



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för kliniska vetenskaper

# Utsöndring av karprofen i mjölk hos lakterande tikar

*Johanna Holmberg*



*Uppsala  
2017*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2017:07*



# Utsöndring av karprofen i mjölk hos lakterande tikar

## Excretion of carprofen in milk in lactating bitches

*Johanna Holmberg*

**Handledare:** Anna Edner, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Biträdande handledare:** Carl Ekstrand, Institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsovetenskap, Ragnvi Hagman, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Examinator:** Görel Nyman, Institutionen för kliniska vetenskaper

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0736

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2017

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2017:07

**ISSN:** 1652-8697

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

**Nyckelord:** NSAID, karprofen, kirurgi, förlossning, laktation, tik

**Keywords:** NSAID, carprofen, surgery, delivery, lactation, bitch

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper



## SAMMANFATTNING

Vid ungefär 16 % av alla dräktigheter hos hund tillstöter förlossningssvårigheter (dystoki) och många av tikarna behöver i slutändan kirurgisk behandling i form av kejsarsnitt. Ett kejsarsnitt är ett mjukdelingrepp jämförbart med en ovariehysterektomi och det får anses väl känt att det är ett smärtsamt sådant. Efter ingrepp av liknande art är postoperativ smärtlindring med NSAID (Non Steroidal Anti-Inflammatory Drug) gängse behandling. Det är dock inte praxis att behandla med NSAID postoperativt efter kejsarsnitt då man inte kunnat utesluta att läkemedlet eventuellt passerar ut i tikens mjölk och riskerar att skada valparna. För djurslaget hund finns ovanligt lite vetenskaplig dokumentation gällande i vilken grad karprofen, en NSAID, förs över till tikens mjölk. Studier på nötkreatur har dock visat att nästintill odetekterbara mängder av läkemedlet kan hittas i mjölken. År 2012 gjordes en liten studie där utsöndringen av karprofen i mjölk hos tik undersöktes och endast låga nivåer återfanns då. Syftet med denna studie var därför att undersöka halten karprofen i mjölk hos kejsarsnittade tikar som behandlats med läkemedlet postoperativt. Det långsiktiga målet var att öka välfärden för kejsarsnittade tikar genom att kunna erbjuda en adekvat postoperativ smärtlindring utan att riskera valparnas hälsa. Hypotesen var att nivåerna av karprofen i tikens mjölk skulle vara så låga att den mängd valpen får i sig via mjölken inte utgör någon fara för dess hälsa.

Studien bestod av två delar där en pre-klinisk studie initialt utfördes på en tik ägd av Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU). Tiken behandlades med en postoperativ subkutan injektion karprofen (4 mg/kg) efter genomfört kejsarsnitt och behandlades därefter per os med 2 mg/kg två gånger dagligen i fem dagar. Mjökprover samlades in tre timmar efter läkemedelsgeva i fem dagar och analyserades sedan avseende karprofennivå. En klinisk studie utfördes därefter på patienttikar som inkommit till Universitetsdjursjukhuset i Uppsala (UDS) på grund av dystoki. Djurägarna signerade ett informerat samtycke och tikarna behandlades enligt samma protokoll som SLU-tiken. Djurägarna samlade in mjökprover under fem dagar och dessa frystes sedan i väntan på analys. Karprofennivån i mjök analyserades hos totalt tre av nio initialt deltagande tikar. I tillägg till mjökprover togs blodprover på den SLU-ägda tikens sju valpar vid 28 dagars ålder. Tiken fick karprofen per os (2 mg/kg) och valparna tilläts dia en timme efter läkemedelsgevan. Blodprover togs sedan ifrån valparnas jugularven varje halvtimme med start 30 min efter digivningens start. Simuleringar utfördes i dataprogrammet Maxsim2 för att demonstrera plasmakoncentrationen av karprofen hos en vuxen hund samt en teoretisk plasmakoncentration av karprofen hos en diande valp som fått i sig den beräknade dosen 1,8 µg karprofen per digivningstillfälle vid tio tillfällen per dygn under fem dagar (tikens behandlingstid). Dosberäkningen utfördes utifrån den högst funna karprofenkonzentrationen i tikarnas mjök (0,3 µg/ml, tik 2, dag 5). Konzentrationen av karprofen visade sig vara låg i tikarnas mjök vilket stämmer väl överens med resultat från tidigare studier på hund och nötkreatur. Även karprofenhalten i plasman hos den SLU-ägda tikens sju valpar var låg och befann sig vid de flesta provtagningarna under detekterbar nivå. Enligt den teoretiska simuleringen visade sig konzentrationen karprofen i valpens blod vara endast en tusendel av konzentrationen i tikens blod. Patientmaterialet i denna studie var dock för litet för att kunna dra några säkra slutsatser och mer forskning bör bedrivas för att med säkerhet kunna behandla tikar med karprofen postoperativt efter kejsarsnitt.

## SUMMARY

Dystocia occurs in about 16% of all pregnancies in dogs and many of the dystocia's ends up with a caesarean section having to be performed. A caesarean section is a soft tissue surgical procedure comparable with an ovariohysterectomy and it may be considered well-known that it is a painful procedure. The use of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAID) is common as pain relief after similar surgical procedures but it's not a widespread treatment after a caesarean because of the risk that the drug might pass into the milk risking to affect the puppies. There is little scientifically supported information regarding whether carprofen, which is a NSAID, is transmitted into the milk of lactating bitches. Studies performed on cattle have however shown that almost undetectable concentrations of carprofen can be found in the milk of dairy cows. In 2012, a pilot study was performed on dogs where the concentration of carprofen was measured in the milk of the lactating bitches and was found to be low. The purpose of this study was therefore to analyze the concentration of carprofen in the milk of lactating bitches that had been treated with the drug postoperatively after caesarean. The goal was to increase the welfare of the dogs by being able to treat them with pain-relieving drugs after a performed caesarean. The hypothesis was that the concentration of carprofen would be low in milk and therefore pose no risk for the suckling newborns. The study consisted of two parts where a preclinical part initially focused on a bitch owned by The Swedish University of Agricultural Sciences in Uppsala. The bitch was treated postoperatively with a subcutaneous injection of carprofen (4 mg/kg) and was then given tablets (2 mg/kg) twice daily for five days. Milk samples were collected three hours after the tablet had been given for five days in a row and were then analyzed regarding the concentration of carprofen. A clinical study was then performed where patients with dystocia at the animal hospital in Uppsala (UDS) were included. Animal owners signed an informed consent and the bitches were treated according to the same protocol as the dog in the preclinical study. The animal owners collected milk samples during the five days of treatment and these were stored in freezing temperature until analyzed. The concentration of carprofen in milk was analyzed in three of the initially nine participating lactating bitches. It was also investigated if carprofen could be found in the blood of the newborns by measuring the plasma concentrations of carprofen in the puppies of the dog that was included in the preclinical study. The bitch received carprofen orally (2 mg/kg) and the puppies were allowed to suckle an hour later. Blood samples were then received from the jugular vein every half hour starting 30 minutes after the lactation. Simulations were made in the program Maxsim2 to be able to demonstrate the plasma concentration of carprofen in the adult but also to show the theoretical changes in plasma concentrations in a suckling newborn that obtained 1,8 µg of carprofen in the milk per time of lactation during ten times per day for five days (the treatment time of the bitch). The calculations were made from the highest found concentration of carprofen (0,3µg/ml in the milk of bitch 2, day 5). The concentrations of carprofen showed to be low in milk which correlates well to the results from earlier studies performed on dogs and dairy cows. The plasma concentration of carprofen in the newborns was also low and according to the theoretical simulation, the plasma concentration of the drug seemed to be only a thousandth of the concentration in the plasma of the adult. However, the patient material in this study was quite small and further research on the subject should be performed to surely say that it's safe to treat lactating bitches with carprofen postoperatively after a caesarean section.

## INNEHÅLL

<b>Inledning</b> .....	<b>1</b>
Syfte och hypotes _____	1
<b>Litteraturstudie</b> .....	<b>2</b>
Dystoki _____	2
Smärta _____	2
NSAID _____	4
Karprofen _____	5
Laktation och mjölkens innehåll _____	5
Utsöndring av karprofen i mjölk _____	6
Farmakologiska aspekter hos valpen _____	7
Risker med NSAID till valpar _____	8
<b>Material och metoder</b> .....	<b>8</b>
Pre-klinisk studie: SLU-ägd tik _____	8
Klinisk studie: privatägda tikar _____	9
Anestesiprotokoll _____	9
Analysmetod _____	9
Simulering av karprofennivå i plasma _____	10
<b>Resultat</b> .....	<b>12</b>
<b>Diskussion</b> .....	<b>16</b>
Konklusion _____	18
<b>Referenslista</b> .....	<b>19</b>
<b>Appendix 1</b> .....	<b>1</b>
<b>Appendix 2</b> .....	<b>2</b>

## INLEDNING

Vid ungefär 16% av alla dräktigheter hos hund tillstöter förlossningssvårigheter (dystoki) (Bergström *et al.*, 2006) och många av tikarna behöver även kirurgisk behandling i form av kejsarsnitt. Ett kejsarsnitt är ett mjukdelsingrepp jämförbart med en ovariehysterektomi och det får anses väl känt att det är ett smärtsamt sådant (Schneider *et al.*, 2015). Efter ingrepp av liknande art är postoperativ smärtlindring med NSAID (Non Steroidal Anti-Inflammatory Drug) gängse behandling. Det är dock inte praxis att behandla med detta postoperativt efter kejsarsnitt då det inte kunnat uteslutas att läkemedlet eventuellt passerar ut i tikens mjölk och riskerar att skada valparna. Otillräcklig smärtlindring är negativt för tikens välbefinnande och kan också medföra negativa effekter i form av sänkt vatten- och foderintag vilket reducerar mjölkproduktionen. Smärta kan även leda till ett sämre omhändertagande av valparna (Søndergaard *et al.*, 2012).

Att det inte finns något godkänt läkemedel att smärtlindra kejsarsnittade tikar med postoperativt skapar en svårighet för behandlande veterinärer. I vissa fall har veterinärer under de senaste åren behandlat den opererade tiken med NSAID vilket strider emot rådande FASS-rekommendationer. Detta har lett till att anmälningar från djurägare kommit in till Veterinära ansvarsnämnden då det ansetts att valparna tagit skada eller avlidit på grund av behandlingen. Postoperativ behandling med NSAID-preparat rekommenderas dock i vissa studier vid kejsarsnitt på tik (Ryan & Wagner, 2006) och en undersökning i Danmark visade att 78% av veterinärerna ordinerar NSAID-behandling till tikarna postoperativt (Søndergaard *et al.*, 2012).

För djurslaget hund finns endast lite vetenskaplig dokumentation gällande i vilken grad karprofen, en NSAID, förs över till tikens mjölk (Mathews, 2005). Studier på nötkreatur har dock visat att nästintill odetekterbara mängder av läkemedlet kan hittas i mjölken (Lohuis *et al.*, 1991). År 2012 gjordes en liten svensk studie där utsöndringen av karprofen i mjölk hos två tikar undersöktes och det återfanns då endast låga nivåer (Persson, 2012).

## Syfte och hypotes

Syftet med denna studie var att undersöka halten karprofen i mjölk hos kejsarsnittade tikar som behandlats med läkemedlet karprofen postoperativt. Det långsiktiga målet var att öka välfärden för kejsarsnittade tikar genom att kunna erbjuda en adekvat postoperativ smärtlindring utan att riskera valparnas hälsa.

Hypotesen var att nivåerna av karprofen i tikens mjölk skulle vara så låga att den mängd valpen får i sig via mjölken inte utgör någon fara för dess hälsa.



## LITTERATURSTUDIE

### Dystoki

Dystoki betyder svårighet vid förlossning vilket innebär att tiken inte förmår att föda fram sin valp utan hjälp. Detta är ett relativt vanligt problem hos hundar i Sverige; den svenska dystokifrekvensen har i ett svenskt försäkringsdatabasmaterial beräknats till 16 % (Bergström *et al.*, 2006). Hos chondodystrofa raser samt raser med stora huvuden kan andelen med dystoki uppgå till nästan 100 % (Gill, 2002).

Den vanligaste orsaken till dystoki är värksvaghet vilket kan bero på primära eller sekundära orsaker. Vid de tillfällen då det bara är en eller två valpar kan signalerna från fostren att kontrahera livmodern för att påbörja värkarbetet bli för svaga. Detta är ett exempel på primär svaghet. Andra orsaker till primär värksvaghet kan vara att fostren är överdimensionerade, att det är för mycket fostervatten eller att det är en stor kull som ger en övertänjning av myometriet. Även åldersrelaterade förändringar, genetisk predisposition samt näringsmässig obalans räknas som primära orsaker till värksvaghet. Värkarbetet kan ibland vara tillräckligt för att förlossningen skall komma igång men räcker inte för att förlösa alla foster normalt trots att obstruktion inte föreligger. I dessa fall rör det sig om primär partiell värksvaghet. Vid primär total värksvaghet kommer dock inte förlossningen igång alls vid fullgången tid p.g.a. uteblivet värkarbete.

Vid sekundär värksvaghet föreligger en förträngning i förlossningskanalen som förhindrar att ett eller flera foster föds fram alternativt att fostret är för stort eller är beläget i ett felaktigt läge.

I vissa fall bedöms kejsarsnitt vara nödvändigt när en tik har förlossningssvårigheter. Kriterierna för detta är bl. a. att man har en tik som har en total eller partiell primär värksvaghet som inte svarar på behandling eller en sekundär värksvaghet där återupptagandet av värkarbetet är otillräckligt. Andra indikationer kan vara avvikelser i moderns bäcken, överdimensionerade foster eller att ett felläge inte är möjligt att korrigera (Linde-Forsberg & Eneroth, 1998).

Ett kejsarsnitt är ett mjukdelsingrepp jämförbart med en ovariehysterektomi och det får anses väl känt att ingreppet är smärtsamt (Schneider *et al.*, 2015). Vanligen används ett anestesiprotokoll där narkos induceras med intravenös GABA-agonist, till exempel propofol och underhålls med gasanestesi i form av t.ex. isofluranas. Premedicinering undviks för att inte riskera att påverka valparna men tiken bör preoxygeneras cirka 10–15 minuter innan det kirurgiska ingreppet. När valparna plockats ut ur livmodern smärtlindras tiken ofta med en dos av ett opioidpreparat. Det är dock inte praxis att behandla tiken med smärtlindrande läkemedel postoperativt (Rickard, 2011).

### Smärta

Smärta beskrivs som en händelse som upplevs ogynnsam av en individ och kan uppkomma till följd av vävnadsskada, exempelvis i form av inflammation, trauma eller sjukdom (Rang & Dale, 2007). Oförmågan att förmedla sin smärta till omvärlden förändrar inte det faktum att en

människa eller djur faktiskt upplever smärta eller behöver smärtlindrande läkemedel (Murrell & Ford-Fennah, 2011).

Ett mekaniskt, termalt eller kemiskt stimuli kan vara potentiellt skadligt för kroppens vävnader och kan aktivera nociceptiva transportvägar i kroppen. Stimulit transmitteras till det centrala nervsystemet och ger upphov till en smärtförnimmelse hos individen. När en individ utsätts för perifer vävnadsskada kan stora förändringar i smärtekänslighet observeras. Smärtan blir inte endast lokaliserad till den lokala vävnadsskadan utan kan även spridas till omringande vävnad på grund av aktivering av smärtbanorna i kroppen. Om de nociceptiva smärtbanorna aktiveras upprepade gånger resulterar det i en uppregerad smärtekänslighet (Murrell & Ford-Fennah, 2011).

Det har kunnat visas att smärta inte endast består av en enhet utan kan klassificeras i fysiologisk, inflammatorisk och neuropatisk smärta. Fysiologisk smärta ger ofta ett lämpligt svar i förhållande till graden av skadligt stimuli och man ser ett linjärt mönster där smärtförnimmelsen ökar om stimuli ökas. Smärtbanorna aktiveras på ett normalt sätt och anses ha en skyddande effekt för kroppen. Inflammatorisk smärta initieras däremot vid inflammation eller vävnadsskada. Det är också den slags smärta som oundvikligen uppstår efter ett kirurgiskt ingrepp. Inflammatorisk smärta associeras, till skillnad från fysiologisk smärta, med förändringar i smärtbanorna som resulterar i en ökad smärtekänslighet. Neuropatisk smärta uppstår om en direkt skada på en perifer nerv sker. Den kliniska betydelsen av neuropatisk smärta är inte helt utredd hos djur och det kan vara en stor utmaning att behandla djur med kronisk neuropatisk smärta (Murrell & Ford-Fennah, 2011).

En smärthypersensibilisering vid platsen för vävnadsskada samt även i närliggande normal vävnad sker när klinisk smärta uppstår. Stimuli som normalt sett inte upplevs smärtsamma börjar plötsligt göra det och framkallar en förlängd och allvarligare smärta än hos ett friskt djur. Denna hypersensitivitet till följd av inflammatorisk smärta återgår ofta till normal nivå om sjukdomsprocessen som leder till smärtan kontrolleras på ett adekvat sätt. Processen där ett stimuli beläget vid vävnadsskada resulterar i en intensifierad och förlängd smärtförnimmelse kallas för primär hyperalgesi och beror på en perifer sensitisering (Murrell & Ford-Fennah, 2011). Nociceptorer är sensoriska receptorer som aktiveras av skadliga stimuli och är fria nervändar av främst afferenta nociceptiva fibrer. Huvudsakligen består de av A- och C-fibrer och dessa sensoriska fibrer överför informationen från det perifera nervsystemet till ryggmärgen. Detta är första steget i överföringen av nociceptiv information från vävnadsskadan till hjärnans perifera del. Värme-, kemiska- och mekaniska receptorer som är perifert belägna och reagerar på skadligt stimuli exciteras vid vävnadsskada. Detta gör att ytterligare harmfula stimuli har en högre sannolikhet att aktivera nociceptorerna och trigga aktivitet i nociceptiva smärtbanor, vilket slutligen resulterar i att djuret upplever smärta. Denna process sker som en följd av exponering av nociceptorn för sensibiliserande agens. Agens kan exempelvis vara inflammatoriska mediatorer som frisläpps vid vävnadsskada. En effektiv strategi för att reducera primär perifer hyperalgesi är behandling med NSAID-preparat då NSAID reducerar

frisättningen av inflammatoriska mediatorer från platsen för vävnadsskadan. Därmed minskar sensitiseringen av nociceptorn (Murrell & Ford-Fennah, 2011).

Goda kunskaper krävs om djurens normala artspecifika beteenden samt om den individuella patienten för att kunna bedöma smärta på ett objektivt sätt. Man behöver även vara medveten om att djurens beteende kan förändras av externa miljöfaktorer. Djuren måste observeras under en tillräckligt lång tidsperiod via närmanden, palpation samt även ostört eftersom de inte verbalt kan kommunicera sina känslor eller smärtförnimmelser på samma sätt som människor (Grant, 2006).

Ett kejsarsnitt är ett mjukdelsingrepp som är jämförbart med en ovariehysterektomi vilket man vet ger upphov till postoperativ smärta (Schneider *et al.*, 2015). På humansidan beskriver man att smärta efter ett kejsarsnitt kan delas upp i två komponenter; postoperativ smärta från operationssåret samt smärta från kontraktioner i livmodern. Studier har visat att kvinnor som genomgått ett kejsarsnitt har upplevt en ökad smärtlindring vid behandling med NSAID-preparat postoperativt (Olofsson *et al.*, 2000). I en utförd studie fick även kvinnor som fött barn gradera sin smärta som de upplevde dagarna efter förlossningen, när livmodern skall återgå till normal storlek. Behandling med NSAID visade sig då vara signifikant bättre än placebo avseende den smärtlindrande effekten (Deussen *et al.*, 2011).

## **NSAID**

NSAID-preparat används bland annat för postoperativ smärtlindring samt som antiinflammatorisk och smärtstillande behandling vid t.ex. osteoartrit eller kronisk värk. Det som eftersträvas vid behandling med läkemedlen är dess smärtlindrande, antiinflammatoriska och antipyretiska effekter. Det finns vissa individuella skillnader mellan de olika typerna av NSAID men den gemensamma verkningsmekanismen är att de hämmar enzymet cyklo-oxygenas (COX). Därmed hämmas produktionen av prostaglandiner och tromboxaner. Det finns två isoformer av detta enzym; COX 1 och COX 2. Det är tänkbart att det även finns andra COX-enzymmer som genererar prostaglandiner men de har inte blivit beskrivna ännu. Det grundläggande enzymet COX 1 finns uttryckt i de flesta vävnader samt även i kroppens trombocyter. Det är ett grundläggande enzym som bland annat ansvarar för prostaglandinproduktionen i kroppen vilket har en viktig slemhinneskyddande effekt i magsäcken. Det påverkar även vävnadshemostasen, trombocyttaggregation, initierar förlossning samt har en roll i regleringen av blodflödet i njurarna. Prostaglandiner ökar också kärlens permeabilitet, orsakar vasodilatation samt ökar smärtsensibiliteten. COX 2 induceras istället i inflammatoriska celler när de infekteras, skadas eller aktiveras av inflammatoriska cytokiner. COX 2 är därmed den isoform som främst ansvarar för produktionen av inflammationsmediatorer. COX 2 finns även beläget i centralnervös vävnad samt vissa övriga vävnadstyper. Dess funktion på dessa platser är dock inte helt fastställd (Rang & Dale, 2007).

De flesta traditionella NSAID-preparaten inhiberar både COX 1 och COX 2 även om det varierar i vilken grad respektive form inhiberas. Den antiinflammatoriska effekten, samt troligen även den analgetiska och antipyretiska effekten, anses framför allt vara relaterad till

inhibering av COX 2 medan oönskade effekter som påverkan på magtarmkanalen huvudsakligen är ett resultat av att COX 1 inhiberas. Önskade effekter som kan ses vid NSAID-behandling är bland annat magtarmstörningar, renal papillär nekros samt inhibering av trombocyttaggregation (Aarnes & Muir, 2011).

Idag finns flera alternativ vid behandling med NSAID och de olika preparaten har till viss del olika egenskaper. Karprofen är ett NSAID-preparat som förskrivs som smärtstillande och antiinflammatoriskt läkemedel till flera djurslag, exempelvis hund, katt och nötkreatur. Indikationer för användning av karprofen är behandling av postoperativ smärta samt som antiinflammatorisk och analgetisk behandling vid sjukdomar i skelett och leder (Fass vet, 2016).

### **Karprofen**

Karprofen hämmar, liksom övriga NSAID-preparat, enzymet cyklo-oxygenas i prostaglandinsyntesen. Forskningsresultat har visat att karprofen troligen selektivt inhiberar COX-2 (Ricketts *et al.*, 1998). Absorptionstiden för karprofen är snabb och maximal serumkoncentration uppnås inom två timmar efter en oral administrering med 4 mg/kg kroppsvikt. Den maximala plasmakoncentrationen efter en oral administration av 2 mg/kg är cirka 16,5 µg/ml och denna koncentration nås ungefär en timme efter läkemedelsgivan (Clark *et al.*, 2003). Karprofen absorberas något långsammare efter en subkutan giva än vid oral administration men absorptionstiden är mindre än tolv timmar vid båda administrationsvägarna. Halveringstiden är cirka åtta timmar och ungefär 99 % av läkemedlet är proteinbundet. Ämnet har en god biotillgänglighet där cirka 90 % tas upp av kroppen vid oral administrering (Mckellar *et al.*, 1993). Huvudsakligen metaboliseras läkemedlet i levern och utsöndras via gallan. En stor del av karprofen utsöndras i metaboliserad form via träck och en mindre del utsöndras via urinen. En viss del av metaboliterna genomgår enterohepatisk recirkulation; cirka 34 % av dosen recirkuleras (Marie-Gauthier *et al.*, 1998).

### **Laktation och mjölkens innehåll**

Mjölmängd och mjölkkomposition varierar en hel del mellan olika arter (Ofstedal, 1984). Hur mycket protein, fett, elektrolyter och laktos mjölken innehåller varierar främst beroende på hur pass utvecklad artens avkomma är vid födseln. Det är dock samma innehåll i mjölken fastän proportionerna av de olika ämnena skiljer sig åt (Sjaastad *et al.*, 2010). En tik anses producera en relativt koncentrerad mjölk med cirka 21–26% torrs substans, 7–10% protein och 8–12% fett (Ofstedal, 1984). Humanmjölk innehåller cirka 4,6 % fett och har därmed en lägre fettprocent än tikmjölk (Livsmedelsverket, 2016).

Endast lite information finns om hur stor mjölmängd en tik lakterar. En utförd studie visade att det individuella mjölkintaget hos beaglevalpar varierade mellan 126–239 g/dag vid 19 dagar och från 134 till 229 g/dag vid 26 dagar (Ofstedal, 1984). Samma studie visade att den totala mjölmängden per tik var  $964 \pm 57,6$  g/dag när valparna var 19 dagar och  $159 \pm 17$  g/dag när valparna var 26 dagar gamla. Dessa mängder motsvarade 7,6 % av moderns vikt vid 19 dagar och 8,3 % av moderns vikt vid 26 dagars ålder (Ofstedal, 1984).

Nyfödda valpar bör dia varannan till var tredje timme och en frisk valp skall öka sin vikt med 5–10 % per dag (Hotston, 1998). Valpens kaloribehov är 133 kalorier/kg/dag under första levnadsveckan. Om valparna inte går upp tillfredsställande i vikt så krävs stödutfodring med mjölkersättning (Rickard, 2011).

### **Utsöndring av karprofen i mjölk**

Flera studier har utförts på nötkreatur för att utvärdera huruvida karprofen utsöndras i mjölk. Resultaten har visat att endast små mängder förs över i mjölken och i en studie konstaterades det att efter en enstaka subkutan injektion återfanns nivåer som var lägre än detekterbar nivå ( $<0,022 \mu\text{g/ml}$ ) (Lohuis *et al.*, 1991). I samma studie inducerades mastit och det konstaterades att endast låga nivåer av karprofen ( $0,16\mu\text{g/ml}$ ) återfanns i mjölken efter 12 timmar. Dessa nivåer sjönk sedan till ickedetekterbar nivå ( $0,022\mu\text{g/ml}$ ) efter 24 timmar. I ett flertal studier som utförts för att fastställa karenstider har man också sett att nivåerna av karprofen har varit extremt låga. European Medicines Agencys (EMA) studie visade att högsta medelvärdet av karprofenrester i mjölk låg under detekterbar nivå ( $25\mu\text{g/kg}$ ). Det prov som hade högst mjölkkoncentration av karprofenrester hade en nivå på  $26,1\mu\text{g/kg}$  och detta var det enda provet som var på en detekterbar nivå (EMA, 2005).

NSAID är sura läkemedel med hög proteinbindning ( $>90\%$ ) och låg fettlöslighet. Dessa faktorer minskar risken för omfattande överföring till humanmjölk som har ett något surt pH i jämförelse med plasma. Dess egenskaper gör även att överföring av den icke-joniserade formen av läkemedlet från mjölk till den mer alkaliska plasman främjas. Detta är ett exempel på en omvänd jonfälla och förhållandet mellan mjölk och plasma är generellt  $<1$  (Bloor & Paech, 2013). Olika NSAID har dock olika egenskaper vilket kan påverka huruvida de utsöndras i mjölk. Undersökta NSAID-preparat med låg fettlöslighet, exempelvis aspirin, naproxen och ibuprofen resulterade i låga mängder i humanmjölk (Mathews, 2008). NSAID-sorter som naproxen, flurbiprofen och celecoxib har visat sig vara säkra att använda som postoperativ smärtlindring på humansidan då mindre än 1 % utsöndras i mjölken (Sachs, 2013).

I en studie som utförts på hund undersöktes koncentrationen av cimicoxib, en NSAID, i plasma och mjölk hos tikar. Resultaten visade att cimicoxib som administrerats oralt i dosen  $2 \text{ mg/kg}$  hade en relativt hög utsöndring i mjölk; förhållandet mellan plasma och mjölk visade sig vara  $1,7\text{--}1,9$ . Cimicoxib hade en högre koncentration i tikmjölk än vad som påvisats när en liknande studie utfördes på humanmjölk med parecoxib. Cimicoxib är mer lipofilt än parecoxib och mjölksammansättningen skiljer sig mellan hundar och människor vilket ansågs kunna vara en förklaring till de skilda resultaten (Shneider *et al.*, 2015).

I ett tidigare skrivet examensarbete gällande utsöndringen av karprofen i mjölk hos digivande tikar återfanns endast låga nivåer av läkemedlet i mjölken hos de två medverkande hundarna. Den högsta återfunna koncentrationen var  $3,56 \text{ ng/ml}$  vid en daglig dos av  $4 \text{ mg/kg}$  till tikarna (Persson, 2012).

## Farmakologiska aspekter hos valpen

Exponering av läkemedel kan vara problematiskt för valpar på grund av fysiologiska och proportionella skillnader jämfört med vuxna djur. Den neonatala tunntarmen har en absorberande yta som är tillräckligt stor i förhållande till djurets storlek för att ett läkemedel med hög biotillgänglighet snabbt ska kunna absorberas. En ökande permeabilitet i tarmen i samband med en högre absorptionshastighet hos valpen kan resultera i toxiska plasmakoncentrationer och läkemedel som hos ett vuxet djur har en begränsad oral biotillgänglighet kan nå den systemiska cirkulationen hos valpen. Tiden för tömning av magsäcken är dock längre hos mycket unga djur än hos vuxna vilket delvis kan skydda mot en ökning av de maximala systemiska läkemedelskoncentrationerna genom att tiden för fullständig absorption förlängs. Magsäckstömningen hos 12-veckorsvalpar har dock visat sig vara *snabbare* i jämförelse med äldre hundar vilket gör att det är osäkert att anta att den maximala plasmakoncentrationen blir lägre på grund av en långsammare tömning av magsäcken (Mata & Papich, 2011).

Valpar har ett mer neutralt pH i magsäcken än vuxna djur vars pH är lägre och därmed mer surt. Detta är viktigt att beakta vid behandling med oralt administrerade läkemedel till nyfödda djur. pH i magsäcken hos en valp har visat sig vara 5,85 till dess sjunde levnadsdag. Värdet sjönk efter den sjunde dagen till 3,45 för att slutligen öka till 4,95 runt valpens 18:e levnadsdag. Förändringarna i pH påverkar sannolikt absorptionen av milt sura eller basiska läkemedel och kan antingen öka eller minska biotillgängligheten beroende på läkemedlets pKa-värde (Mata & Papich, 2011).

Ett antal biologiska funktioner är reducerade hos unga djur i jämförelse med vuxna och bidrar till skillnader i hur läkemedlet distribueras i kroppen. Bland annat är glykogenolys, proteinsyntes och glukoneogenes reducerade hos neonatala individer och når adulta värden först efter åtta veckors ålder. Nyfödda valpar kan antas ha en reducerad kapacitet för att metabolisera läkemedel via cytokrom P-450-systemet, en reducerad hepatobiliär funktion samt en reducerad glukuronidering upp till 4–6 veckors ålder. En reducerad metabolism minskar clearance för de läkemedel som är beroende av att metaboliseras via P-450-systemet och läkemedel som exempelvis NSAID-preparat kan ha ett minskat clearance på grund av reducerad glukuronidering (Mata & Papich, 2011).

Även njurfunktionen är reducerad hos nyfödda valpar och därmed även clearance av olika läkemedel. Under dessa förhållanden kan upprepad dosering av läkemedel med tillräckligt lång halveringstid leda till en högre plasmakoncentration i steady-state. Den tubulära funktionen i njuren samt den glomerulära filtrationshastigheten (GFR) ökar under tiden valpen blir äldre. Nyfödda valpar har cirka 20 % njurfunktion i jämförelse med en vuxen hunds fulla njurfunktion som utvecklats efter cirka 2–3 månaders ålder (Mata & Papich, 2011). Vid en studie på hund visade sig GFR stiga från 0,16 ml/min/g när valparna var nyfödda till 0,35 ml/min/g vid 30 dagars ålder. GFR hos den vuxna hunden hade i studien medelvärdet 0,68 ml/min/g (Kleinman & Lubbe, 1971).

## **Risker med NSAID till valpar**

Biverkningar som kan uppkomma till följd av behandling med karprofen hos vuxna hundar är magtarmstörningar i form av kräkningar och diarré samt gastrointestinala blödningar, inappetens och slöhet (Fass vet, 2016). Läkemedlet har även negativa och oönskade effekter som påverkan på trombocyternas funktion samt påverkan på det renala blodflödet (Rang & Dale, 2007). Karprofen rekommenderas inte att användas till hundar under 6 veckors ålder då man inte undersökt dess effekt hos yngre djur (Koppinen, J., Zoetis, pers.medd., 2016-09-14). En potentiell risk med närvaron av COX 2-inhiberande NSAID-preparat i valparnas plasma är dock försämrad utveckling av valpens njurar då COX 2 har en viktig roll för mognaden av njurarnas nefron. Den embryologiska njuren hos hund är inte fullt utvecklad förrän cirka tre veckor efter födseln (Horster *et al.*, 1971) och har normal funktion först efter ungefär 6–8 veckors ålder (Mathews, 2008).

## **MATERIAL OCH METODER**

Ett etiskt tillstånd beviljades från Uppsalas Djurförsöksetiska nämnd innan studiens början för att få genomföra samtliga utförda provtagningar. Studien var en klinisk prospektiv studie där en del av studien inkluderade en SLU-ägd tik och en del involverade privatägda tikar.

### **Pre-klinisk studie: SLU-ägd tik**

En SLU-ägd tik (Tik 1) som valpade i december 2015 ingick i en pilotstudie för att mäta koncentrationen karprofen i mjölk innan studien applicerades på privatägda tikar. Hon genomgick ett kejsarsnitt på grund av dystoki och fick postoperativt en initial injektion med karprofen subkutant (4 mg/kg). I samband med operationens slut fick hon även en dos buprenorfin (10µg/kg) intramuskulärt. Oralt administrerad behandling med karprofen (2 mg/kg) påbörjades 24 timmar efter den initiala subkutana injektionen med karprofen och utfördes två gånger dagligen i fem dagar. Mjolkprover togs dagligen under behandlingsperioden och dessa förvarades i -20 °C i väntan på analys. Proverna samlades in manuellt i kryorör tre timmar efter oralt administrerad giva, då koncentrationen i mjölk då bedömdes teoretiskt vara som högst. Önskad mjölmängd var 1 ml per provtagningstillfälle men mängden varierade mellan 0,5 – 1 ml vid de respektive tillfällena på grund av praktisk svårighet att få ut mjölk. Mjolk från olika spenar blandades i samma rör för att erhålla en adekvat mängd.

I studien togs blodprover på tikens sju valpar vid 28 dagars ålder. Tiken fick karprofen per os (2 mg/kg) och valparna tilläts dia en timme efter läkemedelsgivan. Blodprover togs sedan ifrån valparnas jugularven varje halvtimme med start 30 min efter digivningens start (se bilaga 1). Sista blodprovet togs totalt tre och en halvtimme efter att valparna fått dia. Totalt togs två blodprover vardera på de sju valparna. Önskan var att även ta mjölkprov från tiken i samband med blodprovstagningen för att jämföra koncentrationen av karprofen i tikens mjölk med koncentrationen i valparnas blod. Tyvärr gick detta inte att genomföra då tiken inte släppte ner någon mjölk vid provtagningen.

## **Klinisk studie: privatägda tikar**

Ägare till tikar med förlossningskomplikationer som lett till kejsarsnitt vid Universitetsdjursjukhuset (UDS), Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU), erbjöds efter den initiala pilotstudien att delta i den kliniska studien. Inklusionskriterier som sattes upp för deltagande i studien var att tiken skulle väga minst tio kilo, för att kunna få en adekvat mängd mjölk, samt att tiken skulle ha normala lever- och njuranalysvärden (serumalaninaminotransferas (ALAT) och kreatinin (KREA)). Blodprover för att undersöka lever- och njurvärden togs i samband med operationen. Efter informerat djurägarsamtycke behandlades tikarna postoperativt med en initial dos karprofen subkutant (4 mg/kg). Djurägaren behandlade sedan tiken per os (2 mg/kg) två gånger dagligen i fem dagar med start 24 timmar efter den initiala subkutana injektionen. Mjölksprov (0,5 – 1 ml) togs en gång dagligen tre timmar efter läkemedelsgeva i fem dagar. Mjölk samlades ifrån olika spenar i samma rör för att erhålla tillräcklig mängd och proverna förvarades sedan fryst i -20°C tills analys utfördes. Behandlingslängden valdes med hänsyn till inflammationsfasens längd, behandlingslängd i pilotstudien samt utifrån beprövad erfarenhet avseende hur länge motsvarande bukingrepp brukar behöva behandlas med NSAID vid UDS. Tikarna med sin valpkull vårdades vid kliniken som vanligt efter ett kejsarsnitt och fick åka hem med sin ägare när tiken var pigg efter narkosen. Ägaren fick en journal att fylla i (se bilaga 2) samt instruktioner i att ta mjölkprover. Tät kontakt med ansvarig veterinär hölls för att direkt fånga upp om det fanns indikationer på att behandlingen skulle avbrytas. Indikationer för att avbryta behandlingen var kräkningar, diarré, feber, mastit, nedsatt AT, dehydrering eller tecken på annan systemsjukdom som gjorde fortsatt behandling kontraindicerad.

I studien ingick totalt nio tikar av olika ras och ålder som genomgått kejsarsnitt på grund av dystoki. Åtta av tikarna uppfyllde inklusionskriterierna och opererades på UDS medan en tik tillkom i studien efter att ha kejsarsnittats på annan klinik. Denna tik opererades på Gotlands smådjursklinik men deltog i studien enligt samma behandlingsregim gällande NSAID och provtagningsschema som för övriga deltagande tikar.

## **Anestesiprotokoll**

Tikarna sövdes enligt ett av de vanligaste anestesiprotokollen som används vid utförande av kejsarsnitt på hund, det vill säga induktion med intravenös propofol och underhåll med inhalation av isoflurangas (Rickard, 2012). Vid ett par av ingreppen skedde induktion istället med narkosmedlet alfaxan. Tikarna fick även en engångsdos buprenorfin (10 µg/kg) intramuskulärt när valparna plockats ut ur livmodern. Postoperativt fick tikarna en subkutan injektion karprofen (4 mg/kg) inom en timme efter operationen.

## **Analysmetod**

För att kunna analysera proverna med avseende på dess innehåll av karprofen utvecklades och validerades en analysmetod för blod- och mjölkprover från hundar speciellt för detta projekt av Professor Ulf Bondesson och Mikael Hedeland på Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA).



Analysmetoden är baserad på vätskekromatografi i kombination med tandemmasspektrometri (LC-MS/MS).

Vätskekromatografi sker som ett samspel mellan det analyserade provet, en stationär fas och ett elueringsmedel. Elueringsmedlet, som består av en vätska, eluerar provet genom den stationära fasen och uppdelningen av provets beståndsdelar bygger på att komponenterna hålls mer eller mindre hårt fast på den stationära fasen. Detta gör att de kan passera genom den med olika hastighet. LC-tekniken kombinerades med masspektrometri, en teknik som används för att bestämma molekylers massor och strukturer. MS-tekniken är anpassbar, känslig och kräver endast minimala provmängder (Simonsen, 2003).

Till 100 µL mjölk eller plasma tillsattes 50 µL intern standardlösning (<sup>2</sup>H<sub>3</sub>-karprofen 6,0 ng/mL), samt 200 µL natriumacetatbuffert (2,0 M, pH 4,9). Därefter tillfördes den organiska fasen bestående av 2.0 mL etylacetat/hexan/diklorometan (1:1:1 v/v/v). Rören vortex-mixades i 10 minuter varefter de centrifugerades i 10 minuter. Proven ställdes sedan i frys (-70 °C) i 15 minuter varefter de organiska faserna dekanterades till nya rör och indunstades under ett luftflöde vid 50 °C. Resterna återupplöstes sedan i 150 µL av 0,1 % myrsyra (aq)/metanol (70:30 v/v), samt överfördes till vialer för LC-MS/MS-analys.

Analysen utfördes med en Acquity UPLC kopplad till en Quattro Ultima Pt tandemmasspektrometer via en elektroprayjonkälla (alla från Waters, Manchester, UK). Den analytiska kolonnen var en Acquity UPLC BEH Phenyl 2.1 x 50 mm (innerdiameter x längd) och partikeldiameter 1,7 µm. Den rörliga fasen bestod av A: 0,1 % myrsyra i vatten och B: metanol, levererad som följande gradient: 15 % B under 1.0 min, 15 – 90 % B under 1.0 min, 90 % B under 2.0 min, 90 – 15 % B under 0.1 min och 15 % B under 0.9 min. Flöde hastigheten var 0.20 mL/min och kolonntemperaturen var 60 °C. Jonkällan opererade i negativ potential med en kapillärspänning på -1.92 kV och en konspänning på -29 V. Analysen utfördes i Selected Reaction Monitoring (SRM) mode med följande övergångar: för karprofen  $m/z$  272 > 228 (kollisionsspänning: 12 V) och för den interna standarden <sup>2</sup>H<sub>3</sub>-karprofen  $m/z$  275 > 231 (kollisionsspänning: 12 V). Mätområdet var 300 – 2 ng/ mL och den lägsta kvantifierbara koncentrationen var 3.0 ng/mL i mjölk och 2.0 ng/mL i plasma (Bondesson, U., pers.medd., 2016-10-20).

Vid validering av metoden användes mjölk från ko som ersättning då det inte fanns tillräckligt med blankmjölk från tigar. Då <sup>2</sup>H<sub>4</sub>-karprofen användes som intern standard bedömdes det som att eventuella skillnader mellan matriserna korrigerades. Gällande plasma utarbetades metoden med hjälp av blankplasma från hund (Bondesson, U., pers.medd., 2016-10-20).

### **Simulering av karprofennivå i plasma**

För att demonstrera hur nivån av karprofen ser ut i plasma hos en vuxen hund samt hos en diande valp utfördes en simulering i datorprogrammet Maxsim2 (Fraunhofer & Chalmers centre, 2015). Inledningsvis simulerades plasmakoncentrationen av karprofen i förhållande till tid hos en vuxen hund som initialt behandlats med en subkutan injektion karprofen (4 mg/kg)

följt av behandling per os med 2 mg/kg två gånger dagligen i fem dagar. Beräkningar utfördes för en 12-kilos vuxen Beagle med utgångspunkt i en studie utförd av Clark *et al.* (2003). Clark *et al.* (2003) analyserade plasmakoncentrationen av karprofen hos vuxna beaglar efter behandling per os med 25 mg karprofen två gånger dagligen i sju dagar. En distributionsvolym beräknades utifrån litteraturdata till 2,4 liter hos en 12-kilos hund med den erhållna halveringstiden åtta timmar (Mckellar *et al.*, 1990) och clearancevärdet 0,28 ml/min/kg (Schmitt & Guentert, 1990). Den allmänt använda formeln  $t_{1/2} = \ln 2 * V / Cl$  användes vid beräkningarna.

Valpens plasmakoncentration i förhållande till tid simulerades med samma metod som för den vuxna hunden. Den högsta funna karprofennivån i de analyserade tikarnas mjölk användes för att räkna ut den dos av läkemedlet som valparna teoretiskt som mest får i sig under ett dygns diande och för att undersöka valpens plasmakoncentration av karprofen efter fem dygns diande (tikens behandlingstid). Mängden mjölk som rekommenderas vid stödmatning med mjölkersättning användes för att göra ett antagande av hur mycket mjölk valparna diar under ett dygn. Valparna bör dia varannan till var tredje timme enligt litteraturen och bör stödmatas med cirka 60 ml mjölkersättning under ett dygn (Rickard, 2011). Om valparna diar vid tio tillfällen per dygn innebär det att valpen får i sig sex milliliter per tillfälle. Biotillgängligheten sattes till 100 %, till skillnad från 90 % hos den vuxna hunden, för att ta hänsyn till att biotillgängligheten eventuellt är högre hos en valp. Nyfödda valpar har cirka 20 % njurfunktion i jämförelse med vuxna djur varför clearance reducerades till en femtedel av tikens värde i valpsimuleringen (Mata & Papich, 2011).

## RESULTAT

Av de initialt nio deltagande tikarna var det fyra som fullföljde studien varav tre av dessa tikars mjölkprover kunde analyseras inom tidsramen för detta arbete. Samtliga tikar vars djurägare valt att delta i studien, samt huruvida behandling och provtagning slutfördes, presenteras i Tabell 1.

Tabell 1. *Tikar som deltagit/utgått ur studien samt anledning till eventuell avslutad studiemedverkan*

<b>Tik</b>	<b>Fullförande av behandling och provtagning</b>	<b>Anledning till avslutad studiemedverkan</b>
1 (SLU-ägd)	Ja	
2	Ja	
3	Ja	
4	Nej	Tiken lakterade ingenting alls
5	Nej	Svårigheter att få ut mjölk vid provtagning
6	Ja	Mjölkprover är ej analyserade ännu
7	Nej	Tiken drabbades av magtarmstörning
8	Nej	Djurägaren avbröt på grund av personliga skäl
9	Nej	Tiken drabbades av magtarmstörning

Koncentrationen av karprofen i individuella mjölkprover hos de tre provtagna tikarna presenteras i Tabell 2.

Tabell 2. Koncentrationen karprofen i mjölk ( $\mu\text{g/ml}$ ) tre timmar efter oralt administrerad karprofengiva (2 mg/kg)

<b>Tik</b>	<b>Tidpunkt</b>	<b>Karprofenkonzentration (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>
1	Dag 1	0,05
	Dag 2	0,03
	Dag 3	0,05
	Dag 4	<0,003
	Dag 5	<0,003
2	Dag 1	0,04
	Dag 2	0,03
	Dag 3	0,15
	Dag 4	0,24
	Dag 5	0,27
3	Dag 1	0,04
	Dag 2	0,04
	Dag 3	0,12
	Dag 4	0,16
	Dag 5	0,06

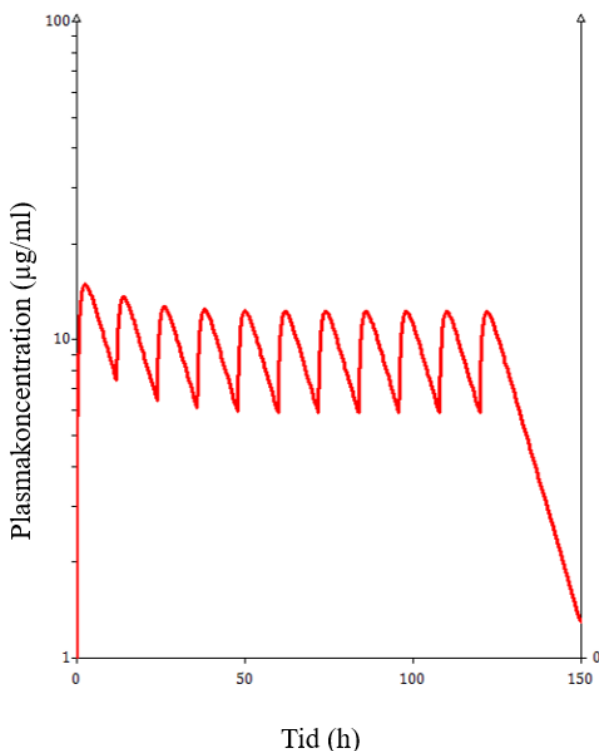
Tik 1 samt hennes valpars plasmakoncentrationer av karprofen vid olika tidpunkter tiden efter en engångsdos karprofenbehandling per os (2 mg/kg) presenteras i Tabell 3. Valparna tilläts dia en timme efter att tiken fått sin läkemedelsgiva.

Tabell 3. Plasmakoncentration karprofen ( $\mu\text{g/ml}$ ) hos Tik 1 (SLU-ägd tik) respektive hennes valpar vid tiden efter läkemedelsgiva samt efter digivning. Tiden anges i timmar (h)

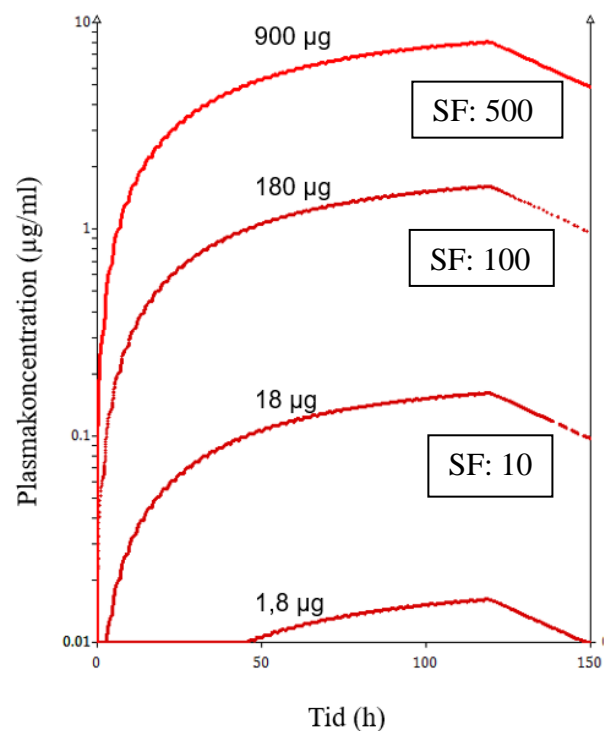
<b>Individ</b>	<b>Tidpunkt efter digivning (h)</b>	<b>Tidpunkt efter tikens läkemedelsgiva (h)</b>	<b>Karprofennivå i plasma (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>
<b><i>Tik</i></b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2,0</b>
Valp 1	0,5	1,5	<0,002
Valp 2	0,5	1,5	0,003
Valp 3	1	2	<0,002
Valp 4	1	2	<0,002
Valp 5	1,5	2,5	<0,002
Valp 6	1,5	2,5	<0,002
Valp 7	2	3	<0,002
Valp 1	2	3	<0,002
Valp 3	2,5	3,5	<0,002
Valp 4	2,5	3,5	<0,002
Valp 5	3	4	<0,002
Valp 6	3	4	<0,002
Valp 7	3,5	4,5	<0,002

En simulering i programmet Maxsim2 av en plasmakoncentrationskurva hos en vuxen hund (12 kg) som behandlats med en postoperativ subkutan injektion karprofen (4 mg/kg) samt efterföljande behandling per os med karprofen (2 mg/kg) två gånger dagligen i fem dagar kan ses i Figur 1. Litteraturdata användes för att erhålla clearancevärdet 0,28 ml/min/kg (Schmitt & Guentert, 1990) samt halveringstiden åtta timmar (Mckellar *et al.*, 1990). Dessa parametrar användes för att beräkna distributionsvolymen till 2,4 liter enligt den allmänt använda formeln  $t_{1/2} = \ln 2 \cdot V / Cl$ .

Plasmakoncentration karprofen hos en valp som ponerats ha diat 10 tillfällen per dygn á sex milliliter per tillfälle under fem dagar presenteras i Figur 2. Den högsta erhållna koncentrationen 0,3 µg karprofen (Tik 2, dag 5) per milliliter mjölk multiplicerades med sex milliliter per digivningstillfälle vilket resulterade i den perorala dosen 1,8 µg karprofen per digivningstillfälle för den enskilde valpen. Biotillgängligheten sattes till 100 % och clearance reducerades till 20 % på grund av den nyfödde valpens utvecklade njurfunktion (Mata och Papich, 2011). SF 10, SF 100 och SF 500 inkluderas i figuren för att visa plasmakoncentrationen vid 10, 100 respektive 500 gånger den uppskattade dosen.



Figur 1. Plasmakoncentration karprofen i förhållande till tid hos en vuxen hund (µg/ml) som behandlats med en subkutan injektion karprofen (4 mg/kg) samt efterföljande behandling per os (2 mg/kg) två gånger dagligen i fem dagar.



Figur 2. Plasmakoncentrationen karprofen (µg/ml) hos en enskild diande valp efter den oralt administrerade dosen 1,8 µg 10 gånger per dag under fem dagar samt med SF 10, 100 och 500.

## DISKUSSION

Resultaten från de analyserade proverna visade på låga nivåer karprofen i mjölk hos de tre tikar som provtogs. Förhållandet mellan den högst uppmätta nivån av karprofen per milliliter mjölk var 1:60 i förhållande till den genomsnittliga maximala plasmakoncentrationen 16,5 µg/ml hos en vuxen hund som behandlats med den terapeutiska dosen 2 mg/kg två gånger dagligen i sju dagar (Clark *et al.*, 2003). Även i de blodprover som togs på den SLU-ägda tikens valpar vid 28 dagars ålder var karprofennivåerna låga, nästintill odetekterbara. Blodproverna togs vid varierande tidpunkt i förhållande till tikens oralt administrerade karprofengiva (2 mg/kg) för att undersöka huruvida plasmakoncentrationen skilde sig åt. Vid samtliga provtagningstidpunkter sågs låga nivåer vilket indikerar att endast små mängder tas upp i valpens blod. Även i simuleringen som utfördes för att teoretiskt beräkna en maximal plasmakoncentration av karprofen hos en diande valp visade sig den maximala koncentrationen i blodet vara låg. Vid den uträknade orala dosen 1,8 µg/ml per digivningstillfälle resulterade det i den ungefärliga maximala plasmakoncentrationen 0,015 µg/ml i steady-state några dagar in i behandlingen, det vill säga ungefär en tusendel av den maximala koncentrationen i blodet hos den behandlade tiken. Denna beräkning är utförd utifrån den högsta uppmätta karprofenkonzentrationen i mjölk i denna studie (Tik 2, dag 5) och vid de flesta mätningar låg halten i mjölken lägre än så. Vid en säkerhetsfaktor 500, det vill säga om valpen skulle få i sig 500 gånger högre dos i mjölken, är den simulerade maximala plasmakoncentrationen hos valpen fortfarande lägre än den maximala plasmakoncentrationen som uppnås hos en vuxen hund. Att valparna enligt simuleringssmodellen hade en tusendel av koncentrationen karprofen i plasma i jämförelse med tiken stämmer överens med värdena i Tabell 3 där 2 µg/ml ses i tikens blod medan nivån hos valparna är <0,002 µg/ml. Dessa resultat indikerar att överföringen av karprofen till valparna är låg.

Koncentrationerna i mjölk skilde sig lite mellan olika tikar och tillfällena. I regel var karprofennivån låg men exempelvis så kunde en högre nivå ses hos Tik 2 dag 4 och 5 medan hon hade låga nivåer dag 1–3. Potentiella anledningar till de högre värdena skulle kunna vara en reducerad metabolism hos tiken av någon anledning eller eventuellt felaktig hantering av provet. Behandlingen med det orala läkemedlet och provtagningen av mjölk genomfördes i regel av samma person vilket är en potentiell felkälla i studien. Även om handskar användes vid både behandling och provtagning kan inte risken att provet på något sätt kontaminerats med läkemedelsrester negligeras.

Resultaten i denna studie överensstämmer väl med den tidigare studie som utförts på hund där utsöndringen av karprofen i mjölk hos två stycken lakterande tikar undersöktes. Även då påvisades endast låga nivåer i mjölken (Persson, 2012). Det stämmer även väl överens med resultat från studier på nöt där nivåerna av karprofen i mjölk från friska kor uppmättes till endast <0,022 µg/ml (Lohuis *et al.*, 1991).

Plasmakonzentrationen hos Tik 1 fyra timmar efter karprofengiva (2 mg/kg) var 2 µg/ml vilket kan tyckas vara en låg koncentration i blodet i jämförelse med den genomsnittliga maximala

plasmakoncentrationen 16,5 µg/ml som generellt ses cirka en timme efter oral läkemedelsgiva (Clark *et al.*, 2003). Vanligen ges dock initialdosen 4 mg/kg för att snabbt nå en hög plasmakoncentrationsnivå innan behandling med 2 mg/kg två gånger dagligen påbörjas 24 timmar senare. I detta fall behandlades tiken endast med en engångsdos 2 mg/kg vilket skulle kunna vara en förklaring till att plasmakoncentrationen inte låg på en lika hög nivå som om behandlingen påbörjats med en initialdos med 4 mg/kg.

Önskemålet var att kunna inkludera cirka 20 stycken lakterande tikar som behandlats med karprofen postoperativt efter kejsarsnitt i studien för att få ett statistiskt underlag för huruvida karprofen utsöndras i mjölk. Det etiska tillståndet beviljades dock oväntat sent vilket gjorde att starten på studien fördröjdes och en stor del av tiden för att samla in patienter gick förlorad. På grund av svårigheter att samla mjölk från vissa individer samt omständigheter som att två tikar vilka påbörjat karprofenbehandlingen fick magtarmstörningar gjorde också att patientantalet slutligen blev mindre än planerat. Initialt var det även en ytterligare undervisningshund som var tänkt att delta i studien men som visade sig inte vara dräktig när dräktighetsdiagnostik utfördes. Att vissa av de lakterande tikarna drabbats av magtarmstörningar vid karprofenbehandling skulle vara intressant att följa upp och utveckla i en framtida studie. Magtarmstörningar är en känd biverkan vid behandling med NSAID men det vore av intresse att studera om lakterande tikar drabbas av detta i högre grad än icke-lakterande tikar.

Under insamlingen av deltagare till studien framkom det att en del av de tillfrågade djurägarna inte upplevt att tikarna varit smärtpåverkade efter tidigare kejsarsnitt och de upplevde därför inte ett behov av postoperativ smärtlindring till sina hundar. En del myter finns gällande djurs förmåga att uppfatta smärta och det är först under de senaste åren som ämnet blivit mer uppmärksammat (Grant, 2006). Smärtbedömning efter ovariehysterektomi på tik finns beskrivet i vissa studier där man bland annat undersökt temperatur, kortisolnivåer samt hjärt- och andningsfrekvens innan och efter det kirurgiska ingreppet (Srithunyarat *et al.*, 2016). Det är dock svårt att hitta motsvarande material där man gjort en bedömning av smärta hos kejsarsnittade tikar. Det skulle kunna tänkas att en tik som har valpar att ta hand om uppvisar ett annorlunda smärtbeteende i jämförelse med en tik som endast genomgått en ovariehysterektomi. I framtiden vore det därför önskvärt att utforma en metod för bedömning av smärta som är anpassad till de speciella förhållanden som råder för en tik som nyligen genomfört ett bukingrepp och ska ta hand om sina valpar. Det vore intressant att i en sådan studie undersöka parametrar som exempelvis hjärt- och andningsfrekvens, palpationskänslighet i operationsområdet etc. hos en grupp kejsarsnittade tikar som inte fått smärtlindring postoperativt. Resultaten skulle sedan kunna jämföras med tikar som fått postoperativ smärtlindring för att undersöka om några objektiva skillnader kan ses.

Ur välfärdssynpunkt vore det önskvärt att kunna smärtlindra kejsarsnittade tikar postoperativt. Det skulle inte bara leda till ett ökat välbefinnande för tiken utan också minska risken för ett reducerat foder- och vattenintag vilket kan ge en sämre mjölkproduktion och därmed påverka valparnas utveckling (Søndergaard *et al.*, 2012). För att med säkerhet säga att det är säkert att



behandla med karprofen postoperativt vore det önskvärt att ett större patientmaterial studeras men resultaten i denna studie tyder på att endast låga nivåer av läkemedlet passerar ut i mjölken och endast låga nivåer återfinns i valparnas blod. Framöver vore det intressant att utveckla den påbörjade studien genom att bland annat undersöka förhållandet mellan karprofen i plasma jämfört med mjölk hos samma individ vid samma tidpunkt. I denna studie togs mjölkprov tre timmar efter oralt administrerad läkemedelsgiva men i en framtida fortsättning på studien vore det eftersträvansvärt att även kunna analysera karprofenkonzentrationen i mjölk innan läkemedelsgiva samt vid fler tidpunkter efter givan för att få en mer utförlig bild av hur koncentrationen förändras över tid. En svårighet med att utöka antalet mjölkprover är själva provtagningen då det i vissa fall är svårt att samla mjölk från tikarna. Det är även viktigt att ta tikens vikt i beaktande för att undvika att för mycket mjölk tas i förhållande till den mängd som valparna behöver för att växa och utvecklas ordentligt.

## **Konklusion**

Materialet i denna studie var för litet för att några säkra slutsatser skulle kunna dras från resultaten men de resultat som erhöles indikerar att endast låga nivåer karprofen passerar ut i den lakterande tikens mjölk samt att i princip odetekterbara nivåer återfinns i valparnas blod. Dessa resultat överensstämmer väl med tidigare studier som undersökt utsöndring i mjölk hos hund och nötkreatur. Det vore dock önskvärt att utföra en liknande studie med ett större patientmaterial samt med utökade provtagningstidpunkter för att med större säkerhet kunna säga att det inte innebär någon risk för valparna att behandla den kejsarsnittade tiken med karprofen postoperativt.

## **TACK**

Stort tack till min handledare Anna Edner för fantastisk stöttning under denna process samt till biträdande handledare Carl Ekstrand för ovärderlig hjälp med de farmakologiska aspekterna av arbetet. Varmt tack även till biträdande handledare Ragnvi Hagman och veterinär Sandra Lundgren för all hjälp under arbetets gång samt till examinator Görel Nyman för värdefull återkoppling. Slutligen, tack till Professor Ulf Bondesson och Mikael Hedeland på Statens Veterinärmedicinska Anstalt, som tagit fram en metod för att analysera nivåerna av karprofen i mjölk och plasma, samt till djurägare Monica Stavenborn som bidrog med mjölkprover till studien.

## REFERENSLISTA

- Aarnes, K.A., Muir, W.W. (2011). Pain assessment and management. I: Peterson, M.E., Kutzler, M.A. (red), *Small Animal Pediatrics: the first 12 months of life*, St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 220-229.
- Bergström, A., Nødtvedt, A., Lagerstedt, A.S., Egenvall, A. (2006). Incidence and breed predilection for dystocia and risk factors for cesarean section in a Swedish population of insured dogs. *Vet Surg.*, 8:786–91.
- Bloor, M., Paech, M. (2013). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs During Pregnancy and the Initiation of Lactation, *Anesth. Analg.*, 116:5.
- Clark, T.P., Chieffo, C., Huhn, J.C., Nimz, E.L., Wang, C., Boy, M.G. (2003). The steady-state pharmacokinetics and bioequivalence of carprofen administered orally and subcutaneously in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics*, 26:187-192.
- Deussen, A.R., Ashwood, P.J., Martis, R. (2011). Analgesia for relief of pain due to uterine cramping/involution after birth. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 5. Art. No.: CD004908. DOI: 10.1002/14651858.CD004908.pub2.
- EMA (2005) Committee for medicinal products for veterinary use, carprofen (Extension to dairy cattle) Summary report (3), *EMA/MRL/914/04-FINAL*, November 2004
- Fass (2014-05-13) *Rimadyl® vet*,  
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20040604000130> [2016-10-16]
- Gill, M.A. (2002). *Perinatal and late neonatal mortality in the dog*. Diss: Sidney: University of Sydney.
- Grant, D. (2006) *Pain management in small animals*. United Kingdom: Butterworth Heinemann Elsevier.
- Horster, M., Kember, B., Valtin, H. (1971). Intracortical distribution of number and volume of glomeruli during postnatal maturation in the dog. *J Clin Invest*, 50:796–800.
- Hotston Moore, Paula. (1998) Care and Management of the Neonate. I: Simpson, G., England, G., Harvey, M. (red), *BSAVA Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*. United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association, 155-157.
- Kleinman, L.I., Lubbe, R.J. (1971). Factors affecting the maturation of glomerular filtration rate and renal plasma flow in the new-born dog. *J.Physiol*, 223:395-409.
- Lees, P., Landoni.M.F., Giraudel, J., Toutain, P.L. (2004). Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. *J.vet. Pharmacol.Therap.*, 27:479-490.
- Linde-Forsberg, C., Eneroth, A. (1998) Parturition. I: Simpson, G., England.G., Harvey.M. (red), *BSAVA Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*. United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association, 127-142.
- Livsmedelsverket (2015-09-28): *Livsmedelsdatabasen*.  
<http://www7.slv.se/SokNaringsinnehall/Home/FoodDetails/113>, [2016-10-16]
- Lohuis, J.A., Van Werven, T., Brand, A., van Miert, A.S.J.P.A.M., Rohde, E., Ludwig, B., Heizmann, P., Rehm, W.F. (1991). Pharmacodynamics and pharmacokinetics of carprofen, a non-steroidal anti-inflammatory drug, in healthy cows and cows with *Escherichia coli* endotoxin - induced mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 14:3.

- Mata, J., Papich, M.G. (2011). Pharmacological considerations in the young patient. I: Peterson, M.E., Kutzler, M.A. (red), *Small Animal Pediatrics: the first 12 months of life*, St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 233-236.
- Mathews, K.A. (2008). Pain Management for the Pregnant, Lactating, and Neonatal to Pediatric Cat and Dog. *Vet Clin Small Anim.*, 38:1291-1308.
- Maire-Gauthier, R., Buronfosse, T., Magdalou, J., Herber, R., Besse, S., Delatour, P. Benoit, E. (1998) Species-dependent enantioselective glucuronidation of carprofen, *Xenobiotica*, 28:595-604.
- Mckellar, Q.A., Pearson, T., Bogan, J.A., Galbraith, E.A., Lees, P., Ludwig, B., Tiberghien, M.P. (1990). Pharmacokinetics, tolerance and serum thromboxane inhibition of carprofen in the dog. *Journal of small animal practice*. 31:443-448.
- Murrell, J., Ford-Fennah, V. (2011). Anaesthesia and analgesia. I: Cooper, B., Mullineaux, E., Turner, L. *BSAVA Textbook of veterinary nursing* 5. ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 130-138.
- Oftedal, O.T. (1984). Lactation in the dog: milk composition and intake by puppies. *J Nutr*. 114:803–12.
- Olofsson, C.I., Legeby, M.H., Nygård, E.B., Östman, K.M. (2000). Diclofenac in the treatment of pain after caesarian delivery. An opioid-saving strategy. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive biology*, 88:143-146.
- Persson, A. (2012). *Carprofen som postoperativ smärtlindring vid kejsarsnitt på hund*. Sveriges Lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2012:33)
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J. (2007). *Rang and Dale's Pharmacology*. 7.ed. London: Elsevier Health Sciences.
- Rickard, V. (2011). Birth and the first 24 hours. I: Peterson, M.E., Kutzler, M.A. (red), *Small Animal Pediatrics: the first 12 months of life*, St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 11-17.
- Ricketts, A.P, Lundy, K.M, Seibel, S.B. (1998). Evaluation of selective inhibition of canine cyklooxygenase 1 and 2 by carprofen and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Vet res*. 59(11):1441-2.
- Ryan, S.D. & Wagner, A.E. (2006). Cesarean Section in Dogs: Anesthetic Management. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 28: 44-54.
- Sachs, H.C. (2013). The Transfer of Drugs and Therapeutics Into Human Breast Milk: An Update on Selected Topics. *American Academy of Pediatrics*, 132:797-809.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Schneider, M., Kuchta, F., Dron F., Woehrlé F. (2015). Disposition of Cimicoxib in plasma and milk of whelping bitches and in their puppies, *BMC vet. res*. 11:178.
- Schmitt, M., Guentert, T.W. (1990). Biopharmaceutical evaluation of carprofen following single intravenous, oral, and rectal doses in dogs. *Bipharm drug dispos*. 11:585-94.
- Simonsen, F. (2003). *Analystekniker: Instrument och metoder*. Lund: Narayana press.
- Srithunyarat, T., Höglund, O.V., Hagman, R., Olsson, U., Stridsberg, M., Lagerstedt, A., Petterson, A. (2016). Catestatin, vasostatin, cortisol, temperature, heart rate, respiratory rate, scores of the short form of the Glasgow composite measure pain scale and visual analog scale for stress and pain behavior in dogs before and after ovariohysterectomy, *BMC Rec. notes.*, 9:38.
- Søndergaard, M., Poulsen, H.H. & Eriksen, T. (2012). Oversigt over anæstesi-protokoller ved kejsersnit på hunde. *Dansk Veterinærtidsskrift*, 95:20-25.

## APPENDIX 1

Tik: 1

Datum: 29/12–15

Valparnas ålder: 28 dagar

Karprofen dos tik: 2 mg/kg = ½ 50 mg-tablett peroralt

Tiken gavs karprofen po kl: 10.30

Blodprov från valpar från V.jug (VJ), V.cephalica (VC) eller V.saphena (VS). Klockslag i förhållande till tidpunkt då de diat. Ange klockslag plus plats för provet/tillfälle.

EMLA-krem smörjs in 30 min före blodprovstagning.

<i>ID</i>	<b>Valp 1 (A)</b>	<b>Valp 2 (B)</b>	<b>Valp 3 (C)</b>	<b>Valp 4 (D)</b>	<b>Valp 5 (E)</b>	<b>Valp 6 (F)</b>	<b>Valp 7 (G)</b>
<i>Vikt (kg)</i>	<b>0,94</b>	<b>1,12</b>	<b>1,06</b>	<b>1,10</b>	<b>0,8</b>	<b>1,12</b>	<b>0,92</b>
<b>Diade kl</b>							
<b>Blodprov kl</b>	<b>11.40</b>	<b>11.40</b>	<b>11.40</b>	<b>11.40</b>	<b>11.40</b>	<b>11.40</b>	<b>11.40</b>
<b>0,5 h</b>	12.12	12.10					
<b>1 h</b>			12.42	12.40			
<b>1,5 h</b>					12.57	13.00	
<b>2 h</b>	13.20	13.23					13.42
<b>2,5 h</b>			14.15	14.20			
<b>3 h</b>					14.50	14.45	
<b>3,5 h</b>							15.10

## APPENDIX 2

# INSTRUKTIONER TILL DJURÄGAREN

LÄS IGENOM NEDANSTÅENDE INSTRUKTIONER NOGGRANT, tveka inte att höra av dig om något är oklart.

(Behandlingsdatum, dos och klockslag fylls i av veterinären)

KLISTRA PATIENTETIKETT HÄR

### Behandling med Rimadyl

Injektionen med Rimadyl gavs Datum: Kl:

Första tablettgivan ska ges Datum: Ca kl (dvs morgon eller kväll):

Dos vid varje giva (antal tabletter och styrka):

**Rimadyltabletterna ges i munnen två gånger per dag, dvs var 12:e timme, i fem dagar**, dvs totalt tio doser. Första tablettgivan sker ca 24 timmar efter injektionen men anpassas till praktisk tidpunkt.

Vid kräkning eller diarré, nedsatt allmäntillstånd, feber eller tecken på mjölkstockning eller infektion i juvret ska behandlingen avbrytas och veterinär kontaktas för rådgivning. Väljer du att kontakta veterinär på annan klinik så önskar vi att du även meddelar oss att du avbrutit deltagandet i studien.

**OBS! DET ÄR OERHÖRT VIKTIGT ATT ALL HANTERING AV TABLETTERNA SKER MED HANDSKAR SÅ ATT INTE TABLETTRESTER HAMNAR PÅ SPENARNA NÄR MJÖLKPROVET SEDAN TAS. Om så sker kommer vi få felaktiga värden vid analys av proverna.**

### Provtagning av mjölk

Mjölksprov tas från tiken **tre timmar efter tablettgiva**, antingen på morgonen eller kvällen beroende på vilket som passar dig som djurägare bäst.

Du ska ta **ett prov om dagen i fem dagar** med start samma dag som hon får första tabletten, dvs dagen efter kejsarsnittet. KOM IHÅG ATT ALLTID **ANVÄNDA HANDSKAR VID HANTERING**

AV TABLETTERNA FÖR ATT INTE KONTAMINERA SPENARNA MED SUBSTANSEN VI VILL MÄTA!

I varje prov behövs **minst 0,5 ml mjölk**, men gärna mer. Varje dags prov samlas i ett separat litet rör. Se nästa sida för råd angående mjölkning.

**Märk röret** med *etikett, datum, provtagningstid* och **LÄGG DET SEDAN DIREKT I FRYSEN.**

### Fyll i nedanstående protokoll fortlöpande (fylls i av djurägaren)

Tabletter	Datum	Tid
Rimadylgiva 1		
Rimadylgiva 2		
Rimadylgiva 3		
Rimadylgiva 4		
Rimadylgiva 5		
Rimadylgiva 6		
Rimadylgiva 7		
Rimadylgiva 8		
Rimadylgiva 9		
Rimadylgiva 10		

	Datum	Tid
Mjökprov 1		
Mjökprov 2		
Mjökprov 3		
Mjökprov 4		
Mjökprov 5		

#### **Tips och råd vid provtagning av mjölk.**

Det kan vara lite pyssligt att ta mjökprov på tik. Olika tikan är olika lätta/svåra att ta mjökprov på och du får räkna med att det kan ta lite tid och krävas en del tålamod att få ut den mängd som krävs. Om man har tillgång till en amningspump kan detta vara värt att prova om man har svårt att få ut mjök. Säkerställ att den är ordentligt rengjord innan och mellan mjökningarna i så fall.

**Tvätta händerna** noga innan varje mjökningförsök.

Det är viktigt med **lugn och ro** för att tiken ska släppa ner mjöken.

**Stimulera utdrivningsreflexen:** Ofta behöver juvret/spenen stimuleras genom massage, tex med en handduk eller varma händer.

**Tidpunkt:** På vissa tikan är det lättare att ta prov när valparna diar, antingen från en spene som en valp diat igång eller från en spene bredvid. På andra tikan är det lättare att ta mjökprov när valparna inte diat på en stund så att juvret istället hunnit fyllas på med mjök. Prova dig fram till det som fungerar bäst för dig och din tik.

**Mjökningsteknik:** Håll om spenen och stryk med pekfinger-ringfinger på baksidan av juvret, ner mot spenen för att fylla på med mjök längst ner i juvret, kläm försiktigt om med tumme och pekfinger om spenbasen och kläm ur mjöken med långfinger/ringfinger. Om det är svårt att ta prov från med en juverdel, prova gärna en annan.

**Volym:** Vi behöver minst 0,5 ml i varje provrör men gärna mer. Det går bra att blanda mjölk från flera spenar i samma prov.

**Provhantering:** Sätt på korken, se till att röret är märkt, lägg sedan provet i frysen, gärna i en ren plastpåse eller en burk med lock.

Blir tiken stressad eller irriterad av dina försök skall du inte fortsätta. Ring gärna till oss (telenr nedan) om du får problem med mjölkningen, vi kanske kan hjälpa till.

**DET HÄR PAPPRET SPARAS OCH LÄMNAS IN TILLSAMMANS MED MJÖLKPROVEN.**

**Mjökproven kommer att samlas in:** Vi kontaktar dig angående detta.