



*Sveriges lantbruksuniversitet*  
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för Kliniska vetenskaper

# Upprepad intravenös administrering av trimetoprim-sulfadiazin hos neonatala föl

Elin Bengtsdotter

*Uppsala*

*2011*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2011:30*

# Upprepad intravenös administrering av trimetoprim-sulfadiazin hos neonatala föl

Elin Bengtsdotter

*Handledare: Johan Bröjer, Institutionen för Kliniska vetenskaper*

*Biträdande handledare: Carina Ingvast Larsson, Inst. för BVF, Avdelningen för patologi, farmakologi och toxikologi*

*Examinator: Bernt Jones, Institutionen för Kliniska vetenskaper*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2011  
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för Kliniska vetenskaper  
Kurskod: EX0239, Nivå X, 30hp*

*Nyckelord: sepsis, föl, trimetoprim, sulfadiazin*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>  
ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2011:30*

## Innehållsförteckning

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning .....	3
Septikemi hos föl .....	3
Agens .....	3
Läkemedelsbehandling av neonatala föl .....	4
Antibiotikabehandling av föl med septikemi .....	4
Farmakologi Trimetoprim-Sulfadiazin .....	5
Bakgrund .....	7
Syfte .....	7
Material och Metoder .....	7
Djur .....	7
Läkemedelsadministrering .....	7
Provtagning .....	8
Kemisk analys .....	8
Farmakokinetisk analys .....	9
Resultat .....	9
Diskussion .....	12
Svagheter i studien .....	14
Konklusion .....	14
Tack .....	15
Litteraturförteckning .....	16
Artiklar .....	16
Böcker .....	17
Examensarbeten .....	17
Appendix .....	18

## **SAMMANFATTNING**

Åtta kliniskt friska 3 dagar gamla varmblodiga travarföl injicerades med upprepade doser trimetoprim-sulfadiazin intravenöst under 3 dagar, dosering 15 mg aktiv substans/kg kroppsvikt (2,5 mg trimetoprim och 12,5 mg sulfadiazin). Blodprov togs före varje läkemedelsdosa samt under de följande 24 timmarna efter sista administreringen. Koncentrationen i plasma för trimetoprim respektive sulfadiazin mättes och farmakokinetiken för trimetoprim och sulfadiazin studerades. Halveringstiden ( $t_{1/2}$ ) och clearance ( $Cl_B$ ) för trimetoprim och sulfadiazin för fölen skiljer sig inte från vuxna hästar. Av dessa resultat kan man dra slutsatsen att man till föl skulle kunna använda samma doseringsintervall och dos som till vuxna hästar. Dock ligger inte plasmakoncentrationen över MIC (minsta inhiberande koncentration) för de vanligaste sepsispatogenerna under hela dosintervallet. På grund av detta skulle man därför rekommendera att ge dosen 15 mg/kg 3 gånger dagligen till föl.

## **SUMMARY**

Eight healthy 3-day-old foals were given repeated injections of trimethoprim-sulfadiazine intravenously for 3 days, at a dosage of 15 mg/kg bodyweight (2,5 mg trimethoprim and 12,5 mg sulfadiazine). Blood samples were collected prior to each administration and for the following 24 hours after last administration. Serum concentrations of trimethoprim and sulfadiazine were measured and the pharmacokinetics for the substances were studied. The elimination half time ( $t_{1/2}$ ) and clearance ( $Cl_B$ ) for trimethoprim and sulfadiazine for the foals did not diverge from adult horses. According to these data it is possible to assume that the same dose interval and dose can be used for foals as for adult horses. However, in this study the plasma concentrations do not exceed MIC (minimum inhibitory concentration) for the most common sepsis pathogens during the entire dose interval. Therefore, it may be recommended to administer trimethoprim-sulfadiazine at a dosage of 15 mg/kg bodyweight three times daily in foals.

## INLEDNING

### Septikemi hos föl

Infektionssjukdomar är en viktig orsak till neonatal sjukdom och dödlighet hos föl (Radostits *et al.* 2007, Caprile och Short 1987). Den vanligaste patogenen vid septikemi hos föl i Nordamerika är *Escherichia coli* (Radostits *et al.* 2007, Furr och Mogg 2003, Baggot 1994). I Sverige är de vanligaste patogenerna vid septikemi *E. coli* samt *Actinobacillus* spp. (Johansson 2006). Septikemi är den akuta invasionen av patogena bakterier i blodcirkulationen, vilken följs av sepsis eller septisk chock (Radostits *et al.* 2007). Sepsis definieras som ett systemiskt inflammatoriskt svar (SIRS: *systemic inflammatory response syndrome*) på en infektion och manifesteras av två eller fler av följande symtom: a) temperatur  $>38^{\circ}\text{C}$  eller  $<36^{\circ}\text{C}$ , b) hjärtfrekvens  $>90$  slag/minut, c) andningsfrekvens  $>20$  andetag/minut, d) vita blodkroppar  $>12000$  celler/ $\mu\text{l}$ ,  $<4000$  celler/ $\mu\text{l}$  eller  $>10\%$  omogna (Reed *et al.* 2004). De flesta klassiska symtom som kopplas till sepsis orsakas alltså av det inflammatoriska svaret och inte nödvändigtvis av det infektiösa ämnet i sig (Sanchez 2005). De flesta infektioner sker post partum men en del sker även intrauterint (Radostits *et al.* 2007, Furr 1999, Paradis 1994). Fölet smittas från modern, omgivningen eller från andra infekterade individer i närheten. Om fölet blir sjukt eller ej beror på infektionsdos och fölets motståndskraft (Radostits *et al.* 2007). Sepsis är en vanlig orsak till sjukdom och dödlighet hos nyfödda däggdjur med otillräckligt immunförsvar (Radostits *et al.* 2007). Riskfaktorer är FPT (*failure of passive transfer*), förlösningskomplikationer, sjukdom hos stoet (Reed *et al.* 2004, Furr och Mogg 2003, Paradis 1994) eller andra fel på fölet (Reed *et al.* 2004). Infektionsport kan vara naveln, gastrointestinal-kanalen, andningsvägarna eller sårskador (Reed *et al.* 2004). Symtomen på sepsis kan initialt vara subtila och symptomdebuten varierar med involverad patogen och fölets immunstatus (Kahn *et al.* 2005, Reed *et al.* 2004). Då de kliniska symtomen kan variera är sjukdomen därför svår att upptäcka i ett tidigt skede och risken att fölet drabbas av en irreversibel septisk chock är stor (Paradis 1994). Tidiga tecken på sepsis är nedsatt allmäntillstånd, nedsatt sugreflex, feber, undertemperatur, svaghet, dysfagi, svårighet att öka i vikt, tachypné, takykardi, bradykardi, kärlinjicerade slemhinnor, minskad kapillär återfyllnadstid, frossa, hälsa, petechier och coronit. Föl med tidigt upptäckt sepsis och insatt behandling har avvaktande till goda chanser att klara sig, beroende på patogen (Reed *et al.* 2004).

### Agens

Bakteriell septikemi är den vanligast diagnosticerade septikemin, men även viral och fungal förekommer (Reed *et al.* 2004). Vid septikemi är infektion med gramnegativa bakterier vanligast, men även sepsis orsakad av grampositiva bakterier ses (Reed *et al.* 2004, Furr och Mogg 2003, Wichtel *et al.* 1999, Paradis 1994, Vaala 1985). Det är av stor vikt att försöka isolera den patogen som orsakar septikemin så tidigt som möjligt i sjukdomsförloppet med hjälp av blododling. Odling skall ske aerobt och anaerobt och tills provsvar med resistensbestämning av patogenen finns tillgänglig skall behandling med bredspektrumantibiotika pågå (Reed *et al.* 2004, Wichtel *et al.* 1999, Paradis 1994, Vaala 1985). Eftersom terapi måste påbörjas innan agens fastställts måste man känna till vilka de vanligaste patogenerna vid septikemi hos föl är (Wichtel *et al.* 1999). Enligt studier utförda i USA är *E. coli* den i särklass vanligaste orsaken till bakterieinfektioner hos föl

(Marsh och Palmer 2001, Brewer och Koterba 1990), men även *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Actinobacillus equuli* och alfa-hemolyserande streptokocker är vanliga i USA (Wichtel *et al.* 1999, Baggot 1994, Paradis 1994.). Detta att jämföra med läget i Sverige där en retrospektiv studie vid Sverige lanbruksuniversitet (SLU) visade att de vanligast förekommande patogenerna vid konstaterad septikemi hos föl i Sverige är *E. coli* och *Actinobacillus* spp. (Johansson 2006).

### **Läkemedelsbehandling av neonatala föl**

Neonatala föl och vuxna hästar skiljer sig farmakokinetiskt åt genom att föl kan ha en annorlunda absorption, distribution, metabolism och utsöndring av läkemedel (Baggot 1994, Caprile och Short 1987, Vaala 1985). Detta påverkar koncentrationen av läkemedlet där det skall verka samt även plasmakoncentration av läkemedlet över tiden. Nyfödda föl har för vissa läkemedel bättre absorption från gastrointestinalkanalen, större distributionsvolym, ökad permeabilitet i blod-hjärnbarriären och långsammare nedbrytning jämfört med vuxna hästar (Baggot 1994, Vaala 1985). Neonatal hypoalbuminemi är vanligt och ger lägre bindingsgrad till plasmaproteiner, vilket ger större mängd fri, aktiv mängd läkemedel i blodet (Vaala 1985). Lever och njurfunktion är dessutom inte fullständigt utvecklade, vilket påverkar nedbrytningen av läkemedel (Vaala 1985). Feber, vävnadsinflammation, metabolisk acidosis och dehydrering är exempel på sjukdomstillstånd, som gör att ett läkemedel kan få annorlunda verkan. Förändrad njur- och kardiovaskulär funktion påverkar också läkemedlets farmakokinetik och dess effekt (Vaala 1985).

Eftersom farmakokinetiken av vissa läkemedel hos nyfödda föl förändras under de första levnadsveckorna måste doseringen vara flexibel (Vaala 1985). Användning av läkemedel till neonatala föl kräver högre precision vid dosering (Wichtel *et al.* 1999, Baggot 1994), mer uppmärksamhet på administrationsätt och administrationshastighet (Baggot 1994) samt noggrann övervakning av farmakologiska effekter (Wichtel *et al.* 1999, Baggot 1994) jämfört med vuxna hästar.

Farmakologiska studier på föl är svåra att genomföra då metabolism och utsöndring, som tidigare nämnts, förändras med åldern hos den nyfödda. Dessa processer mognar med olika hastighet under neonatalperioden (Baggot 1994). Neonatalperioden hos föl avser den första levnadsveckan enligt en författare (Baggot 1994) men enligt andra de första två levnadsveckorna (Furr och Mogg 2003). På grund av farmakokinetiska skillnader kan effekten av ett läkemedel hos nyfödda föl, framförallt under de tre första dygnet post partum, skilja sig åt jämfört med äldre föl och vuxna hästar. De avvikande effekterna av ett läkemedel minskar när de fysiologiska processerna, som påverkar absorption, distribution och elimination, mognar (Baggot 1994).

### **Antibiotikabehandling av föl med septikemi**

Då man misstänker septikemi hos föl är det viktigt att sätta in behandling med antibiotika så tidigt som möjligt på grund av att neonatal sepsis är snabbt progressiv, de flesta patienter lider av neutropeni och fölen har oftast ett nedsatt immunförsvar. Valet av antibiotika skall göras baserat på blododling och aktuellt agens känslighet men i praktiken måste behandling påbörjas innan provsvar

erhållits. Ett bredspektrigt antibiotika med baktericid effekt förespråkas initialt (Furr 1999). Antibiotikabehandling kan inte ersätta immunoglobuliner utan plasma och/eller råmjölk bör ges i de fall man misstänker FPT (*failure of passive transfer*) (Vaala 1985). Dessutom blir behandlingen mer effektiv om fölets immunstatus förbättras (Baggot 1994) eftersom brist på antikroppar ökar risken för infektioner generellt. Antibiotikabehandlingen bör även kompletteras med understödjande behandling (Baggot 1994). Vid val av antibiotika måste man ta hänsyn till den framodlade patogenens känslighet för läkemedlet (Baggot 1994). Infektionens lokalisering har också betydelse vid valet av antibiotika eftersom inte alla antibiotika kan nå alla kroppsvävnader, och då bakteriell sepsis präglas av lokaliserade infektioner i leder, lungor, navel och hjärnhinnor måste hänsyn tagas till detta (Furr 1999). Användning av antibiotika eller kombinationer av antibiotika som har en baktericid effekt är önskvärt vid konstaterad sepsis (Furr 1999, Baggot 1994). Intravenös administration är att föredra för att undvika att terapin påverkas av variationer i läkemedelsabsorptionen (Baggot 1994). Då fölen med septikemi ofta har nedsatt vävnadsperfusion, minskad magsäckstömning, förändrad motilitet i gastro-intestinalkanalen och då man snabbt vill nå terapeutiska plasmakoncentrationer bör man undvika att ge antibiotika oralt eller intramuskulärt (Wichtel *et al.* 1999).

I amerikansk litteratur förespråkas användning av aminoglykosider i kombination med bensylpenicillin till neonatala föl med sepsis (Sanchez 2005, Furr och Mogg 2003, Furr 1999). Detta troligtvis på grund av den utbredda resistensproblematiken. För *Escherichia coli* påvisades i en Nordamerikansk studie 29 % resistens mot kombinationen trimetoprim-sulfonamid (TMS) (Brewer och Koterba 1990). I en liknande senare utförd studie påvisades 43 % resistens mot TMS (Marsh och Palmer 2001). Den höga resistensutvecklingen hos *E. coli* mot TMS har lett till att man inte längre rekommenderar detta antibiotikum till föl med sepsis i Nordamerika. I Sverige är dock resistensläget gott och TMS kan än så länge användas vid behandling av neonatal septikemi hos häst. I Johanssons studie (2006) fann man för *E. coli* 5 % resistens mot TMS. För *Actinobacillus* spp. fann man ingen resistens mot TMS. Aminoglykosider är njurtoxiska och föl är känsligare än vuxna hästar för gentamicininducerad nefrotoxicitet (Vaala 1985). Även detta talar för ett användande av TMS vid septikemi hos föl i Sverige. Dock vet man att erytrocyterna hos nyfödda är känsliga för den oxidering som både trimetoprim och sulfonamider kan orsaka, vilket i sin tur kan orsaka methemoglobinemi och hemolys hos fölen (Vaala 1985).

Den lägsta koncentration då ett antibiotika hämmar tillväxten av en bakterie benämns MIC (*minimum inhibitory concentration*). Vid kombinationen TMP + SDZ är MIC för *E. coli* och *Actinobacillus* spp. <0,5 respektive 9,5 µg/ml (Giguère *et al.* 2006). Dock finns det uppgifter i annan litteratur som antyder att *E. coli* är betydligt känsligare för kombinationen TMP + SDZ, Vaala (1985) anger att MIC är 0,015 respektive 0,3 µg/ml och i en studie utförd av Paisley (1978) är medelvärdet för MIC då trimetoprim kombineras med sulfamethoxazole (en annan sulfonamid) 0,066 respektive 1,32 µg/ml.

### **Farmakologi Trimetoprim-Sulfadiazin**

Antibakteriella diaminopyrimidiner såsom trimetoprim kan kombineras med olika sulfonamider tex. sulfadiazin och denna kombination verkar genom att hämma



bakteriens produktion av folsyra. Folsyra är nödvändigt för produktion av prekursorer till DNA och RNA både hos bakterier och däggdjur, men medan däggdjur får i sig folsyra med födan måste bakterier syntetisera folsyran själv. Tillsammans verkar sulfadiazin och trimetoprim i två på varandra följande steg i samma metaboliska process hos bakterien, och potentierar därmed varandra (Giguère *et al.* 2006, Rang *et al.* 2003, Wichtel *et al.* 1999). Sulfonamider och diaminopyrimidiner är båda, var för sig, bredspektrumantibiotikum med bakteriestatisk verkan. De har effekt mot både gramnegativa och grampositiva aeroba bakterier. Sulfonamider har även verkan mot vissa anaerober men på grund av närvaro av PABA (*para-aminobenzoic acid*) i purulent exsudat och nekrotisk vävnad (= anaerob miljö) är effekten begränsad här. Sulfonamider konkurrerar med PABA om enzymet dihydropteroat syntetas, och hindrar i praktiken PABA från att binda till folsyramolekylen. Dock kan dess bakteriestatiska verkan hämmas vid ett överskott av PABA. Mot framförallt sulfonamider har en hög resistens utvecklats på grund av ett frikostigt användande, och detta begränsar dess användbarhet (Giguère *et al.* 2006). Då man kombinerar diaminopyrimidiner och sulfonamider i förhållandet 1:5 ger detta en kvot i (human)plasma på 1:20 på grund av substansernas olika spridning i kroppsvävnaderna. Vid förhållandet 1:20 uppstår maximal synergism och effekten är baktericid mot ett stort antal bakterier (Giguère *et al.* 2006). Rekommenderad administrering är två gånger per dygn (Giguère *et al.* 2006, Brown *et al.* 1990, Vaala 1985, Brown *et al.* 1983) men det finns även studier där tre eller fler doseringar per dygn rekommenderas (Van Duijkeren *et al.* 1995, Brown *et al.* 1983).

Sulfonamider, som är svaga organiska syror, sprids till viss del i vävnader men framför allt i kroppsvätskor, även till ledvätska och cerebrospinalvätska. Sulfonamider har 15-90 % bindning till plasmaproteiner. Bindningsgraden varierar mellan olika djurarter men framför allt mellan olika sulfonamider. En hög plasmaproteingrad (> 80%) förlänger substansens halveringstid. Sulfonamider elimineras genom utsöndring via njurarna samt via biotransformation (acetylering, hydrolys och konjugering med glukuronsyra) i levern. Diaminopyrimidiner, däribland trimetoprim, är fettlösliga organiska baser som i hög grad passerar in i vävnader och kroppsvätskor. Bindningen till plasmaproteiner är ca 60 % (Giguère *et al.* 2006) men varierar mellan olika djurslag. Diaminopyrimidiner metaboliseras framför allt i levern, genom oxidering och konjugeringsreaktioner.

TMS har en hög säkerhetsmarginal och den toxicitet man har sett kopplas framförallt till sulfonamider. Sulfonamider kan ge upphov till olika, oftast reversibla biverkningar. Vissa har en allergisk grund medan andra är mer direkt kopplade till toxicitet, däribland njurskador pga kristalluri (viktigt att patienten ej är dehydrerad) samt påverkan på hematopoesen (Giguère *et al.* 2006). Enskilda incidenter med andningsstillestånd har setts efter intravenös injektion av TMS till sederade hästar. Även diarré hos hästar har setts efter behandling med TMS, men prevalensen är inte högre vid behandling med TMS jämfört med andra antibiotika (Giguère *et al.* 2006).

Kombinationer av TMS till häst finns i Sverige idag tillgängligt som oral pasta, oralt pulver och injektionsvätska. Kombinationen kan användas till häst och har indikation för infektioner orsakade av agens känsliga för TMS i mag-tarmkanal, urogenitalsystem, luftvägar och sårinfektioner. Rekommenderad dos är 15 mg/kg kroppsvikt vid intravenös giva och 30 mg/kg kroppsvikt vid oral giva 1 till 2

gångar per dygn. Försiktighet skall iakttas vid behandling av nyfödda djur (FASS VET 2008).

## **Bakgrund**

I en nyligen ej publicerad retrospektiv studie om bakteriella resistensmönster vid neonatal septikemi hos föl vid SLU under tidsperioden 1988-2005 har det framkommit att resistensläget för antibiotika är mycket gott i Sverige jämfört med Nordamerika. Det förekom mycket lite resistens hos de framodlade bakterierna för TMS. Resultaten från undersökningen visar att TMS kan användas vid behandling av föl i Sverige med neonatal septikemi och kan ersätta substansen gentamicin (Johansson 2006). Det finns emellertid ingen dosering för trimetoprim/sulfadiazin (TMP/SDZ) tillgänglig för föl. I en pilotstudie utförd på två föl under fölsäsongen 2007 framkom att föl kan betraktas som små vuxna hästar och att doseringen TMP/SDZ 15 mg/kg q 12 h kan användas även till dem (Hjalmarsson Vertovec 2008).

## **Syfte**

Studien syftar till att analysera plasmakoncentrationen och fastställa farmakokinetiska parametrar för TMP/SDZ efter upprepad intravenös administrering till åtta neonatala föl för att finna lämplig dosering till föl.

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Djur**

Den farmakologiska studien utfördes på 8 stycken kliniskt friska 3 dagar gamla varmblodiga travarföl. Två föl i studien var ston, resten var hingstar. Fölens vikt då studien startade var 53 kg för det minsta fölet och 66,5 kg för det största. Fölen vistades med respektive sto i enskilda boxar i sin naturliga miljö när studien genomfördes. Studien har beviljats etiskt tillstånd (C122/7) från Centrala försöksdjursnämnden.

### **Läkemedelsadministrering**

Inför antibiotikaadministreringen rakades fölen på halsen och försågs med topikal lokalanestesi (EMLA<sup>®</sup>, kräm, lidokain 25 mg/g + prilokain 25 mg/g, Astra Zeneca, Sverige) inför iläggande av permanentkateter (MILACATH<sup>®</sup> 16ga x 7,5 cm, MILA International inc., USA) i jugularvenen. Studien utfördes som en upprepad intravenös administrering av trimetoprim/sulfadiazin (TMP/SDZ) (Hippotrim<sup>®</sup> vet. Injektionsvätska, lösning trimetoprim 40 mg/ml + sulfadiazin 200 mg/ml, Bayer, Danmark) 15 mg/kg (2,5 mg TMP/kg och 12,5 mg SDZ/kg) med administreringsintervall (q) på 12 timmar. Dag 1 och 2 gavs en dos med 12 timmars mellanrum (morgon och kväll) och på morgonen dag 3 gavs den sista dosen TMS. Totalt 5 intravenösa administreringar av TMP/SDZ gjordes. Efter varje läkemedelsadministrering spolades permanentkatetern med fysiologisk NaCl (Natriumklorid, Infusionsvätska, 9 mg/ml, Baxter, Sverige). Se fig. 1.

## Provtagning

Blodprov togs före varje läkemedelsgiva under dag 1-3. Läkemedelsadministrering och provtagning skedde i samma venkateter, förutom under dag 3 då skilda katetrar användes. Dag 3 lades en ny venkateter (MILACATH® 16ga x 7,5 cm, MILA International inc., USA) i den kontralateral jugularvenen. Sista administreringen av TMS skedde i den gamla katetern, som direkt efter administreringen avlägsnades. Upprepade blodprover togs i nya katetern under 24 timmar (omedelbart före och 5 min, 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 2 h, 4 h, 7 h, 12 h, 16 h och 24 h efter sista TMS administreringen), se figur 1. Totalt 16 blodprover om 5 ml vardera togs per föl. För att undvika att få med blod som stått kvar i katetern aspirerades och kasserades 3 ml blod från katetern inför varje provtagningstillfälle. Katetern spolades med 20 ml NaCl-lösning (Natriumklorid, Infusionsvätska, lösning 9 mg/ml, Baxter, Sverige) efter varje provtagning. Proverna överfördes till natriumheparinrör och centrifugerades sedan i 10 minuter varefter serum avskiljdes med manuell pipettering och överfördes till plaströr. Proverna frystes sedan ner i -20°C och överfördes för förvaring i -80°C inom en vecka. Alla prover analyserades inom 7 månader från provtagningstillfället.

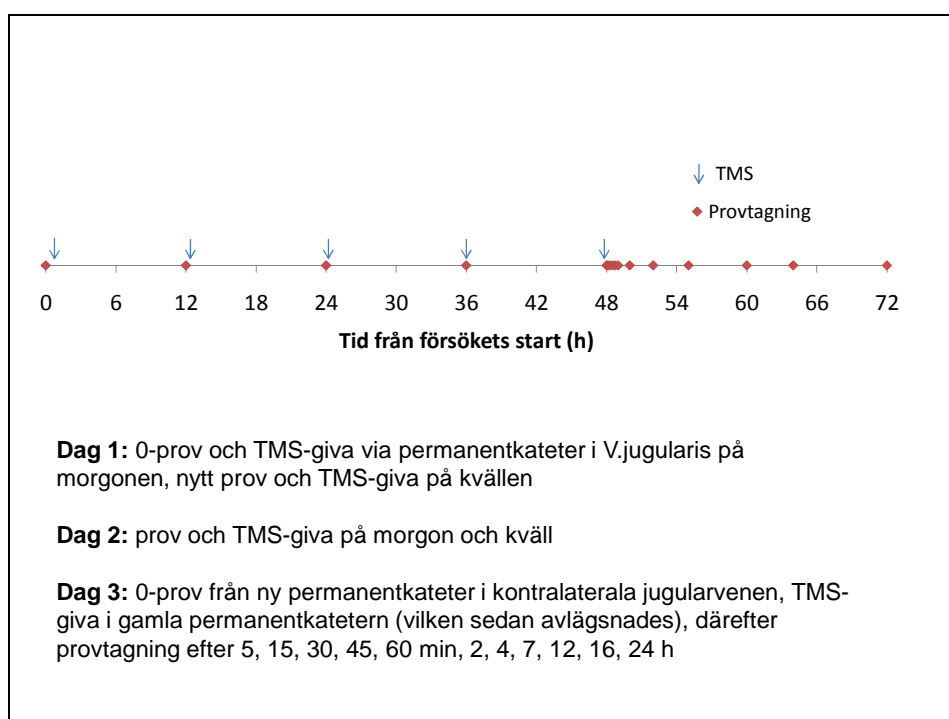


Fig.1 Administrering och provtagning dag 1-3

## Kemisk analys

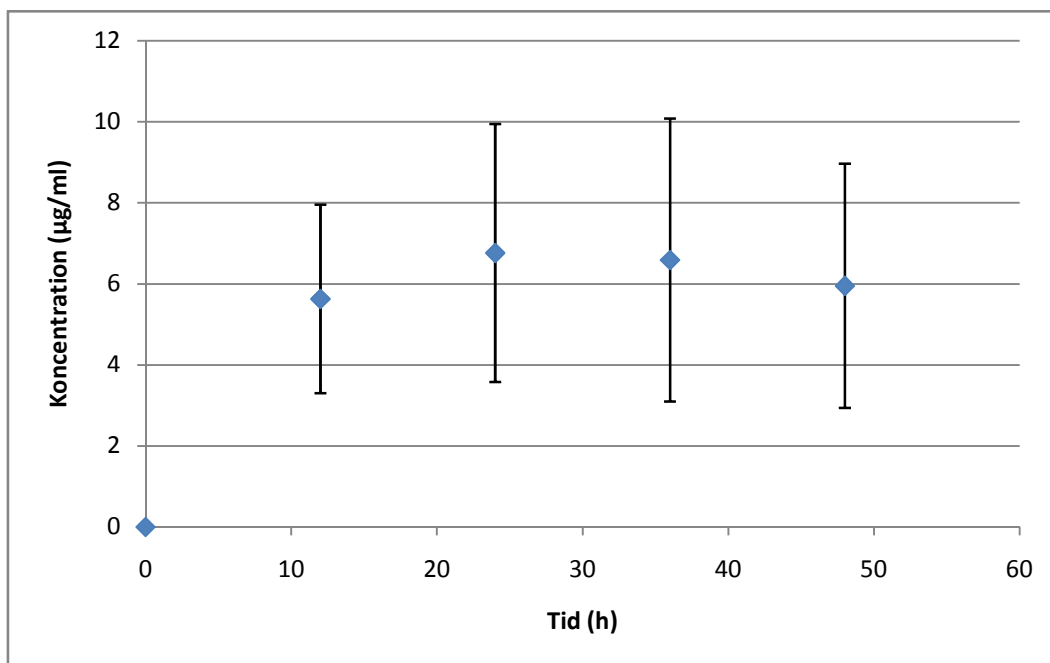
Plasmakoncentrationen av TMP/SDZ analyserades med hjälp av vätskekromatografianalys (High Pressure Liquid Chromatography) med masspektrometrisk detektion på SVA, Enheten för kemi, miljö och fodersäkerhet, Uppsala.

## Farmakokinetisk analys

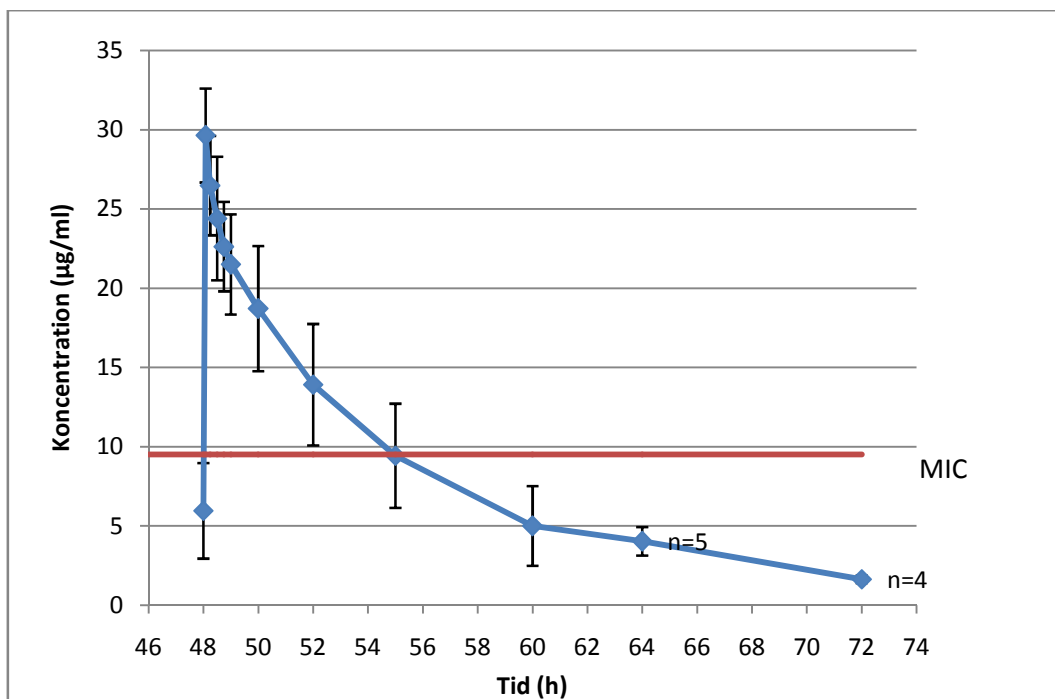
Plasmakoncentrationen över tid efter den sista administreringen av TMP/SDZ analyserades med hjälp av en *non compartment* modell i dataprogrammet WinNonlin (WinNonlin 5.0.1® Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA).. Halveringstiden,  $t_{1/2,\lambda}$ , beräknades med hjälp av formeln  $t_{1/2} = \ln 2 / \lambda$ , där  $\lambda$  är den terminala fasens hastighetskonstant. Arealen under kurvan vid *steady state* beräknades under sista dosintervallet ( $AUC_{ss,12h}$ ) med hjälp av linjära trapetsmetoden. Med hjälp av  $AUC_{ss,12h}$  och läkemedelsdosen kunde total kroppsclearance beräknas som  $Cl_B = \text{dos iv} / AUC_{ss,12h}$ . Den genomsnittliga tid som läkemedlet befinner sig i kroppen,  $MRT_{i,v}$  (*mean residence time* (h)) beräknades genom  $AUMC / AUC$  där  $AUMC$  är arealen under kurvan för plasmakoncentration  $\cdot$  tid i förhållande till tid. Distributionsvolymen vid jämvikt ( $V_{dss}$ ) beräknades som  $V_{dss} = \text{dos iv} \cdot MRT_{i,v} / AUC_{ss,12h}$ .  $C_{min,ss}$  beräknades som medelvärde av den lägsta plasmakoncentration av TMP/SDZ vid *steady state*, ett dosintervall efter sista administrering.

## RESULTAT

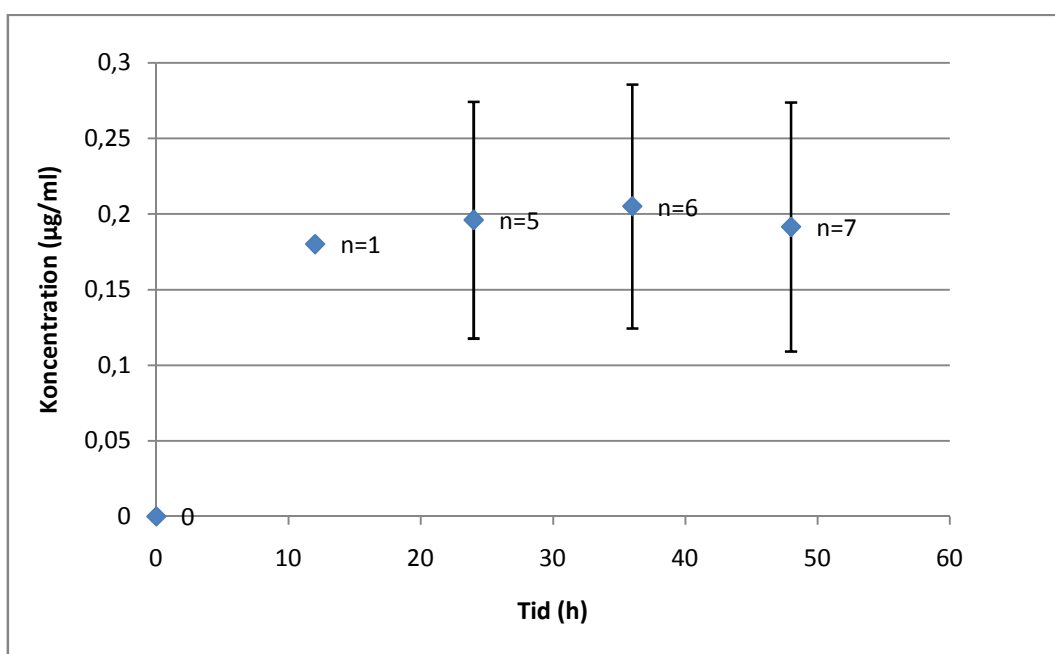
Medelplasmakoncentration ( $\pm$  standardavvikelse) över tiden för SDZ och TMP efter upprepad intravenös giva visas i Fig 2 (a,b) och Fig 3 (a,b). De farmakokinetiska parametrarna är angivna i tabell 1.



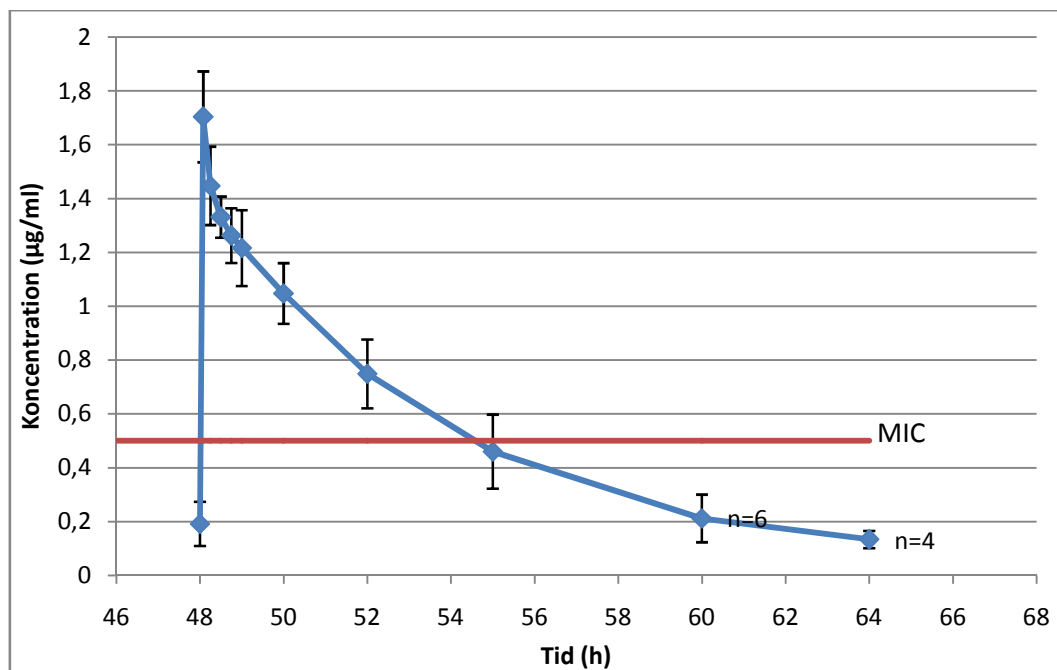
Figur 2a. Medelkoncentration ( $\pm$  standardavvikelse) över tiden för sulfadiazin ( $\mu\text{g/ml}$ ) i plasma vid upprepad intravenös administrering. Blodprover från 8 st föl togs 0, 12, 24, 36 och 48 timmar efter försökets start.



Figur 2b. Medelkoncentration ( $\pm$  standardavvikelse) över tiden för sulfadiazin ( $\mu\text{g/ml}$ ) i plasma efter upprepad intravenös administrering under tidsintervallet 48 - 64 h, dvs efter sista giva. Blodprover togs från 8 st föl. Endast individer med uppmätt plasmakoncentration  $>1,12 \mu\text{g/ml}$  redovisas i figuren. MIC (minimum inhibitory concentration) är vid kombinationen TMP + SDZ för *E. Coli* och *Actinobacillus spp.*  $\leq 0,5$  respektive  $9,5 \mu\text{g/ml}$  (Giguère et al. 2006).



Figur 3a. Medelkoncentration ( $\pm$  standardavvikelse över tiden) för trimetoprim ( $\mu\text{g/ml}$ ) i plasma vid upprepad intravenös administrering. Blodprover från 8 st föl togs 0, 12, 24, 36 och 48 timmar efter försökets start. Endast individer med uppmätt plasmakoncentration  $>0,11 \mu\text{g/ml}$  redovisas i figuren.



Figur 3b. Medelkoncentration över tiden ( $\pm$  standardavvikelse) för trimetoprim i plasma efter upprepad intravenös administrering under tidsintervallet 48 - 64 h, dvs efter sista giva. Blodprover togs från 8 st föl. Endast individer med uppmätt plasmakoncentration  $>0,11 \mu\text{g/ml}$  redovisas i figuren. MIC (minimum inhibitory concentration) är vid kombinationen TMP + SDZ för *E. Coli* och *Actinobacillus spp.*  $\leq 0,5$  respektive  $9,5 \mu\text{g/ml}$  (Giguère et al. 2006).

Tabell 1. Farmakokinetiska data (median och variationsvidd) för sulfadiazin (SDZ) och trimetoprim (TMP) efter den sista av 5 st intravenösa administreringar (dosintervall 12 h) om  $12,5 \text{ mg/kg}$  SDZ och  $2,5 \text{ mg/kg}$  TMP till 8 st föl.

Farmakokinetiska parametrar	SDZ	TMP
$C_{\text{minss}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )*	5,6 (2,1-8,4)	0,19 (0,11-0,28)
$C_{\text{maxss}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	30,0 (25,1-34,1)	1,68 (1,54-2,06)
$T_{1/2, \lambda}$ (h)	5,41 (3,54-6,25)	3,88 (2,65-4,99)
$V_{\text{dss}}$ (L/kg)	0,59 (0,56-0,66)	1,74 (1,64-1,99)
$AUC_{\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ )	203,2 (109,2 -275,3)	8,1 (5,5-12,1)
$AUC_{12\text{h,ss}}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ )	159,0 (97,4-201,5)	7,3 (5,3-9,9)
$Cl_B$ (L/h·kg)	0,08 (0,06-0,13)	0,34 (0,25-0,47)
MRT (h)	7,7 (4,9-9,0)	5,4 (3,6-7,0)

\*)  $C_{\text{minss}}$  vid 12 h efter sista dosen

## DISKUSSION

Farmakokinetiken för TMP respektive SDZ studerades efter intravenös administrering av TMS (15 mg/kg var 12:e timma) till 8 neonatala föl. En motsvarande farmakokinetisk studie av TMP/SDZ på vuxna hästar gjordes av Gustafsson och medarbetare 1999. Jämfört med vuxna hästar är fölens medianvärde för  $C_{\min}$  vid *steady state* för båda substanserna något högre, 5,6 µg/ml för SDZ jämfört med 3 µg/ml för vuxna, och 0,19 µg/ml för TMP jämfört med 0,04 µg/ml för vuxna. Det är dock sannolikt ingen reell skillnad då materialet i studien med föl är litet och spridningen stor. En tendens till lägre clearance vad gäller TMP kan ses för föl (0,34 l/h·kg) jämfört med vuxna hästar (0,53 l/h·kg). Att clearance är lägre hos unga individer jämfört med vuxna kan bero på att TMP till stor del metaboliseras och att enzymaktiviteten i levern är lägre hos neonatala individer (Furr och Mogg 2003, Baggot 1994, Vaala 1985). Föl verkar dock utveckla sin metabola kapacitet snabbare än andra däggdjur och man har sett en tydlig ökning av den metabola kapaciteten mellan dagsgamla föl och föl som är en vecka gamla. Bland andra däggdjur tar det upp till 3-5 veckor för denna mognad (Caprile och Short 1994). Då SDZ är mer toxiskt än TMP är det av större intresse att clearance för denna substans överensstämmer mellan vuxna och föl. Clearance för SDZ i vår fölstudie (0,08 l/h·kg) överensstämde mycket väl med clearance för vuxna hästar (0,09 l/h·kg). Med detta resultat skulle man kunna anta att samma dos kan användas till både vuxna hästar och föl. I de fall då fölen har något sämre förmåga än vuxna hästar att eliminera ett läkemedel (lägre clearance) blir den totala exponeringen av läkemedlet (AUC) större för föl än för vuxna individer om samma dos används.

Distributionsvolymen ( $V_{dss}$ ) för TMP och SDZ efter administreringen till föl i vår studie (1,57 l/kg resp. 0,52 l/kg) överensstämmer med den för vuxna hästar (1,96 l/kg resp. 0,50 l/kg) (Gustafsson *et al.* 1999). TMP passerar i större utsträckning än SDZ från blodet till vävnaderna och detta resulterar i en högre distributionsvolym för TMP jämfört med SDZ. Det föreligger ingen stor skillnad i halveringstiden ( $t_{1/2}$ ) mellan SDZ och TMP. Detta är positivt då chansen till synergism mellan de båda substanserna ökar om de elimineras i samma hastighet. Förhållandet 1:20 mellan TMP och SDZ ger enligt litteraturen maximal synergism och leder till baktericid effekt på många patogener. Synergistisk aktivitet sker dock i ett brett spann av substansförhållande (Brown *et al.* 1990). I vår studie är förhållandet direkt efter sista läkemedelsgiven 1:17, 6 timmar senare 1:18 och 12 timmar efter sista givan 1:23 (plasmakoncentration för respektive föl och substans, se tabell 2 och 3 i appendix). Koncentrationsförhållandet tycks följas åt relativt väl över tiden. Halveringstiden ( $t_{1/2}$ ) för SDZ respektive TMP skiljer sig inte heller avsevärt mellan neonatala föl och vuxna hästar; 5,1 h jämfört med 4,6 h för SDZ samt 3,7 h jämfört med 2,8 h för TMP (Gustafsson *et al.* 1999). Baserat på denna information skulle man kunna anta att samma dosintervall som används till vuxna hästar kan tillämpas på föl.

Om man jämför resultatet för halveringstiden, clearance och medelkoncentration i denna studie med den studie på föl som gjorts med substanserna trimetoprim/sulfamethazole (Brown 1990) överensstämmer resultatet för sulfonamiderna bättre än det för trimetoprim. Fölen i Browns studie hade högre clearance av TMP, vilket gav en snabbare halveringstid och även en lägre medelkoncentration efter 12 h, trots att dessa föl var yngre (2 dygn) än fölen i vår

studie, som vid provtagningen 12 h efter sista giva var 5 dygn. Högre hepatisk clearance beror dels på enzymernas kapacitet (mognad) men även till viss del av plasmaproteinbindningsgraden. Om det är större andel fritt TMP hos de yngre fölen kan det trots lägre kapacitet hos enzymerna resultera i ett högre clearance.

Plasmaproteinbindningsgraden av TMP och SDZ hos fölen i vår studie var 23% respektive 14% (Arljot 2009). En låg grad av bindning till plasmaproteiner är önskvärt eftersom det är den fria obundna delen av läkemedlet som är antibakteriellt aktivt. Då neonatal hypoalbuminemi är vanligt hos föl har de vanligtvis lägre proteinbindningsgrad än vuxna (Vaala 1985). Vuxna hästars proteinbindningsgrad är enligt Gustafssons studie 35 % för TMP och 20 % för SDZ (Gustafsson *et al.* 1999).

TMS är ett tidsberoende antibiotikum och det är önskvärt att plasmakoncentrationen överstiger MIC under så stor del av dosintervallet som möjligt (Reed *et al.* 2004). MIC för *E.coli* och *Actinobacillus* spp. är mindre än 0,5/9,5 µg/ml (Giguère *et al.* 2006). *E.coli* är troligtvis känsligare för TMS än vad laboratorierna anger. Vaala (1985) anger t ex att MIC för *E.coli* är 0,015/0,3 µg/ml vid kombinationen TMP/SDZ och Paisley (1978) anger 0,066/1,32 µg/ml. Lägsta MIC för dessa patogener bestäms inte av laboratorierna då de inte gör fler spädningar på grund av laboratorietekniska skäl. Det skulle bli kostsamt att testa varje enskilt antibiotikum i olika spädningar för en viss patogen så istället används färdiga testkit till vilket man tillför sitt prov. Nackdelen är dock att gränserna för MIC inte blir exakta (Giguère *et al.* 2006). Vid 12 timmar efter sista läkemedelsgivning ligger samtliga föl under MIC (<0,5/9,5 µg/ml). Medelkoncentrationen av TMP respektive SDZ överstiger MIC under ca 7 timmar, vilket gör att MIC ligger under medelkoncentrationen i 5 h innan ny administrering av läkemedlet sker. Fölen med snabbast elimination understiger MIC redan efter 5 timmar. TMP/SDZ har en viss postantibiotisk effekt (PAE) som innebär att läkemedlet motverkar bakteriell tillväxt även då koncentrationen understiger MIC. PAE är ca 1 timme för TMP/SDZ vid infektioner med gramnegativa bakterier (Reed *et al.* 2004). MIC skulle förmodligen överskridas under en längre tid om dosen ökades med då det finns risker med toxicitet, framförallt vad gäller SDZ, så är det bättre att använda ett kortare dosintervall, dvs administrera läkemedlet oftare. Dosen 15 mg/kg TMS administrerad tre gånger dagligen skulle därför kunna rekommenderas till föl enligt vår studie. Även annan forskning visar att TMS 15 mg/kg kan administreras tre gånger dagligen (Van Duijkeren *et al.* 1995, Brown *et al.* 1983). Nämnas bör dock att om *E.coli* är känsligare för TMS än laboratoriets gränsvärden för MIC (Giguère *et al.* 2006), vilket tidigare beskrivits av Vaala (1985) och Paisley (1978), så skulle administrering två gånger dagligen kunna vara tillräcklig. Huruvida *Actinobacillus* spp. är känsligare än det av laboratorierna angivna MIC är ej känt, och av denna anledning är kanske administrering tre gånger dagligen att föredra framför två gånger dagligen.

Varför man i Sverige kan välja att använda TMS, trots att det internationellt sett inte är förstahandsval vid behandling av föl med sepsis, beror på att det i Sverige föreligger ett mer gynnsamt resistensläge jämfört med t ex Nordamerika (Johansson 2006). Gentamicin (en aminoglykosid) kombinerat med bensylpenicillin är ett vanligt förstahandsval vid behandling av neonatalseptikemi. Ett problem med gentamicin är att den är njurtoxisk samt ototoxisk. Substansen



kan orsaka akut njursvikt då den tagits upp och ansamlas i njurens tubuliceller och orsakat celldöd (Giguère *et al.* 2006). Risken för toxicitet ökar vid behandlingsperioder över 7-10 dagar, flera administreringar per dag, redan föreliggande njurskada, chock och endotoxinemi (Giguère *et al.* 2006). Dessutom ger försämrad njurfunktion minskad utsöndringen av gentamicin och detta i sig ökar risken för toxicitet (Giguère *et al.* 2006). Föl med neonatal septikemi är speciellt känsliga för behandling med potentiellt njurtoxiska läkemedel eftersom de ofta i sin sjukdomsprocess utvecklar endotoxinemi och cirkulatorisk chock. Dessutom förekommer njurskador hos föl med neonatal septikemi. TMS skulle av dessa anledningar därför vara att föredra framför gentamicin vid behandling av föl med sepsis. Uppföljning av serumkoncentrationen av gentamicin och justering av doseringsintervallet minskar risken för komplikationer i form av njurskador (Caprile och Short 1987). Detta är dock både kostsamt och tidskrävande och tillämpas inte på kliniker i Sverige men är desto vanligare i Nordamerika. Aminoglykosider kan även orsaka muskelparalys och apné och man bör ha det i åtanke särskilt när det gäller föl som är respiratoriskt påverkade (Caprile och Short 1987). Andra fördelar med TMS jämfört med gentamicin kombinerat med penicillin, är att TMS passerar blodhjärnbarriären (Giguère *et al.* 2006), vilket gentamicin inte gör. Penicillin kan passera blodhjärnbarriären då inflammation föreligger men då t ex *Actinobacillus* spp. är relativt okänsligt och *E.coli* är resistent för penicillin (Giguère *et al.* 2006) är behandlingen kanske inte effektiv.

Sammanfattningsvis kan man säga att TMS i dagsläget kan ersätta substansen gentamicin till föl med sepsis i Sverige därför att gentamicin inte *behöver* användas, detta framför allt pga mindre resistensproblematik jämfört med övriga världen.

### **Svagheter i studien**

En svaghet i studien är det begränsade försöksmaterialet, som bestod av endast 8 individer. Dessutom var dessa individer kliniskt friska. Hur substanserna uppträder i individer som är allmänpåverkade och med en pågående infektion har inte undersökts i denna studie men det vore intressant att studera. Det är känt att farmakokinetiken hos läkemedel påverkas av sjukdomstillstånd. Exempelvis så ger sämre genomblödning av vävnaderna och eventuell dehydrering förändringar av läkemedlets effekt. Feber och pH påverkar distributionsvolymen (Vaala 1985). Metabolisk acidosis, som kan ses vid septikemi, gör bland annat att distributionsvolymen för läkemedel som är syror (tex sulfonamider) ökar och plasmakoncentrationen minskar (Vaala 1985). Vävnadsinflammation påverkar sulfonamidernas aktivitet negativt genom närvaro av PABA (Giguère *et al.* 2006).

En ytterligare svaghet är att aktuella MIC-värden för TMS och de vanligaste sepsispatogenerna i Sverige; *E.coli* och *Actinobacillus* spp. inte är kända.

### **KONKLUSION**

TMS kan användas till föl i Sverige med septikemi orsakad av *E.coli* och *Actinobacillus* spp. Samma dos och dosintervall som till vuxna kan användas, 15 mg/kg 2 ggr/dag (q 12 h) men då osäkerhet avseende MIC för *E.coli* och

*Actinobacillus* spp. föreligger rekommenderas istället administrering 3 gånger (q 8 h) dagligen.

### **Tack**

Först och främst vill jag rikta ett stort tack till min handledare Johan Bröjer, för stöd och uppmuntran i skrivarbetet och givande samtal kring tolkning av resultaten. Ett lika stort tack vill jag rikta till min biträdande handledare Carina Ingvast-Larsson vars tålamod är enormt och utan vars hjälp med farmakokinetiken jag inte skulle klarat mig. Tack även till Katarina Nostell för hjälp med den praktiska delen av studien samt till Lena Olsén för fint stöd då resultaten skulle analyseras. Sist men inte minst tack till Västerbo stuteri för att studien fick utföras hos er.

## LITTERATURFÖRTECKNING

### Artiklar

- Baggot, J.D. and Short, C.R. 1984. Drug disposition in the neonatal animal, with particular reference to the foal. *Equine Veterinary Journal*. 16: 364-367.
- Baggot, J.D. 1994. Drug therapy in the neonatal foal. *Veterinary clinics of North America: Equine practice*. 10: 87-107.
- Brewer, B.D., and Koterba, A.M., 1990. Bacterial Isolates and Susceptibility Patterns in Foals in a Neonatal Intensive Care Unit. *The Compendium, Equine*. 12: 1773-1780.
- Brown, M.P., Kelly, R.H., Stover, S.M. and Gronwall, R. 1983. Trimethoprim-sulfadiazine in the horse: Serum, synovial, peritoneal, and urine concentrations after single-dose intravenous administration. *American Journal of Veterinary Research*. 44: 540-543.
- Brown, M.P., McCartney, J.H., Gronwall, R. and Houston, A.E. 1990. Pharmacokinetics of trimethoprim-sulphamethoxazole in two-day-old foals after a single intravenous injection. *Equine Veterinary Journal*. 22: 51-53.
- Caprile, K.A. and Short, C.R. 1987. Pharmacologic Considerations in Drug Therapy in Foals. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 3: 123-144.
- Furr, M. 1999. Antimicrobial treatment for the septic foal. *North American Veterinary Conference*. Vol. 2: 86-87
- Furr, M. and Mogg, T.D., 2003. Antimicrobial Treatment of Neonatal Foals. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, Vol 25, No. 4.
- Gustafsson, A., Båverud, V., Franklin, A., Gunnarsson, A., Ögren, G. and Ingvast-Larsson, C. 1999. Repeated administration of trimethoprim/sulfadiazine in the horse – pharmacokinetics, plasma protein binding and influence on the intestinal microflora. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 22: 20-26.
- Marsh, P.S. and Palmer, J.E., 2001. Bacterial isolates from blood and their susceptibility patterns in critically ill foals: 543 cases (1991-1998). *Journal of the American veterinary medical association*. 218: 1608-1610.
- Paisley, J.W. and Washington II, J.A., 1978. Synergistic activity of Gentamicin with Trimethoprim or Sulfamethoxazole-Trimethoprim against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Nov 1978, p 656-658. Vol. 14, No 5.
- Paradis, M.R. 1994. Update on neonatal septicemia. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 10: 109-135

Sanchez, L.C., 2005. Equine neonatal sepsis. *Veterinary Clinics of North America: Equine practice*. 21: 273-293

Vaala, W.E. 1985. Aspects of Pharmacology in the Neonatal Foal. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 1: 51-75.

Van Duijkeren, E., Vulto, A.G., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M, Kessels, B.G.F., van Miert, A.S.J.P.A.M., Breukink, H.J. 1995. Pharmacokinetics of trimethoprim/sulphachlorpyridazine in horses after oral, nasogastric and intravenous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 18:47-53.

Wichtel, M.E.G., Buys, E., DeLuca, J. and Stringel, G. 1999. Pharmacologic considerations in the treatment of neonatal septicemia and its complications. *Veterinary Clinics of North America: Equine practice*. 15: 725-746.

## **Böcker**

*FASS VET*. 2008. Läkemedelsindustriföreningen, LIF.

Giguère, S., Prescott, J.F., Baggot, J.D., Walker, R.D., Dowling, P.M. 2006. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Blackwell publishing.

Kahn, C.M. 2005. *The Merck Veterinary Manual*. Merck & Co., Inc.

Plumb, D.C. 2005. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. Blackwell publishing.

Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. 2007. *Veterinary Medicine*. Saunders Elsevier.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Moore, P.K. 2003. *Pharmacology*. Churchill Livingstone.

Reed, S.M., Bayly, W. And Sellon, D. 2004. *Equine Internal Medicine*. W.B. Saunders company

## **Examensarbeten**

Arljot, A-K. 2009. Upprepad administrering av trimetoprim/sulfadiazin till neonatala föl -plasmaproteinbindning och effekt på serumbilirubinkoncentrationen. (Sveriges lantbruksuniversitet, Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Veterinärprogrammet) vol 2009:10

Hjalmarsson Vertovec, R. 2007. Enkel intravenös administrering av trimetoprim-sulfadiazin hos neonatala föl : farmakokinetik samt känslighet hos gramnegativa bakterier från föl med septikemi (Sveriges lantbruksuniversitet, Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Veterinärprogrammet) vol. 2007:63

Johansson, I. 2006. Bakteriella isolat, antibiotikaresistens och överlevnad hos föl med septikemi (Sveriges lantbruksuniversitet, Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Veterinärprogrammet) vol 2006:23

## APPENDIX

Tabell 2. Plasmakoncentration av TMP hos 8 föl 0-72h efter försökets start.

Tid (h)	TMP föl 1	TMP föl 2	TMP föl 3	TMP föl 4	TMP föl 5	TMP föl 6	TMP föl 7	TMP föl 8
0	0	0	0	0	0	0	0	0
12							0,18	
24	0,17	0,24	0,14		0,12		0,31	
36	0,15	0,25	0,16	0,12	0,21		0,34	
48	0,12	0,23	0,17	0,12	0,28		0,31	0,11
48,08	1,65	1,72	1,59	1,71	2,06	1,56	1,8	1,54
48,25	1,38	1,49	1,43	1,3	1,69	1,31	1,63	1,35
48,5	1,33	1,32	1,3	1,25	1,44	1,25	1,45	1,31
48,75	1,15	1,37	1,28	1,23	1,39	1,15	1,36	1,17
49	1,14	1,34	1,09	1,2	1,37	0,99	1,38	1,22
50	1,03	1,13	1,05	0,99	1,21	0,84	1,13	1
52	0,72	0,8	0,73	0,67	0,98	0,54	0,83	0,72
55	0,39	0,53	0,45	0,41	0,66	0,21	0,59	0,44
60	0,12	0,28	0,16		0,32		0,27	0,12
64		0,12			0,17		0,11	
72								

Tabell 3. Plasmakoncentration av SDZ hos 8 föl 0-72h efter försökets start.

Tid (h)	SDZ föl 1	SDZ föl 2	SDZ föl 3	SDZ föl 4	SDZ föl 5	SDZ föl 6	SDZ föl 7	SDZ föl 8
0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	9,59	3,57	3,37	7,62	4,83	7,46	3,47	5,12
24	12,3	4,02	3,32	9,36	6,71	8,35	3,34	6,69
36	12,5	3,09	2,71	8,84	7,73	8,67	3,09	6,07
48	9,99	2,63	2,45	8,33	7,94	7,69	2,58	6
48,08	34,1	27,7	27	30,7	32,3	31	25,1	29,2
48,25	31,6	24,5	22,8	27	29,4	28	22,8	25,7
48,5	32,4	21,8	20,6	25,6	24,6	26	20,3	23,9
48,75	27,1	21	20,1	25	23,8	24	18,6	21,4
49	25,4	18,6	18	23,8	24,5	23	17,3	21,4
50	24,1	15,4	14,4	21,5	21,4	21	13,2	18,7
52	19,2	10,5	9,97	15,2	17	17	8,71	13,7
55	13,6	6,05	5,58	12	12,1	11	5,47	9,64
60	8,35	2,23	2,06	7,03	6,82	6,12	2,17	5,16
64	5,23			4,32	4,02	3,85		2,72
72	1,98			1,59	1,58	1,4		