referensprov (REF), 2 timmar i rumstemperatur (R2), 2 (K2), 4 (K4), 12 (K12), 24 (K24) och 48 (K48) timmar i kylskåp samt 24 (F24) och 48 (F48) timmar i frys. a, b, c, d, e, f anger behandlingar som är statistiskt skilda vid $p < 0.05$

4.2 Tid inom förvaringstemperatur

Resultaten visade att det finns en effekt av provförvaringstid på pH-värdet i hästräck inom respektive förvaringstemperatur. Resultat redovisas i figur 1. Resultatet visade pH-värdet i prov som förvarats i kyl var detsamma ($p=0.58$) vid 2 och 4 h men att pH-värdet då var lägre än i referensprovet. Förvaring i kyl i 12 eller 24 h gav också samma pH-värde ($p=0.58$) men det var högre än i referensprovet. Förvaring i kyl i 48 timmar gav samma pH-värde som det var i referensprovet. Resultatet visade också att det fanns en effekt av tid för de prover som förvarades i frys ($p=0.0036$), där pH generellt sjönk med längre tids förvaring (figur 1).

5 Diskussion

5.1 Resultat

Metodstudie

Resultatet i denna studie visade att pH i träck från häst påverkades av interaktionseffekten av temperatur och tid. Resultaten visade också att fekalt pH kan påverkas av i vilken temperatur och under hur lång tid proverna förvarats i. Temperatur avser temperaturen de hela träckproverna förvarades i från provinsamling till analys. Tid avser tiden från provinsamling av träck till analys av pH. Resultaten visade att för korrekt mätning av pH i förhållande till referensvärdet (REF) kan träckprovet förvaras i rumstemperatur i två timmar (R2) eller i kyl 48 timmar (K48) innan analys.

De egna förväntningarna på studien var att fler varianter av provhantering skulle ge likvärdiga resultat jämfört med referensvärdet och skulle kunna användas vid pH-mätning i träck. Förväntningarna baserades på att det i litteraturen framställdes som att temperatur och tid var parametrar som inte skulle spela avgörande roll i sammanhanget. Det tycks som att man i studierna inte haft respekt för svårigheterna vid val av provhantering och studierna hade bristande reproducerbarhet. Troligen beror det på bristande kunskap om hur förvaringstid och -temperatur påverkar pH-värdet. Det kan även bero på tidsbrist i själva insamlings- och mättingsprocessen och att det blir mer praktiskt att utföra pH-mätningen senare.

Att R2 skulle kunna ge liknande värden som REF var något som kunde förväntas då de behandlingarna inte skiljde sig avsevärt i tid. Dock är det svårt att säga något om skillnaden i temperatur mellan proverna REF och R2 eftersom REF är tagen direkt vid träckavgång och därför anses vara nära kroppstemperatur vid mätning medan R2 förvarats i rumstemperatur.

Att endast en av alla behandlingar i kylskåp, K48, gav resultat jämförbara med referensvärdet var inte förväntat. Då en enda behandling stack ut jämfört med resultaten för resterande behandlingar i samma temperatur och att det fanns tendens till statistisk skillnad för K48 ($p=0.0681$) gör att författarna till studien önskar fler studier som kan bekräfta sambandet. Det är möjligt att kring K48 finns en brytpunkt

för när pH-värdet stabiliseras med förklaring av att mikrobernas aktivitet avstannar efter en tid i kallare temperatur. En eventuell trendlinje och brytpunkt för pH-värdet i träcken vid förvaring i kylskåp behöver studeras vidare. Utifrån resultaten i denna studie borde K48 i nuläget inte uppfattas som bekräftad säker metod för provhantering.

En hypotes var att det skulle vara möjligt att urskilja något slags mönster för skillnader mellan olika behandlingar, men det gick inte att uttyda från resultaten i detta arbete. Mönster som förväntades var till exempel ökad påverkan på pH med ökad temperatur och tid eftersom högre temperatur och längre tidsspann ger utrymme för bakterietillväxt som i sin tur kan påverka pH (Beckers et al. 2017; Davies et al. 2021).

Vid jämförelse mellan referensprovet och övriga prover var det relativt små skillnader i pH (intervallet 0.04-0.21 pH-enheter) i denna studie och därför kan påverkan av förvaringstemperatur och -tid på pH i träck ifrågasättas, även om resultaten visar på statistiska skillnader. Berg et al. (2005) presenterade att små skillnader i pH kunde ha biologisk betydelse för hästen. Hydock et al. (2014) refererade 0.08-0.10 pH-enheter som små skillnader. I litteraturen framgår inte att det skulle finnas vare sig biologisk eller klinisk betydelse vid variationer under 0.08 pH-enheter. I denna studie fanns variationer med statistisk signifikans från som minst 0.04 och som störst upp till 0.21 pH-enheter vilket är en större variation jämfört med vad som presenterades av Hydock et al. (2014). Resultaten i den föreliggande studien kan därmed utgöra en grund för valet av metod att förvara träckprov inför pH-mätning. Vid variationer under 0.04 pH-enheter går det inte att dra några slutsatser om resultaten har relevans utifrån den existerande kunskapen i litteraturen.

I flertalet publikationer används fekalt pH som en indikator vid bedömning av bland annat generell mag-tarmhälsa, diarré och grovtarmsacidosis (Hussein et al. 2004; Hydock et al. 2014; Johnson & Rossow 2019; Lindroth et al. 2022). Efter att ha läst artikeln av de Fombelle et al. (2003) reflekterades över hur ett värde för fekalt pH kan spegla hälsan för olika delar av hästens mag-tarmkanal. I studien av de Fombelle et al. (2003) presenteras uppmätt pH från olika delar av hästens mag-tarmkanal och det konkluderades att pH varierade genom mag-tarmkanalen. Man kan ifrågasätta hur fekalt pH kan reflektera status i hästens magsäck och diagnostisera eventuella magsår.

I nuläget är det otydligt när analys av fekalt pH kan användas i klinisk verksamhet och vad ett värde på fekalt pH innebär för hästens hälsa. Utifrån den litteratur som nämns i det här arbetet är bedömningen dock att det i dagsläget inte går att använda mätning av fekalt pH som metod för att ersätta exempelvis diagnostisering av magsår genom gastroskopi. Däremot anser författarna till det här arbetet att det hade varit intressant att undersöka om fekalt pH skulle kunna fungera som ett komplement till gastroskopi. Detta eftersom gastroskopi är en invasiv

metod, den är mer komplicerad och mer tids- och resurskrävande (Sykes & Jokisalo 2014) jämfört med mätning av pH i träck som är en icke invasiv och enkel metod (Hydock et al. 2014).

I en studie finns belägg för möjlig diagnostisering av grovtarmsacidosis genom fekalt pH (Milinovich et al. 2006). I den studien används dock inte något standardiserat protokoll som skulle kunna användas vid diagnostisering av grovtarmsacidosis och som skulle kunna stärka studiens tillförlitlighet för undersökta samband. Trots tydligare samband mellan fekalt pH och grovtarmsacidosis jämfört med samband mellan fekalt pH och magsår anses att det fortfarande behövs ytterligare studier som definierar detta.

Litteraturstudie

I artikeln om ett standardiserat protokoll för mätning av fekalt pH på häst skriver Hydock et al. (2014) att fler studier behövs gällande olika faktorer som kan påverka mätningarnas resultat. Hydock et al. (2014) nämner att just temperatur vid förvaring av provet samt tid från träckavgång fram till analys behöver studeras vilket var bakgrunden till att just dessa parametrar undersöktes i det egna arbetet.

Vid litteratursökningen eftersöktes studier inom andra djurslag och på humansidan för att se om det fanns standardiserade protokoll inom området för mätning av fekalt pH. Specifikt söktes metodstudier där faktorer som temperatur och tid undersöktes och som skulle kunna bidra med information till det självständiga arbetet och ett standardiserat protokoll för häst. Enligt författarnas kännedom fanns inte något standardiserat protokoll för mätning av fekalt pH som användes inom humanvården. I studier som inkluderade pH-mätning i avföring inom humanvården beskrevs varierande metoder och tyvärr var informationen om tillvägagångssätt i många fall begränsad. Det saknades information om tiden från insamling till analys av pH och metod för förvaring varierade (Guimber et al. 2010; Petry et al. 2012), alternativt angavs att analys av pH utförts i anslutning till provinsamling (Mohan et al. 2004).

Vid redovisning av provhantering av träck gällande temperatur och tid i olika studier (tabell 1) framgår det att presentation av metoderna som används i olika studier var inkonsekventa och ofullständiga. I studien utförd av Hydock et al. (2014) framgick det att det fanns en problematik med olika metoder vid spädning av fekal vätska vid mätning av pH i träck från häst. I den föreliggande studien har ytterligare artiklar inom ämnet lyfts och även dessa var i flera fall inkonsekventa gällande temperatur och tid i metodbeskrivningarna. Det fanns en del studier med tydlig metodbeskrivning men i dessa fall utfördes pH-mätning i direkt anslutning till provinsamlingen, dessa gav alltså ingen nyanserad bild av metodbeskrivning avseende förvaringstid och -temperatur. Gällande förvaring av prover förekom svårtolkade beskrivningar i sex av de sexton studierna. I resterande tio studier förvarades proverna i -20°C innan pH mättes alternativt inte alls då pH-mätningen

utfördes direkt i anslutning till provsamlingen. Willing et al. (2009) och van den Berg et al. (2013) var de två studier som använde förvaring av prover i -20°C. I sex av sexton av de nämnda studierna var det svårt att tolka tidsintervall mellan provinsamling och analys. Det var bara Hydock et al. (2014) och Swyers et al. (2008) som hade en annan tid än direkt efter provinsamling vilket tyder på att det finns få studier att jämföra varandra med avseende tidsaspekt. Det var inte alltid samma studier som hade svårtolkade beskrivningar av förvaring respektive tid.

En problematik som uppstår med bristfällig metodbeskrivning är att det blir svårt att upprepa studierna. En annan aspekt är att resultattolkning och jämförande av studiernas resultat försvåras, samt att det blir svårt att utvärdera resultat på individnivå vilket även Hydock et al. (2014) poängterade.

Författarna till detta arbete har inte funnit några studier som använt förvaring i kylskåpsmiljö (4–6°C). Det skulle kunna bero på att det var vanligast med mätning i direkt anslutning till provinsamling och att frys ofta anses kunna ge bättre hållbarhet och bevara bättre än kylskåp.

5.2 Metod och material

Metod

Vid avgränsning av det egna arbetet selekterades vissa mätvärden bort från datamaterialet då de ansågs vara mindre relevanta för klinisk verksamhet. I klinisk verksamhet kan prover behöva sparas och analyseras några timmar eller någon dag senare vid tillfällen då mer tid finns. Prover som samlats in flera månader tidigare är inte representativt för hästens hälsa i nutid. Prover som förvarades i kylskåp och analyserades efter 8 timmar valdes bort eftersom en normal arbetsdag sällan är längre än 8 timmar och därmed skulle tidsspannet hamna utanför arbetstimmarna. Likaså exkluderades prover som förvarades i frys och togs ut för analys efter 72 timmar samt 1, 3 och 6 månader. Tiden 72 timmar ansågs överflödigt eftersom mätningarna efter 24 och 48 timmar i frys inkluderades. I detta arbete studerades tider som visade hästens fekala pH i relativ närtid för att öka den kliniska relevansen. Tiderna 1, 3 och 6 månader skulle inneburi analys av redan insamlade prover och hur hästens fekala pH var en tid tillbaka och lämpar sig mer i studiesammanhang där träckprover samlas in över tid för att sedan analyseras vid ett tillfälle. Författarna till detta arbete har dock reflekterat över att tiderna 1, 3 och 6 månader hade kunnat vara aktuella i klinisk verksamhet. Sådana situationer kan vara då hästägare själva samlar in träck under en längre tid och sedan tar med en samling träckprov vid nästa besök på kliniken och därmed slipper besöka kliniken lika ofta. I framtida forskning skulle studier kunna göras av längre tid från insamling av prov fram till analys och då förslagsvis 1, 3 och 6 månader.

I det redan insamlade datamaterialet fanns ett urval av behandlingar för respektive temperatur och tid. Endast tiden 2 timmar i rumstemperatur undersöktes och det saknades tidsintervall som var längre likt behandlingarna i kylskåp och frys. Författarna till detta arbete tror att valet att inte ha längre tid i rumstemperatur kan ha baserats på hygieniska aspekter och av erfarenheten att organiskt material har begränsad hållbarhet, särskilt i rumstemperatur.

Det kan vara möjligt att de behandlingar som studerades i detta arbete inte täcker in specifikt avgörande brytpunkter för förändring av pH vid olika intervall från provinsamling fram till pH-mätning. Det skulle vara intressant att göra en studie med liknande upplägg som denna studie, avseende olika behandling av temperatur och tid, men att pH i träcken mättes kontinuerligt i stället för genom stickprov för att kunna se när de avgörande brytpunkterna sker och eventuellt utläsa ett mönster. Liknande pH-mätning som vid kontinuerlig mätning av pH i hästens magsäck (Merritt et al. 2003; Husted et al. 2008) kanske kunde vara ett alternativ vid en studie av kontinuerlig mätning av pH i hästräck.

Fler studier behöver göras gällande olika faktorer som kan påverka uppmätt fekalt pH hos häst. Dels fler studier gällande faktorer som typ av foderstat och utfodringsrutiner, dels faktorer i sammanhanget vid provinsamling och provhantering fram till analys som exempelvis metod för insamling av träckmaterial. Resultaten i den egna studien tros kunna bidra till en ökad förståelse kring hur pH i träckprover kan påverkas av temperatur och tid vid förvaring av träckprov. Det är möjligt att resultaten i denna studie skulle kunna komplettera rekommendationerna av Hydock et al. (2014) och även framtagandet av ett standardiserat protokoll för mätning av pH i hästens träck.

Vid insamling av träckprov går det att använda sig av rektalisering, uppsamling i en sele och genom insamling av träck från träckhög efter defekering varav det sistnämnda användes i det egna arbetet. Metoden valdes eftersom den är enkel och icke invasiv. De olika metoderna som beskrivs och används har olika grad av kontamination, praktikalitet, tidsåtgång och kostnader. Rektalisering för insamling av träckprov innebär troligen minst kontamination jämfört med de andra metoderna. Rektalisering anses vara ett mer invasivt ingrepp. Att rektalisera skulle även kunna anses vara svårare att utföra än de andra metoderna och mer resurskrävande då det behöver utföras av en veterinär, det behövs förbrukningsmaterial och eventuellt sedering. För en djurägare skulle det vara enkelt att samla in träckprov från hästens träckhög efter defekering, men det är relativt tidskrävande då hästägaren behöver invänta träckavgång. För uppsamling av träck i en sele kan det vara svårt att hitta en sele som passar hästen för att selen ska sitta bra och inte orsaka till exempel skav. En annan aspekt att ta hänsyn till kan vara svårigheten att samla upp träck i sele på ston då placeringen innebär att både träck och urin samlas upp och träckprovet då kontamineras. Vid etablering av ett standardiserat protokoll och praktisk tillämpning kan flera metoder för

provinsamling vara aktuellt. Om hästen är på klinik kan det vara aktuellt med rektalisering och det kan göras i samband med undersökning. I den situationen borde dock värdering göras huruvida det är lämpligt om det behövs sedering. Om hästen inte är på kliniken och djurägaren ska samla träckprov själv kan det vara aktuellt med insamling av träck från träckhög. Användning av sele skulle kunna vara lämpligt vid forskningsarbete.

Kontamination av träckprovet innan analys kan vara avgörande. I studien av Næset och Austbø (2010) konstaterades att fekalt pH varierar om träcken är tagen via rektalisering eller från marken på grund av kontaminering i det senare fallet. I studien av Davies et al. (2021) beskrevs att i grovtarmen kan pH förändras beroende på bakteriepopulation. Författarna till detta arbete tror att det kan finnas koppling mellan kontamination av träckprovet, en förändrad bakteriepopulation under förvaringstiden och förändrat pH i träcken. Som nämnt ovan kan träckprov samlas på olika sätt bland annat genom insamling av träck från träckhögar och genom rektalisering vilket den senare av dem anses vara den metod som innebär minst kontamination. Ytterligare faktorer som skulle kunna påverka kontamination är till exempel varierande grad för renlighet av förbrukningsmaterial i stallmiljö och kunskap hos djurägare. Lindroth et al. (2021) hänvisade djurägare att använda rena engångsplasthandskar vid insamling av prov. Renligheten av dessa kan troligen variera en del framför allt vid hemmabruk och i stallmiljö jämfört med klinikmiljö och därmed innebära varierande grad av renlighet. Behållare vid förvaring kan säkert också spela roll för kontamination. I denna studie användes plastpåsar. I en av studierna från humanvården beskrevs att det fekala provet hölls i en anaerob miljö för att minimera förändrad bakteriepopulation (Petry et al. 2012). Reflektion har även gjorts gällande hur väl en djurägare i jämförelse med utbildad djurhälsopersonal skulle kunna samla in prov med så lite kontamination som möjligt. Författarna tror inte att en djurägare skulle kunna uppnå lika god renlighetstandard som på klinik. För standardiserad provtagning av fekalt pH bör instruktion finnas gällande minimering av kontamination av provet.

Vid analys av prover i detta arbete utfördes tre upprepade mätningar för varje enskilt prov för att minska risken för slumpmässiga mätfel. Potentiella mätfel kan reduceras om ett medelvärde av flera mätningar används jämfört med ett enstaka mätvärde. I den statistiska analysen användes ett medelvärde av de tre proverna vilket av författarna anses ge större statistisk styrka. Liknande upplägg med upprepade mätningar har hittats i litteratur för studier på häst (Swyers et al. 2008) och på kor (Khorrami et al. 2022). I studien av Hydock et al. (2014) framgår inte att upprepade mätningar genomfördes. Rekommendationerna som presenterades i Hydock et al. (2014) inkluderade inte anvisning om huruvida upprepade mätningar skulle behöva utföras eller ej vid analys. Författarna av det egna arbetet anser att detta skulle behöva definieras i ett framtida standardiserat protokoll för mätning av pH i träck på häst.

Material

För att få ett relativt homogent studiematerial till det egna arbetet angavs en del kriterier gällande hästarna som inkluderades. De skulle inte ha några kända mag-tarmproblem, foderstaten skulle vara grovfoderbaserad (>75% av foderstaten var grovfoder i kg torrsustans) och hästarna hållas i gräshage under dagtid och på separat box under nattetid. För parametrarna ålder, kön och ras på hästarna i studien var gruppen inte homogen.

I denna studie användes redan insamlade data från hästar som var kliniskt friska. Inga hästar med gastrointestinala problem inkluderades och alltså fanns inga hästar konstaterade med varken grovtarmsacidosis, fång, diarré eller magsår. Som beskrivet i bakgrunden så kan mag-tarmkanalens balans och pH rubbas vid vissa sjukdomstillstånd. Det skulle vara intressant att studera behandling av träckprovet vid exempelvis grovtarmsacidosis då pH konstaterat är lägre i slutet av mag-tarmkanalen vid detta tillstånd. Som beskrivet i bakgrunden kan pH sjunka ytterligare vid grovtarmsacidosis beroende på vilken bakterietillväxt som sker och vilken dominerande bakterieprofil som finns (Milinovich et al. 2006; Davies et al. 2021). Möjligtvis skulle detta kunna påverka och vara avgörande vid provinsamling och förvaring av träckprov fram till mätning av pH i träcken. Det vore intressant att vidare undersöka om detta skulle kunna påverka hållbarheten av träckprovet, exempelvis om ett lägre pH-värde skulle kunna innebära snabbare förändring i pH och därmed ge kortare tidsspann för mätning.

I och med att alla hästar i den egna studien hölls på en grovfoderbaserad foderstat och studier har visat att foderstatens sammansättning påverkar pH (de Fombelle et al. 2003; Hussein et al. 2004; Brøkner et al. 2012; Van den Berg et al. 2013) vore det intressant att vidare undersöka hur fekalt pH skulle påverkas ifall hästarna hade blivit tilldelade en annan typ av foderstat. Möjligen skulle hållbarhet för träckprovet kunna variera beroende på foderstat med liknande motivering som stycket ovan att förändrad bakteriepopulation kan innebära förändrat pH (Milinovich et al. 2006).

I den egna studien var hästarna av olika kön och ålder. Litteratur gällande variation av pH beroende på kön och ålder är motstridig där det finns de som menar på att det finns ett samband mellan pH i träck och kön eller ålder (Johnson & Rossow 2019) medan andra studier inte påvisat det (Williamson et al. 2007). Det är i nuläget svårt att avgöra om kön och ålder skulle ha påverkat resultatet i det självständiga arbetet. Ytterligare studier skulle behöva göras för att uttala om eventuell påverkan av kön eller ålder på fekalt pH.

I denna studie fanns totalt 945 mätningar som inkluderades i den statistiska analysen och studiepopulationen var 105 hästar. Det är en relativt stor studiepopulation och ett stort datamaterial jämfört med de flesta andra studier inom ämnet och det ökar den statistiska styrkan. I Hydock et al. (2014) utfördes totalt 400 mätningar av fekalt pH vilket även det är ett relativt stort antal. Studiepopulationen i Hydock et al. (2014) var 20 hästar. I studier inom ämnet ligger

antal studieobjekt ofta mellan 4–35 hästar vilket av författarna anses vara relativt lite och gör författarna medvetna om att detta ger studierna sämre statistisk styrka.

För statistisk analys av interaktionseffekten mellan temperatur och tid var antalet prover samma för de olika behandlingarna. Vid databearbetning noterades dock att antal prover inom varje behandlingsgrupp för temperatur respektive tid inte var samma. Se fördelning av antal prov för varje behandling i tabell 5. Detta har troligen påverkat resultatet vid statistisk analys och kan innebära sämre statistisk styrka för studien.

6 Konklusion

Detta arbete har givit belägg för att förvaringstid och -temperatur för träckprov inverkar på pH-värdet i pressvätska från provet. Resultaten i det egna arbetet uppfattas kunna bidra till en ökad förståelse om hur träckprover behöver förvaras för att minimera påverkan på pH-värdet om pH inte kan mätas direkt vid provtagning av träcken. Det är möjligt att resultaten i denna studie skulle kunna komplettera rekommendationerna som presenterats och även bidra till framtagandet av ett standardiserat protokoll för mätning av pH i hästens träck. Resultatet vid statistisk analys i detta arbete var att interaktioner mellan temperatur och tid påverkade det uppmätta pH-värdet i hästträck. Baserat på de analyser som utförts i den här studien kan det påstås att för att få korrekta resultat kan träckprovet efter provtagning förvaras i rumstemperatur i 2 timmar eller i kylskåp i 48 timmar innan mätning av pH. Behandlingen som innebar förvaring 48 timmar i kylskåp borde dock i nuläget inte uppfattas som bekräftad säker. Författarna till detta arbete menar att vidare forskning behövs inom området gällande mätning av fekalt pH på häst. Under litteratursökningen konstaterades vikten av framtagandet av ett standardiserat protokoll för mätning av pH i träck från häst, eftersom metoder som beskrevs i studier varierade och var bristfälligt beskrivna. Tid och förvaringstemperatur är viktiga parametrar vid provförvaring vid mätning av pH i hästträck.

Referenser

- Al Jassim RA, Andrews FM. 2009. The Bacterial Community of the Horse Gastrointestinal Tract and Its Relation to Fermentative Acidosis, Laminitis, Colic, and Stomach Ulcers. *The Veterinary clinics of North America Equine practice*. 25(2):199–215. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2009.04.005>
- Beckers KF, Schulz CJ, Childers GW. 2017. Rapid regrowth and detection of microbial contaminants in equine fecal microbiome samples. Smidt H, editor. *PLoS ONE* [Internet]. [accessed 2023 Jan 20] 12(11):e0187044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187044>
- Bell R, Mogg T, Kingston J. 2007. Equine gastric ulcer syndrome in adult horses: A review. *New Zealand Veterinary Journal* [Internet]. [accessed 2023 Jan 31] 55(1):1–12. <https://doi.org/10.1080/00480169.2007.36728>
- Berg EL, Fu CJ, Porter JH, Kerley MS. 2005. Fructooligosaccharide supplementation in the yearling horse: Effects on fecal pH, microbial content, and volatile fatty acid concentrations^{1,2}. *Journal of animal science*. 83(7):1549–1553. <https://doi.org/10.2527/2005.8371549x>
- van den Berg M, Hoskin SO, Rogers CW, Grinberg A. 2013. Fecal pH and Microbial Populations in Thoroughbred Horses During Transition from Pasture to Concentrate Feeding. *Journal of equine veterinary science*. 33(4):215–222. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.06.004>
- Brøkner C, Austbø D, Næsset JA, Knudsen KEB, Tauson A-H. 2012. Equine pre-caecal and total tract digestibility of individual carbohydrate fractions and their effect on caecal pH response. *Archives of animal nutrition*. 66(6):490–506. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2012.740311>
- Crawford C, Sepulveda MF, Elliott J, Harris PA, Bailey SR. 2007. Dietary fructan carbohydrate increases amine production in the equine large intestine: Implications for pasture-associated laminitis¹. *Journal of animal science*. 85(11):2949–2958. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-600>
- Davies J, Thomas C, Rizwan M, Gwenin C. 2021. Development of Electrochemical DNA Biosensor for Equine Hindgut Acidosis Detection. *Sensors (Basel, Switzerland)*. 21(7):2319-. <https://doi.org/10.3390/s21072319>
- Elliott J, Bailey SR. 2006. Gastrointestinal Derived Factors Are Potential Triggers for the Development of Acute Equine Laminitis. *The Journal of nutrition*. 136(7S):2103S-2107S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.7.2103s>
- Fombelle A de, Varloud M, Goachet A-G, Jacotot E, Philippeau C, Drogoul C, Julliand V. 2003. Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets.

- Animal science (Penicuik, Scotland). 77(2):293–304.
<https://doi.org/10.1017/S1357729800059038>
- Glunk EC, Pratt-Phillips SE, Siciliano PD. 2013. Effect of Restricted Pasture Access on Pasture Dry Matter Intake Rate, Dietary Energy Intake, and Fecal pH in Horses. *Journal of equine veterinary science*. 33(6):421–426.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.07.014>
- Goachet A-G, Varloud M, Philippeau C, Julliand V. 2010. Long-term effects of endurance training on total tract apparent digestibility, total mean retention time and faecal microbial ecosystem in competing Arabian horses. *Equine Veterinary Journal* [Internet]. [accessed 2023 Mar 16] 42(s38):387–392.
<https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00188.x>
- Guimber D, Bourgois B, Beghin L, Neuville S, Pernes P, Ben Amor K, Goedhart A, Sijben J, Knol J, Gottrand F. 2010. Effect of multifibre mixture with prebiotic components on bifidobacteria and stool pH in tube-fed children. *British journal of nutrition*. 104(10):1514–1522. <https://doi.org/10.1017/S0007114510002461>
- Hussein HS, Vogedes LA, Fernandez GCJ, Frankeny RL. 2004. Effects of cereal grain supplementation on apparent digestibility of nutrients and concentrations of fermentation end-products in the feces and serum of horses consuming alfalfa cubes. *Journal of animal science*. 82(7):1986–1996.
<https://doi.org/10.2527/2004.8271986x>
- Husted L, Sanchez LC, Olsen SN, Baptiste KE, Merritt AM. 2008. Effect of paddock vs. stall housing on 24 hour gastric pH within the proximal and ventral equine stomach. *Equine veterinary journal*. 40(4):337–341.
<https://doi.org/10.2746/042516408X284673>
- Hydock KL, Nissley SG, Staniar WB. 2014. A standard protocol for fecal pH measurement in the horse. *The Professional animal scientist*. 30(6):643–648.
<https://doi.org/10.15232/pas.2014-01346>
- Johnson ACB, Rossow HA. 2019. Effects of two equine digestive aid supplements on hindgut health. *Translational animal science*. 3(1):340–349.
<https://doi.org/10.1093/tas/txy103>
- JOHNSON KG, TYRRELL J, ROWE JB, PETHICK DW. 1998. Behavioural changes in stabled horses given nontherapeutic levels of virginiamycin. *Equine veterinary journal*. 30(2):139–143. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1998.tb04473.x>
- Kauter A, Epping L, Semmler T, Antao E-M, Kannapin D, Stoeckle SD, Gehlen H, Lübke-Becker A, Günther S, Wieler LH, Walther B. 2019. The gut microbiome of horses: current research on equine enteral microbiota and future perspectives. *Animal Microbiome*. 1(1):14–14. <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0013-3>
- Khorrami B, Kheirandish P, Zebeli Q, Castillo-Lopez E. 2022. Variations in fecal pH and fecal particle size due to changes in dietary starch: Their potential as an on-farm tool for assessing the risk of ruminal acidosis in dairy cattle. *Research in veterinary science*. 152:678–686. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.10.001>
- Lindroth KM, Dicksved J, Pelve E, Båverud V, Müller CE. 2021. Faecal bacterial composition in horses with and without free faecal liquid: a case control study. *Scientific reports*. 11(1):4745–4745. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83897-4>

- Lindroth KM, Dicksved J, Vervuert I, Müller CE. 2022. Chemical composition and physical characteristics of faeces in horses with and without free faecal liquid - two case-control studies. *BMC veterinary research*. 18(1):2–2. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03096-1>
- Merritt AM, Sanchez LC, Burrow JA, Church M, Ludzia S. 2003. Effect of GastroGard and three compounded oral omeprazole preparations on 24 h intragastric pH in gastrically cannulated mature horses. *Equine veterinary journal*. 35(7):691–695. <https://doi.org/10.2746/042516403775696339>
- Milinovich GJ, Trott DJ, Burrell PC, Croser EL, Al Jassim RAM, Morton JM, Van Eps AW, Pollitt CC. 2007. Fluorescence in situ hybridization analysis of hindgut bacteria associated with the development of equine laminitis. *Environmental Microbiology [Internet]*. [accessed 2023 Mar 16] 9(8):2090–2100. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01327.x>
- Milinovich GJ, Trott DJ, Burrell PC, Van Eps AW, Thoenner MB, Blackall LL, Al Jassim RAM, Morton JM, Pollitt CC. 2006. Changes in equine hindgut bacterial populations during oligofructose-induced laminitis. *Environmental microbiology*. 8(5):885–898. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00975.x>
- MOHAN R, KOEBNICK C, SCHILDT J, MUELLER M, RADKE M, BLAUT M. 2008. Effects of Bifidobacterium lactis Bb12 Supplementation on Body Weight, Fecal pH, Acetate, Lactate, Calprotectin, and IgA in Preterm Infants. *Pediatric research*. 64(4):418–422. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318181b7fa>
- Muhonen S, Connysson M, Lindberg JE, Jullian V, Bertilsson J, Jansson A. 2008. Effects of crude protein intake from grass silage-only diets on the equine colon ecosystem after an abrupt feed change. *Journal of animal science*. 86(12):3465–3472. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0374>
- Müller CE. 2009. Long-stemmed vs. cut haylage in bales—Effects on fermentation, aerobic storage stability, equine eating behaviour and characteristics of equine faeces. *Animal feed science and technology*. 152(3):307–321. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2009.04.016>
- Müller CE, von Rosen D, Udén P. 2008. Effect of forage conservation method on microbial flora and fermentation pattern in forage and in equine colon and faeces. *Livestock science*. 119(1):116–128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.03.007>
- Nicol CJ, Davidson HD, Harris PA, Waters AJ, Wilson AD. 2002. Study of crib-biting and gastric inflammation and ulceration in young horses. *Veterinary record*. 151(22):658–662. <https://doi.org/10.1136/vr.151.22.658>
- Næsset, J.A., and D. Austbø. 2010. Using faecal pH to predict gut health in horses. The impact of nutrition on the health and welfare of horses. *EAAP Pub*. 128:123–127. doi:10.3920/978-90-8686-711-0
- Petry N, Egli I, Chassard C, Lacroix C, Hurrell R. 2012. Inulin modifies the bifidobacteria population, fecal lactate concentration, and fecal pH but does not influence iron absorption in women with low iron status. *The American journal of clinical nutrition*. 96(2):325–331. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.035717>
- Richards N, Hinch G, Rowe J. 2006. The effect of current grain feeding practices on hindgut starch fermentation and acidosis in the Australian racing Thoroughbred.

- Australian Veterinary Journal [Internet]. [accessed 2023 Jan 31] 84(11):402–407.
<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2006.00059.x>
- Sadet-Bourgeteau S, Philippeau C, Julliand V. 2017. Effect of concentrate feeding sequence on equine hindgut fermentation parameters. *Animal* (Cambridge, England). 11(7):1146–1152. <https://doi.org/10.1017/S1751731116002603>
- Shaw SD, Stämpfli H. 2018. Diagnosis and Treatment of Undifferentiated and Infectious Acute Diarrhea in the Adult Horse. *The Veterinary clinics of North America Equine practice*. 34(1):39–53. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2017.11.002>
- Siciliano PD, Schmitt S. 2012. Effect of Restricted Grazing on Hindgut pH and Fluid Balance. *Journal of equine veterinary science*. 32(9):558–561.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.01.004>
- Swyers KL, Burk AO, Hartsock TG, Ungerfeld EM, Shelton JL. 2008. Effects of direct-fed microbial supplementation on digestibility and fermentation end-products in horses fed low- and high-starch concentrates1. *Journal of Animal Science* [Internet]. [accessed 2023 Mar 16] 86(10):2596–2608.
<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0608>
- Sykes BW, Hewetson M, Hepburn RJ, Luthersson N, Tamzali Y. 2015. European College of Equine Internal Medicine Consensus Statement—Equine Gastric Ulcer Syndrome in Adult Horses. *Journal of veterinary internal medicine*. 29(5):1288–1299. <https://doi.org/10.1111/jvim.13578>
- Sykes BW, Jokisalo JM. 2014. Rethinking equine gastric ulcer syndrome: Part 1 - Terminology, clinical signs and diagnosis. *Equine veterinary education*. 26(10):543–547. <https://doi.org/10.1111/eve.12236>
- Williamson A, Rogers CW, Firth EC. 2007. A survey of feeding, management and faecal pH of Thoroughbred racehorses in the North Island of New Zealand. *New Zealand veterinary journal*. 55(6):337–341.
<https://doi.org/10.1080/00480169.2007.36790>
- Willing B, Vörös A, Roos S, Jones C, Jansson A, Lindberg JE. 2009. Changes in faecal bacteria associated with concentrate and forage-only diets fed to horses in training. *Equine Veterinary Journal* [Internet]. [accessed 2023 Mar 16] 41(9):908–914. <https://doi.org/10.2746/042516409X447806>
- Woodward MC, Huff NK, Garza J, Keowen ML, Kearney MT, Andrews FM. 2014. Effect of pectin, lecithin, and antacid feed supplements (Egusin®) on gastric ulcer scores, gastric fluid pH and blood gas values in horses. *BMC veterinary research*. 10 Suppl 1(Suppl 1):S4–S4. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-S1-S4>
- Zeyner A, Geißler C, Dittrich A. 2004. Effects of hay intake and feeding sequence on variables in faeces and faecal water (dry matter, pH value, organic acids, ammonia, buffering capacity) of horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* [Internet]. [accessed 2023 Mar 16] 88(1–2):7–19.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2004.00447.x>

Tack

Vi vill rikta ett stort tack till vår handledare Katrin Lindroth som försett oss med data till studien och som hjälpt oss genom hela arbetsprocessen. Även tack till vår ämnesexaminator Cecilia Müller. Tack till familj och vänner som stöttat oss och hjälpt till med korrekturläsning. Vi vill tacka våra djur; Bessan, Moritz, Strözzel, Axelsson, Björne och hästarna som muntrat upp och fått oss att ta pauser från skrivandet ♥.

Publicering och arkivering

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. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Du hittar en länk till SLU:s publiceringsavtal på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>.

☐ 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.

☒ Föreliggande arbete ska publiceras med 12 månaders fördröjning av fulltexten (tillfälligt läsningsembargo). Därefter ger jag/vi härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.