

## Slutrapport

### Bakgrund

Antimikrobiella läkemedel är ett av de mest betydelsefulla läkemedlen inom veterinärmedicinen. Hästar är generellt mycket känsliga för gastrointestinala störningar vid behandling med antimikrobiella medel vilket kraftigt begränsar utbudet av dessa till ett fåtal substansgrupper. Det är därför av största vikt att de antimikrobiella läkemedel som vi idag har tillgång till används på ett optimalt sätt både för att få ett bra behandlingsresultat, minska biverkningarna och för att motverka resistensutveckling eftersom olämpliga doseringsregimer är en bidragande orsak till uppkomsten av resistenta patogena mikroorganismer (Guillemont *et al.*, 1998, Toutain *et al.*, 2002).

Bensylpenicillin är det antibiotikum som används mest inom veterinärmedicinen i Sverige (SVARM, 2011) och även till häst i stor omfattning. Bensylpenicillin är effektivt mot de vanligaste patogena bakterierna som förekommer hos häst och den antibakteriella aktiviteten (ffa gram<sup>+</sup> bakterier) är relativt begränsad. Antibiotikum med smalt bakteriellt spektrum bör användas för att undvika allt för stor påverkan på normalfloran, vilket är viktigast ur resistenssynpunkt.

I Sverige finns idag två olika beredningar av bensylpenicillin (pc) tillgängligt, nämligen bensylpenicillinprokain (pc-prok) och bensylpenicillinnatrium (pc-Na). Pc-prok är ett svårslösligt salt som ges intramuskulärt (im) och fungerar därmed som ett depåpreparat. I muskeln sker en långsam frigörelse av både pc och prokain innan substanserna absorberas till blodbanorna. Den långsamma upplösningen av saltet gör att halveringstiden är lång och man behöver endast ge läkemedlet im en gång per dygn vilket är fördelaktigt när djurägaren utför uppföljande behandling. Pc-Na är ett lösligt salt och lösningen är godkänt för intravenös (iv) giva till häst men till gris och nöt är preparatet även godkänt för im administration. Då halveringstiden ( $t_{1/2}$ ) för bensylpenicillin efter i.v. giva är runt 50 min (Dürr, 1976; Love *et al.*, 1983) kommer koncentration snabbt sjunka och nivån hamnar under den som är effektiv för avdödning av bakterier. För att upprätthålla effekt krävs därför oftast upprepade doseringar av läkemedlet under ett dygn. Användandet av bensylpenicillin i.v. är begränsat till att behandla patienter på djursjukhus, eftersom i.v. behandling av häst endast får utföras av behörig personal.

Bensylpenicillin anses generellt att vara atoxiskt för däggdjur men kan dock orsaka både dödsfall och lidande för hästen på grund av att allvarliga skador förekommer i samband med en biverkningsreaktion som i dagligt tal kallas för ”penicillin-chock” (Tjälve, 1997; Olsén *et al.*, 2007). Prokain i för hög koncentration i blodet är troligen orsaken till de flesta reaktionerna även om allergisk anafylaktisk chock av penicillin också förekommer (Nielsen *et al.*, 1988; Olsén *et al.*, 2007). Risken för ”penicillin-chock” har troligtvis medfört en onödigt hög användning av kombinationen sulfonamid och trimetoprim vilket är olämpligt eftersom resistens lätt utvecklas mot dessa substanser.

Syftet med projektet var att undersöka om pc-Na kan användas intramuskulärt till häst i stället för pc-prokain. Användning av bensylpenicillin utan prokain utesluter risken för prokaintoxicitet vilket är angeläget med tanke på djurskyddet. Ökad användning av pc i stället för kombinationen sulfonamid och trimetoprim är angeläget för att motverka resistensutveckling. Ett flertal farmakologiska variabler evaluerades efter upprepade tillförelser av pc-Na. Dessa var farmakokinetiska parametrar, proteinbindning samt effekten på bakterier (PD, farmakodynamik) mätt som den tid den fria koncentrationen i plasma överstiger den lägsta koncentration som krävs för att inhibera bakterierna ( $fT > MIC$ ). Biverkningar som inflammation, ömhet och smärta i muskeln värderades genom klinisk bedömning och genom att använda tryckalgotometri som registrerar den mekaniska smärtröskeln (MNT, *Mechanical*

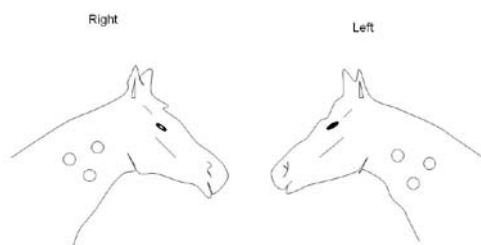
*Nociceptive Threshold*) (Kosek et al., 1993; Chesterton et al., 2007; Chaves et al., 2010). Även beteendestudier genomfördes för att bedöma eventuell smärta efter injektion av läkemedlet.

## Material och metoder

### Hästar och studiedesign

Åtta varmlodiga travare (sju ston och en valack), ålder 7 – 17 år, som vägde 471 – 581 kg ingick i studien. Hästarna var under försöket uppstallade i sin vanliga miljö och stod på halm, utfodrades med hö och havre och med fri tillgång till vatten. Försöket var godkänt av Djurförsöksetiska kommittén, Uppsala, Sverige (C8-88).

Varje häst fick pc-Na sju gånger, dosen var 15 mg/kg kroppsvikt (Geepenil vet., Orion Pharma) im var 12:te timme. Samtliga hästar fick även pc-prok fyra gånger, 21 mg/kg (Penovet vet. Boehringer Ingelheim) im var 24:e timme. Designen var upplagd enligt en så kallad *2-treatment, 2-period randomized cross over design*. Mellan varje behandlingsperiod var det 19 veckor. Behandlingen med pc-prok användes som kontroll för att kunna utvärdera eventuella skillnader i biverkningar. Hästarna injicerades i halsmuskulaturen på tre olika ställen, varannan gång på vänster eller höger sida (fig. 1).



**Fig. 1.** Markerade områden visar tre olika ställen på varje sida av halsen där im injektionerna gavs. Åtta hästar fick pc-Na (15 mg/kg) eller pc-prok (21 mg/kg) varannan gång antingen på vänster eller höger sida av halsen.

Klinisk bedömning och tryckalometri av injektionsområdena samt beteendestudier och blodprovstagning utfördes enligt separata protokoll (beskrivet för varje metod) under försöket.

### Blodprovstagning

Samtliga hästar fick en permanentkanyl i endera *vena jugularis* efter lokal smärtlindring med topikal bedövningskräm (Emla®, Astra Zeneca, Södertälje, Sverige, 25 mg/g lidokain och 25 mg/g prilokain). Insättande av kanylen skedde dagen innan första injektion 60 min efter applicering av lokalanestesimedlet.

Blodprov (7ml) togs innan första injektion (0-prov). Därefter togs prov efter 15 och 30 min samt efter 1, 2, 3, 5, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 72.25, 72.5, 73, 74, 75, 77, 80, 12, 84, 96, 108 och 120 h. Blodproven togs omedelbart före läkemedelsgivan samt tätare provtagningar efter 1: a och sista (7: e) injektionen. Allt arbete med blodproverna skedde med steril teknik. Efter att blodprov tagits spolades permanentkanylen med 5-8 ml natriumklorid. Blodet överfördes till förkylda heparineserade rör och förvarades på is tills centrifugering i 10 min, 1500 G i 4°C. Serum fördes över i förkylda 5 ml plaströr och förvarades i -80°C tills analys av läkemedel. Hela provhanteringen skedde med obruten kylkedja.

Prov togs från samtliga hästar vid alla tidpunkter men endast blodprover från hästar som fått pc-Na analyserades på sitt innehåll av pc. Blodprov från hästar som fått pc-prok togs enbart för att hästarna skulle behandlas på samma sätt vilket var viktigt för att kunna "blinda" försöket.

### Analys av penicillin

Till analysen användes vätskekromatografi kopplad till tandem masspektrometri (LC-MS/MS). Till 1,0 ml plasma sattes 100 µl intern standard (5000 ng benzylopenicillin-d7/ml), 200 µl milliQ-vatten och 3,0 ml acetonitril. Efter omblandning och centrifugering 10 min, 2000 g, avskiljdes acetonitrilfasen som indunstades med kvävgas vid 40°C till ca 500 µl. Lösningen filtrerades därefter och 10 µl av filtratet injicerades direkt i LC-MS/MS-instrumentet. De extraherade proven kromatograferades i en analytisk kolonn av märket Phenomenex® Luna (5 µm C18 100R, 50 x 2.0 mm) och den mobila fasen pumpades med en LC Surveyor MS Pump 2.3. Mobilfasen bestod av två lösningar; 0,1 % ättiksyra i milliQ-vatten (A) samt 0,1 % ättiksyra i acetonitril (B) med gradient. Flöde hastigheten för den mobila fasen var 200 µl/min. Jonernas masstal analyserades med en masspektrometer (TSQ Quantum Ultra). De joner och övergångar som analyserades var: penicillin G: precursor m/z 333[M-H]<sup>-</sup> → produkt m/z 192 och penicillin G-d7: precursor m/z 340[M-H]<sup>-</sup> → produkt m/z 199.

För beräkning av koncentrationer i plasmaprover upprättades en standardkurva inom det aktuella koncentrationsområdet 1 – 4000 ng/ml plasma. Kvalitetskontrollprover (QC, n=3) analyserades vid tre nivåer med följande resultat 15 ng/mL (12%); 105 ng/mL (8%) och 1508 ng/mL (3%).

### Farmakokinetisk analys

Plasmakoncentrationerna av pc plottades mot tiden för varje häst och data analyserades med hjälp av ett kommersiellt tillgängligt datorprogram (Win Nonlin 5.01, Pharsight Corporation). En non-kompartiment modell användes för analysen och beräkning av de farmakokinetiska parametrarna. Ytan under kurvan (AUC<sub>12h</sub>) beräknades med hjälp av trapetsmetoden från tiden för administrering till 12 h efter dosering. Tiden (T<sub>max</sub>) till högsta plasmakoncentrationen av pc (C<sub>max</sub>) under ett dosintervall samt de lägsta plasmakoncentrationerna (C<sub>min</sub>) avlästes från de plottade tid-koncentrationskurvorna. Halveringstiden beräknades med hjälp av sambandet  $t_{1/2} = \ln 2 / \text{terminala hastighetskonstanten } (\lambda)$ .

### Plasmaproteinbindning

Blodprov med hög pc-koncentration (1 h efter administrering av pc-Na) och med låg pc-koncentration (8 h efter administrering av pc-Na) togs i hepariniserade blodprovsrör (10 ml) och centrifugerades omedelbart i 37 °C, 1500 g, under 20 minuter. Plasman ultrafiltrerades (Centrifree YM-30, 1 mL plasma, fyrdubbla prover för varje häst) i 37 °C, 1500 g, under 25 min. Filtratet frystes omedelbart i -80 °C för förvaring tills analys av pc.

Pc- bindningen till plasmaproteiner beräknades med hjälp av följande samband:

$$\text{Proteinbindning (\%)} = 100 \times [\text{totala plasmakoncentrationen (fritt + bundet)} - \text{fria koncentrationen (medelvärde av konc. i ultrafiltratet)} / \text{totala plasmakoncentrationen}]$$

I ett tidigare hållbarhetsförsök visades att pc var stabilt i minst 60 min vid 37 °C när provtagningen och hantering var steril. Ingen bindning av pc till Centrifree YM-30 kunde påvisas efter centrifugering av pc löst i steril buffert (Hank's Balanced Salt Solution, HBSS, 10 mM HEPES pH 7.4).

### Farmakodynamiska (PD) beräkningar

*Streptococcus equi* subsp. *equi*, *Streptococcus zooepidemicus* och *Staphylococcus aureus* valdes som representativa bakterier eftersom de normalt är känsliga för pc och i Sverige orsakar dessa bakterier ofta infektioner hos häst. MIC för pc är 32-125 ng/ml för *Staphylococcus aureus* (EUCAST) och ≤15 ng/ml för *Streptococcus equi* subsp. *equi*, *Streptococcus zooepidemicus* ((Ensink et al., 1993; Trollenier et al., 2000; Schwarz et al., 2007). I beräkningarna användes MIC-värdena 15 och 125 ng/ml.

Kombinationen av farmakokinetik (PK) med bakteriens känslighet för antibiotika uttryckt som MIC (används som farmakodynamisk parameter, PD) benämns PK/PD-index och är ett effektmått som anses predektera för klinisk effekt. PK/PD-index för pc är  $fT > MIC$ , vilket är den tid som den fria koncentrationen av pc i plasma överstiger MIC (Toutain *et al.*, 2002).

För varje häst beräknades  $fT > MIC$  med hjälp av ekvationen:

$$\lg C_{MICfree} = \lg C_{0free} - (\lambda / 2,303)t$$

$\lg C_{MICfree}$  är logaritmen av MIC-värdet för pc och aktuell patogen (den fria koncentration i plasma som inhiberar bakterien),  $\lg C_{0free}$  är den beräknade fria plasmakoncentrationen vid tiden 0 och  $\lambda$  är den terminala fasens hastighetskonstant.  $fT > MIC$ , den tid som den fria plasmakoncentrationen är över MIC uttrycks i procent av ett dosintervall (12 h).

## Smärtevaluering

### *Klinisk bedömning*

Hästarna bedömdes 24 h efter den sista injektionen av två personer ovetande om vilken behandling hästarna fått. Platsen för injektionerna var markerad på halsen (Fig. 1) och graden av svullnad och smärta noterades genom visuell inspektion och palpation enligt ett standardiserat protokoll.

### *Tryckalgometri*

Registrering av MNT utfördes med hjälp av en tryckalgoter (Somedic AB), tre upprepade mätningar på varje mätställe. Mätställena var vid de tre olika injektionsställena på båda sidor av halsen. Mätningarna utfördes två ggr dagligen under behandlingsperioden (straxt innan och 2-3 h efter injektion av läkemedel) samt ca 24 h efter sista givan. Totalt utfördes 9 mätningar på varje häst i varje försöksperiod. För att "blinda" undersökaren avlästes MNT av en annan person.

### *Beteendestudier*

Beteendet observerades av två personer som var ovetande om vilket läkemedel hästarna fått. Varje häst observerades under fyra minuter före och efter injektionen på morgonen. Under observationsperioden antecknades beteendet efter ett särskilt protokoll.

## Statistiska analyser

Medelvärde och SD beräknades för PK och PD-parametrar, för svullnad och smärta i den kliniska bedömningen samt medelvärde SD och CV för proteinbindningen. Skillnader mellan de olika läkemedlen analyserades med hjälp av *Student's paired t-test* (Microsoft Excel, version 2007, Microsoft Corporation) och signifikansnivån sattes till  $P < 0,05$ .

MNT analyserades med hjälp av variansanalys för upprepade mätningar med häst som slump- faktor. Jämförelse gjordes mellan de olika läkemedelsbehandlingarna och signifikansnivån sattes till  $P < 0,05$ .

Beteendestudierna analyserades med SAS-program (SAS Institute version 9.2). Två olika regressionsanalyser (*generalized mixed models*) användes för att särskilja mellan de olika läkemedlen (beredningarna), observationer för och efter injektion, individer samt årstid och dag.

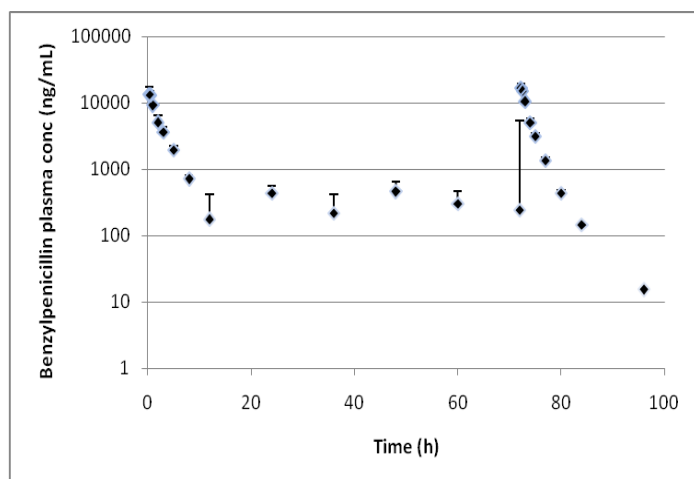
## Resultat

En häst visade tydliga reaktioner på obehag/smärta strax efter injektion av pc-Na och hästen togs ur studien efter den femte injektionen. Hästen stegrade sig, slog bakut, skakade kraftigt på halsen, sträckte halsen, frustade, vokaliserade samt utförde även munrörelser. Samma häst

reagerade inte efter injektion med pc-prok utan stod mestadels still under observationsperioden. Data från denna häst har om möjligt inkluderats i resultaten.

### Farmakokinetik

Plasmakoncentrationen avsett mot tid efter im administration av pc-Na visas i fig 2 och de farmakokinetiska parametrarna redovisas i tabell 2. Det var ingen signifikant skillnad i AUC<sub>12h</sub>, t<sub>1/2</sub>, C<sub>max</sub> eller T<sub>max</sub> mellan första och sista givan.



**Fig. 2.** Plasmakoncentrationen (medel ±SD) av pc efter im administration, 15 mg/kg x 2, vid tiden 0, 12, 24, 36, 48, 60 and 72h. Sju hästar fick pc-Na i 72 h och en häst togs ur studien efter 60 h. Blodprov togs ofta efter första och sista givan. Datapunkterna mellan 24 – 72h representerar de lägsta plasmakoncentrationen under ett dosintervall.

**Tabell 1.** PK parametrar efter upprepad im administration av pc-Na, 15 mg/kg var 12 h, till häst (n=8).

Parameter	Enhet	Medelvärde	± SD
AUC <sub>12h</sub> <sub>first</sub>	(h·ng/ml)	32872	4794
AUC <sub>12h</sub> <sub>last</sub>		33069	3041
T <sub>1/2</sub> <sub>first</sub>	(h)	2.0	0.3
T <sub>1/2</sub> <sub>last</sub>		2.0	0.3
C <sub>max</sub> <sub>first</sub>	(ng/ml)	13760	4997
C <sub>max</sub> <sub>last</sub>		16722	4577
T <sub>max</sub> <sub>first</sub>	(h)	0.41	0.27
T <sub>max</sub> <sub>last</sub>		0.34	0.13
C <sub>min</sub> <sub>12h</sub>	(ng/ml)	173	89
C <sub>min</sub> <sub>24h</sub>		423	248
C <sub>min</sub> <sub>36h</sub>		213	127
C <sub>min</sub> <sub>48h</sub>		452	208
C <sub>min</sub> <sub>60h</sub>		294	191
C <sub>min</sub> <sub>72h</sub> *		236	175
Protein binding <sub>1h</sub>	(%)	62.2	1.5
Protein binding <sub>8h</sub>		64.2	2.6
Protein binding <sub>tot</sub>		63.2	2.3

First: efter första administrationen; last: efter sista administrationen (för sju hästar administration nr 7 och för en häst administration nr 5). \* n=7. Plasmakoncentrationen av pc var ca 9000 ng/ml vid 1h och ca 700 ng/ml vid 8 h. Inga signifikanta skillnader mellan någon av parametrarna vid olika tidpunkter kunde påvisas.

## Plasmaproteinbindning

Bindningen av pc till plasmaproteiner redovisas i tabell 1. Plasmakoncentrationen var  $9068 \pm 2013$  ng/ml vid 1 h och  $704 \pm 357$  ng/ml vid 8 h. Ingen signifikant skillnad i bindningsgrad kunde påvisas mellan låg och hög koncentration av pc.

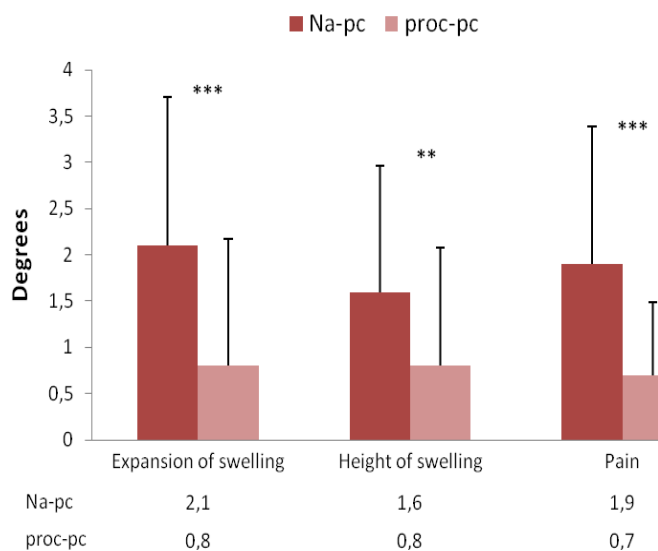
## Farmakodynamik

$fT > MIC$  för *Staph aureus* (MIC 125 ng/mL) var 55-73% (range) och 102 – 129% för *Streptococcus equi* subsp. *equi* och *Strept zooepidemicus* (MIC 15 ng/mL), vilket innebär att den fria plasmakoncentrationen av pc var över MIC för *Staph aureus* åtminstone 55% av tiden under ett dosintervall hos alla enskilda hästar. Dessutom för varje enskild häst var koncentrationen över MIC för *Streptococcus equi* subsp. *equi* och *Strept zooepidemicus* under hela dosintervallet.

## Smärtbedömning

### Klinisk evaluering

Hästar som fått pc-Na hade mer svullnad och smärta än hästar som fått pc-prok (fig 3).



**Fig. 3.** Grad ( $\pm$ SD) av svullnad och smärta 24 h efter sista injektionen av pc-Na (15 mg/kg) respektive pc-prok (21 mg/kg). En yta runt injektionsställena markerades och svullnadens utbredning och höjd noterades samt smärtreaktionen noterades vid palpation av injektionsställena och graderades från 0-5.

\*\* ( $p < 0,01$ ), \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

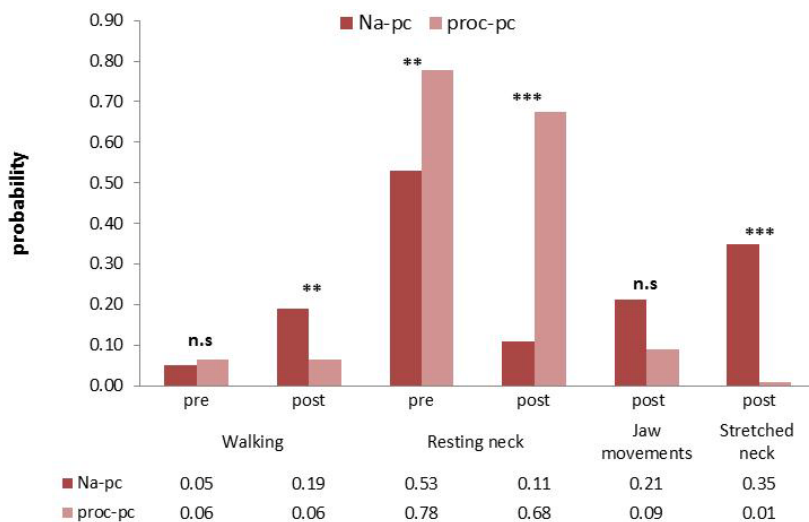
### Tryckalgometri

Tröskelvärde för mekanisk nociceptiv stimulering var signifikant lägre för hästar som fått pc-Na ( $593 \pm 350$  kPa) jämfört med hästar som fått pc-prok ( $675 \pm 208$  kPa) ( $P < 0,001$ ). Ingen skillnad i tröskelvärde kunde påvisas före och under behandling med pc-prok däremot var det signifikant skillnad för pc-Na (före  $663 \pm 202$  kPa och under behandling  $593 \pm 350$  kPa) ( $P < 0,001$ ). Denna skillnad mellan före och efter behandling för pc-Na kunde påvisas redan efter 1:a injektionen.

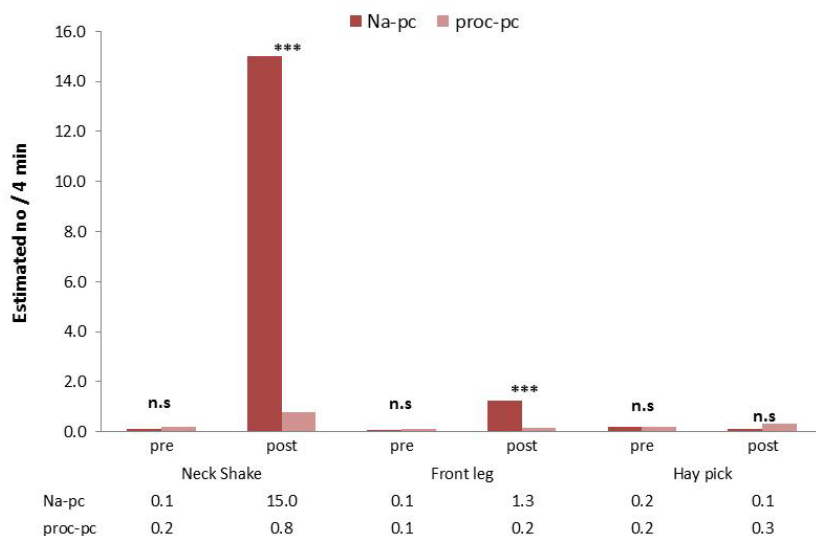
### Beteendestudier

Hästar som fått pc-Na uppvisade större benägenhet att sträcka och skaka på halsen samt att gå i boxen och skrapa med sina framben jämfört med hästar som fått pc-prok (fig 4 och fig 5). Även sannolikheten för att ha halsen i vila är större för hästar innan de får pc-prok än för hästar innan de erhåller pc-Na. Denna skillnad mellan grupperna kunde inte påvisas före första injektionen av läkemedlen.

En häst uppvisade muskel fascikulationer efter injektion av läkemedlen. För pc-Na observerades fascikulationer i 20% av observationstiden jämfört med 2% för pc-prok. En av hästarna observerades att sparka med bakbenen 16 ggr efter injektion med pc-Na men ingen gång efter injektion av pc-prok.



**Fig. 4.** Sannolikheten för en häst att gå, ha halsen i vila, sträcka halsen och för munrörelser före (pre) och efter (post) injektion av pc-Na och pc-proc. \*\* ( $P < 0.01$ ), \*\*\* ( $P < 0.001$ ).



**Fig. 5.** Antal gånger under 4 min som en häst skakar på halsen, skrapar/stampar med framben och plockar med hö före (pre) och efter (post) injektion av pc-Na och pc-proc. n.s (inte signifikant), \*\*\* ( $p < 0.001$ ).

## Diskussion

### PK/PD

Kinetikstudier av pc kan vara missvisande på grund av att pc inte är stabilt vid förvaring i plasma. Hastigheten på sönderfallet beror på pH och temperatur men ffa på förekomst av  $\beta$ -laktamasproducerande mikroorganismer. För att undvika sönderfallet av pc användes steril provtagning och även kylning av blodprover och plasmaprover samt förvaring i  $-80^{\circ}\text{C}$  (Wiese, 1989).

Halveringstiden för pc var ca 2h efter im administration vilket är längre än  $t_{1/2}$  efter iv tillförsel, 50 min, som visats i tidigare studier (Dürr, 1976; Love et al., 1983). Den förlängda halveringstiden beror sannolikt på att absorptionen fördröjer förloppet ("flip-flop" fenomen).

Vår studie skiljer sig från studien av Uboh et al., 2000, som påvisade en terminal  $t_{1/2}$  på 12,9 h efter im administrering av benzylpenicillinkalium. Även kaliumsaltet är lösligt och den enda skillnaden från nuvarande studie är att hästarna i Ubohs studie samtidigt gavs prokain im. Injektionsplatserna var inte angivna i rapporten.

Det var ingen skillnad mellan kinetikparametrarna ( $AUC_{12h}$ ,  $t_{1/2}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{min}$  och  $T_{max}$ ) beräknade efter första respektive sista givan vilket indikerar att pc inte ackumuleras vid upprepad giva med dosintervallet 12h.

Plasmaproteinbindningen av pc var 62,8% med liten interindividuell spridning. Det fanns ingen indikation på att bindningen skulle mättas vid höga pc-koncentrationer i plasma. I tidigare studier har man inte tagit hänsyn till eventuell degradering av pc beroende på  $\beta$ -laktamaser men våra resultat stämmer bra överens med tidigare studier (52-63%, Dürr, 1976; Firth et al., 1986).

Den fria plasmakoncentrationen av pc var över MIC ( $fT > MIC$ ) för *Staph aureus* åtminstone 55% av tiden under ett dosintervall hos alla enskilda hästar. Dessutom för varje enskild häst var koncentrationen över MIC för *Streptococcus equi* subsp. *equi* och *Strept zooepidemicus* under hela dosintervallet. För Gram<sup>+</sup> bakterier gäller att  $fT > MIC$  bör vara över 40% för att nå optimal klinisk effekt (Martinez et al., 2006). Resultaten i vår studie indikerar således att pc-Na, im, i en dos på 15 mg/kg 2 ggr dagligen är effektiv terapi för bakterier känsliga för pc ( $MIC < 125$  ng/ml).

### Biverkningar

Resultaten av den kliniska evalueringen, beteendestudien och tryckalgotriin stöder varandra. Vid den kliniska evalueringen hade hästarna efter injektion med pc-Na mer smärta och större svullnader än efter pc-prok. Hästarna var mer rastlösa och uppvisade beteenden som visade på obehag och smärta. En häst uppvisade sådana reaktioner efter injektion med pc-Na att fortsatta injektioner med pc-Na bedömdes som uteslutet. Samma häst reagerade inte under behandlingen med pc-prok. Hästarna uppvisade även mindre benägenhet att stå med halsen i vila även före injektionen med pc-Na jämfört med pc-prok, vilket indikerar att hästarna fortfarande upplevde obehag/smärta 12h efter den tidigare injektionen av pc-Na. Denna skillnad fanns inte före första administrationen av de olika beredningarna. Kvarstående smärta stöds av en studie av Harari et al. (1988) som visade att människor som fått pc-Na im hade fortfarande efter 24h smärtor vid injektionsstället. MNT värdena var lägre när hästarna hade fått pc-Na än efter pc-prok vilket även det tyder på att hästarna var mer ömma vid injektionsplatsen efter pc-Na giva. En bidragande orsak till skillnaden i biverkningar mellan pc-Na och pc-prok kan vara att pc-Na gavs 2 ggr per dag men pc-prok endast en. Det är dock föga troligt att det är den enda orsaken till de stora skillnaderna i biverkningar mellan de olika beredningarna av pc eftersom det var skillnad i MNT-värden mellan behandlingar när MNT jämfördes före och efter första injektionen, dvs när de olika behandlingsgrupperna fått samma antal injektioner. Både svullnad och smärta indikerar att pc-Na-beredningen är mer vävnadsirriterande än pc-prok-beredningen. Skillnaden i beteende efter im injektion med de olika beredningarna kan även bero på att prokainet i pc-prok har en lokalanestetisk effekt vilket saknas i pc-Na.

### Slutsats

Projektet visar att beredningen pc-Na, 15 mg/kg, 2 ggr dagligen, troligtvis är adekvat terapi mot de vanligaste patogenerna hos häst ( $MIC < 125$  ng/ml). Tyvärr kan vi inte rekommendera im användning av pc-Na till häst eftersom beredningen orsakade alltför kraftig smärt- och vävnadsreaktion. Det skulle vara av stort värde om det skulle finnas en beredning av lösligt bensylpenicillin som inte orsakar dessa reaktioner vid im administration både för att



underlätta användningen av pc till häst men även ur ett djurvälståndsperspektiv eftersom beredningen av pc-Na är godkänd för im administration hos både nöt och svin.

## Publikationer

Lena Olsén, Hanna Bremer, Karin Olofsson, Johan Bröjer, Ulf Bondesson, Anna Bergh, Katarina Nostell, Hans Broström, Björn Bengtsson, Carina Ingvast-Larsson, 2011, Intramuscular administration of sodium benzylpenicillin in horses as an alternative to procaine benzylpenicillin. Manuskript, ska sändas till Research in Veterinary Science, en internationell referee-granskad vetenskaplig tidskrift vars ämnen täcker både farmakologi och djurvälstånd.

Olofsson, K., 2010, *Bensylpenicillinnatrium intramuskulärt till häst som alternativ till bensylpenicillinprokain*. Examensarbete 2010:51, Uppsala, SLU, ISSN 1652-8697  
<http://stud.epsilon.slu.se/1141/>

Bremer, H., 2010, *Intramuscular administration of two dosage forms of benzylpenicillin in horse – pain assessment*. Examensarbete 2010:66, Uppsala, SLU, ISSN 1652-8697  
<http://stud.epsilon.slu.se/2083/>

## Muntliga presentationer

Karin Olofsson och Hanna Bremer har presenterat sina examensarbeten på BVF-institutionen för personal och veterinärstudenter.

Under hösten 2011 planeras en presentation av projektet vid de sk Hippocampus seminarierna som anordnas av SVA/SLU.

## Referenser

- Chaves, T.C., Nagamine, H.M., de Sousa, L.M., de Oliveira, A.S. Grossi, D.B., 2010. Comparison between the reliability levels of manual palpation and pressure pain threshold in children who reported orofacial pain. *Manual Therapy* 15, 508-512.
- Chesterton, L.S., Sim, J., Wright, C.C., Foster, N.E., 2007. Interrater reliability of algometry in measuring pressure pain thresholds in healthy humans, using multiple raters. *Clinical Journal of Pain* 23, 760-766.
- Dürr, A. (1976) Comparison of the pharmacokinetics of penicillin G & ampicillin in the horse. *Res Vet Sci* 20: 24-29
- Ensik, J. M., Van Klinger, B. Houwers, D. J., Klein, W. R., Vulto, A. G., 1993. In-vitro susceptibility to antimicrobial drugs of bacterial isolates from horses in the Netherlands. *Equine veterinary journal* 25, 309-313
- EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial wild type MIC distributions of microorganisms.  
<http://217.70.33.99/Eucast2/regShow.jsp?Id=3968> Accessed 13 December 2010
- Firth, E. C., Nouws, F. M., Driessens, F., Schmaetz, P., Peperkamp, K., Klein, W. R., 1986. Effect of the injection site on the pharmacokinetics of procaine penicillin G in horses. *American Journal of Veterinary Research* 47, 2380-2384
- Guillemot D, Carbon C, Balkau B, Geslin P, Lecoœur H, Vauzelle-Kervroëdan F, Bouvenot G, Eschwège E. Low dosage and long treatment duration of beta-lactam: risk factors for carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *JAMA*. 1998, 279, 365-70
- Harari, M., Mathias, A., Sembo, J., 1988. A comparison of pain induced by procaine and benzyl penicillin. *Papua and New Guinea Medical Journal* 31, 169-171.

- Kosek, E., Ekholm, J., Nordemar, R., 1993. A comparison of pressure pain thresholds in different tissues and body regions. Long-term reliability of pressure algometry in healthy volunteers. *Scandinavian Journal of Rehabilitation Medicine* 25, 117-124.
- Firth, E. C., Nouws, F. M., Driessens, F., Schmaetz, P., Peperkamp, K., Klein, W. R., 1986. Effect of the injection site on the pharmacokinetics of procaine penicillin G in horses. *American Journal of Veterinary Research* 47, 2380-2384
- Martinez, M., Toutain, P-L., Walker, R.D., 2006. The pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK/PD) relationship of antimicrobial agents. In: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Editors: Giguère, S., Prescott, J. F., Baggot, J. D., Walker, R. D. and Dowling, P. M. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp 81-106
- Love, D. N., Rose, R. J., Martin, C. A. & Bailey, M. (1983) Serum concentration of penicillin in the horse after administration of a variety of penicillin preparations. *Equine vet J* 15(1): 43-48
- Olsén, L., Ingvast-Larsson, C., Broström, H., Larsson, P., Tjälve, H., 2007. Clinical signs and etiology of adverse reactions to procaine benzylpenicillin and sodium/ potassium benzylpenicillin in horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 30, 201-207
- Schwarz, S., Alesik, E., Grobbel, M., Lubke-Becker, A., Werckenthin, C., Wieler, L.H., Wallmann, J., 2007. Antimicrobial susceptibility of streptococci from various indications of swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 120, 380-390
- SVARM 2010, Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. The National Veterinary Institute (SVA), Uppsala, Sweden, 2011
- Tjälve, H., 1997. Adverse reactions to veterinary drugs reported in Sweden during 1991-1995. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, 105-110
- Toutain PL, del Castillo JR, Bousquet-Mélou A. The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Res Vet Sci*. 2002, 73, 105-14
- Trolldenier, H., Klarmann, D., Krabisch, P., Rohde, J., Steiner, A., Verspohl, J., 2000, [Sensitivity of bovine and equine streptococci to beta-lactam antibiotics (benzylpenicillin, ampicillin, oxacillin, cefotaxime) in the agar diffusion and E-test]. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 113, 234-245
- Wiese, B., 1989. Bioanalysis of Benzylpenicillin: Determinations of low drug concentrations in milk, plasma and lymph by digital subtraction chromatography – a new technique to reduce disturbances from interfering substances. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*, Doctoral Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, ISBN 91-576-3756-3