

Betydelsen av prokainets nedbrytning i plasma vid penicillinchock hos häst

Linda Gustafsson

Handledare: Pia Larsson

Biträdande handledare: Lena Olsén

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, avd för patologi,
farmakologi och toxikologi

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<u>SAMMANFATTNING</u>	4
<u>SUMMARY</u>	4
<u>INLEDNING</u>	5
<u>MATERIAL OCH METOD</u>	7
KEMIKALIER	7
HÄSTARNA SOM INGICK I FÖRSÖKET	7
PROVTAGNING	7
HYDROLYS AV PROKAIN I HÄSTPLASMA	8
HPLC ANALYS AV PABA	8
ANALYS AV DATA	8
<u>RESULTAT</u>	9
HYDROLYS AV PROKAIN I PLASMA HOS NORMALPOPULATIONEN	9
DYGNSVARIATION	10
HYDROLYS AV PROKAIN I PLASMA FRÅN ”CHOCKHÄSTAR” OCH KONTROLLER	11
<u>DISKUSSION</u>	12
<u>TACK</u>	14
<u>REFERENSER</u>	15

SAMMANFATTNING

I samband med behandling av hästar med intramuskulära injektioner av bensylpenicillinprokain förekommer det ibland att hästen drabbas av en så kallad penicillinchock, vilken kan ha flera olika bakomliggande orsaker. Den vanligaste orsaken anses vara prokaintoxicitet. Bensylpenicillinprokain är ett salt som består av penicillin och prokain. Saltet löses snabbt upp när det når cirkulationen. I blodet hydrolyseras prokain av plasmaesteraser till icke-toxiska metaboliter, paraaminobenzoesyra (PABA) och dietylamoetanol. Syftet med studien var att undersöka om hydrolyshastigheten av prokain i plasma skiljer sig mellan hästar som fått biverkningar och en kontrollgrupp som ej har fått biverkningar efter behandling med bensylpenicillinprokain. Dessutom undersöktes hastigheten med vilken prokain hydrolyseras hos en normalpopulation av hästar samt om nedbrytningsförmågan varierar under dygnet. För att bestämma hydrolyshastigheten av prokain inkuberades prokain i hästplasma och därefter mättes mängden bildad PABA genom analys med HPLC. Resultatet visar att det finns en tendens till att chockhästarna har en lägre esterasaktivitet jämfört med hästarna i kontrollgruppen, skillnaden är dock inte statistiskt signifikant på en 95 %-nivå (p-värdet var 0,076). Studien visar också att det föreligger en relativt stor variation i förmågan att hydrolysera prokain hos en normalpopulation hästar, samt att aktiviteten hos esteraserna inte verkar variera under dygnet.

SUMMARY

The use of intramuscular injections of procaine penicillin G (bensylpenicillin procaine) in the horse is now and then associated with acute adverse reactions (penicillin-chock). The etiology is not yet clearly understood, but the theories are several. One possibility is that it can be caused by procaine toxicity. Procaine penicillin G is a salt which is quickly dissolved in plasma. Procaine is then metabolized by plasmaesterases to non-toxic metabolites, *p*-aminobenzoic acid (PABA) and diethylaminoethanol. The purpose of this study was to investigate if there are any differences in the esterase activity in plasma between horses that had suffered from adverse reactions and a group of horses that had no reactions, following intramuscular injection of procaine penicillin G. Furthermore the rate of hydrolysis of procaine was investigated in a normal, healthy group of horses. In this group the possible variation of the procaine hydrolysis during a period of twenty-four hours was also examined. Procaine was incubated in horse plasma and the amount of PABA formed was measured by HPLC analysis. The results showed a tendency that the horses suffering from adverse reactions had a lower activity of procaine hydrolysis compared to the control group. The difference was not statistically significant at a level of 95% (the p-value was 0,076). The study also showed that there is a great individual variation in esterase activity in a normal population of horses. Furthermore there is no marked variation in esterase activity during a period of twenty-four hours.

INLEDNING

Penicillin är den mest använda gruppen av antibiotika inom hästmedicinen. Läkemedlet är effektivt mot vanliga patogener som drabbar häst, dessutom är det relativt billigt, har stor säkerhetsmarginal och är enkelt även för djurägare att injicera intramuskulärt. Penicillin anses också vara den minst toxiska formen av antibiotika med få biverkningar. Dock förekommer det ibland i samband med penicillinbehandling av hästar att hästen drabbas av en så kallad penicillinchock (Nielsen et al,1988). Under år 2003 har 46 läkemedelsbiverkningar hos häst rapporterats. Fem av rapporterna avser penicillinchock. Ett fall var efter intravenös injektion av bensylpenicillinnatrium och de andra fyra fallen gällde intramuskulär injektion av bensylpenicillinprokain (Tjälve, 2004). Reaktionerna som uppkommer ses oftast direkt efter injektion, vanligtvis 10-15 sek efter, och kan bestå i allt från lokala irritationer vid injektionsplatsen, urtikaria och svettningar, till forcerad andning och symptom från CNS (oro, ljud- och ljuskänslighet, rörelsestörningar, kramper). Reaktionerna uppstår efter, som ovan nämnts, intramuskulär injektion av bensylpenicillinprokain alternativt efter injektion, antingen intramuskulärt eller intravenöst, av vattenlösliga bensylpenicillinsalter. Oftast återhämtar sig hästarna inom 30 minuter, men dödsfall förekommer. När det gäller bensylpenicillinsalt är det mest troligt att det rör sig om en allergi, då man vet att penicilliner i enstaka fall kan framkalla allergi och akut anafylaxi hos både olika djurslag och människor. Det finns dock flera möjliga orsaker som kan ligga bakom reaktionerna mot bensylpenicillinprokain. Det kan röra sig om en allergi mot penicillin eller prokain, varav det sistnämnda anses mycket ovanligt. Alternativt kan det vara orsakat av prokaintoxicitet. Ytterligare en orsak till penicillinchock som har diskuterats är att bensylpenicillinprokain som av misstag injiceras intravaskulärt kan leda till att det bildas mikroaggregat i form av kristaller i cirkulationen, vilka kan ge vaskulära embolier. Embolier kan sätta sig i lungkärlen och orsaka respirationsproblem, med akut dyspné och eventuellt död som följd. (Nielsen et al,1988)

Hos människor har det länge varit känt att penicillin kan orsaka allergi och anafylaktisk chock (Nielsen et al, 1988). Färre än 5 % av alla hästar uppskattas dock vara så allergiska mot penicillin att de visar symptom. Penicillinallergi kan yttra sig på olika sätt. Den kan ge milda symptom som urtikaria och svettningar, eller kan den leda till en överkänslighetsreaktion med akut anafylaktisk chock och kollaps som följd (Ricketts & Hopes, 1984). En häst som drabbas av en anafylaktisk chock visar framför allt symptom från respirationsorganen och magtarmkanalen. (Nielsen et al, 1988)

Det är inte troligt att det är bensylpenicillinet i sig som orsakar den allergiska reaktionen. Sannolikt orsakas den av att penicillinets nedbrytningsprodukter interagerar med plasmaproteiner och uppfattas då som antigena av kroppen (Rang et al, 1999; Nielsen et al., 1988). En möjlighet är också att de olika beredningsformerna av bensylpenicillinprokain som finns tillgängliga på marknaden kan bli kontaminerade med proteiner eller andra komponenter vid beredning. Föroreningarna skulle sedan kunna agera som antigen och på så vis leda till en allergisk reaktion (Nielsen et al, 1988). Det har visats att vissa batchar av bensylpenicillinprokain kunnat kopplas samman med en ökad prevalens av biverkningar med både allergiska och toxiska reaktioner som följd (Chapman et

al, 1992). Penicillinet i sig kan även vara toxiskt och därmed leda till biverkningar. Det är dock troligtvis en ovanlig orsak till chock eftersom säkerhetsmarginalen för penicillin är relativt stor. Dosen som skulle kunna orsaka toxicitet är dessutom inte känd. (Nielsen et al., 1988)

Det som anses vara den vanligaste orsaken till penicillinchock är prokaintoxicitet (Hästsektionens Normgrupp, 2002). Den huvudsakliga anledningen till att prokain används som tillsats är för att få en förlängd duration av läkemedlets verkan. Bensylpenicillinprokain är ett salt som består av penicillin och prokain. Bindningen dem emellan löses snabbt upp när preparatet kommer ut i cirkulationen. Vid intramuskulär injektion erhålls en depå av bensylpenicillinprokain, vilket medför att prokain och bensylpenicillin dissocierar långsamt och på så vis förlängs absorptionstiden. En terapeutisk koncentration av penicillinet bibehålls längre, i åtminstone 24 timmar efter administrering. När prokainet har kommit ut i blodet hydrolyseras det av plasmaesteraser till icke-toxiska metaboliter, paraaminobenzoesyra (PABA) och dietylaminöetanol. Prokainet fungerar också som ett lokalanestetikum och minskar därmed obehaget som kan uppstå vid injektion av en så stor mängd läkemedel som det rör sig om vid penicillinbehandling av häst. (Uboh et al, 2000)

En anledning till att prokaintoxicitet kan uppstå är om absorptions hastigheten av prokain från muskel till blod överstiger esterasernas hydrolytiska aktivitet (Nielsen et al, 1988). En orsak till att det blir höga koncentrationer av prokain i blodet kan vara att man av misstag injicerar preparatet intravaskulärt, vilket medför att saltet löses upp snabbt och stora mängder fritt prokain erhålls. Även blodförsörjningen i området för injektion har betydelse. Vid intramuskulära injektioner av bensylpenicillinprokain på häst, injiceras preparatet i stora doser och upprepade gånger på ett litet område. Det finns då risk att endotelceller skadas och att en kärlik granulomatös inflammation utvecklas på injektionsplatsen, vilket är visat hos människor (Chapman et al, 1992). Det kan i sin tur öka risken för toxiska nivåer av prokain i cirkulationen, på grund av att saltet löses upp direkt (Nielsen et al, 1988). Inflammationen kan också bidra till en ökad risk för embolier, men det är dock en mindre sannolik orsak till reaktion eftersom saltet löses upp snabbt i blodet. Hästar verkar vara speciellt benägna att bilda kraftiga lokala reaktioner vid injektionsplatsen, vilket gäller för flera olika läkemedel (Ricketts & Hopes, 1984).

Prokaintoxicitet ger hos människa upphov till symptom såsom yrsel, förvirring, nedsatta svälj- och blinkreflexer, muskeltremor och kramper (Green et al, 1974). Vid försök på häst med intravenösa injektioner av prokain, har man funnit liknande symptom. De får beteendeförändringar, forcerad andning, verkar förvirrade och oroliga, förlorar koordinationsförmågan, muskeltremor mm. (Tobin et al, 1977) Symptomen stämmer överens med de som uppstår vid penicillinchock på häst. Man tror att orsaken till de centralnervösa symptomen vid prokaintoxicitet är att prokain förändrar retbarhetströskeln av vissa områden i limbiska systemet och i hjärnans temporallob. Hos råttor, katt och människa har det visats att intravenös administrering av prokain har en viss aktiverande effekt på limbiska systemet (Chapman et al., 1992).

Hästar anses vara mycket känsliga för prokain. En mycket lägre dos prokain (ca 20 gånger lägre) krävs för att det ska ge upphov till en centralnervös stimulering och reaktion hos häst jämfört med människa. Det kan antingen bero på att hästar har en lägre bindningskapacitet mellan prokain och plasmaproteiner eller att hästars receptorer i CNS har en högre affinitet för prokain (Nielsen et al, 1988; Tobin et al, 1977). Dessutom kan det bero på att hästar har en lägre kapacitet att hydrolysera prokain med hjälp av esteraser (Reidenberg, 1972). Tobin et al. (1976a) har visat att hästars esterasaktivitet är relativt låg, ungefär 16 % av esterasaktiviteten hos människa.

En teori är att hästar med låg aktivitet hos esteraserna kan tänkas vara känsliga mot prokain och dess toxiska effekter. Syftet med den här studien var att undersöka om hydrolyshastigheten av prokain i plasma skiljer sig mellan hästar som fått biverkningar och en kontrollgrupp som ej har fått biverkningar efter behandling med bensylpenicillinprokain. Dessutom undersöktes hastigheten med vilken prokain hydrolyseras hos en normalpopulation av hästar samt om nedbrytningsförmågan varierar under dygnet. För att bestämma hydrolyshastigheten av prokain inkuberades prokain i hästplasma och därefter mättes mängden bildad PABA.

MATERIAL OCH METOD

Kemikalier

Alla kemikalier som användes vid försöket var av HPLC-grad. PABA och prokain köptes från Sigma.

Hästarna som ingick i försöket

Normalpopulation: Blodprover togs från 29, enligt djurägarna friska, hästar från olika platser i landet. Hästarna var av varierande ras och ålder, 17 ston och 12 valacker. Fem av hästarna användes även till försöket om *dygnsvariation*. De fem var försökshästar vid Institutionen för obstetrik och gynekologi, SLU. Hästarna var alla ovariehysterektomerade ston i varierande åldrar, fyra varmblodiga travare och en ponny. De stod uppstallade under försökets gång och foderstaten bestod av fri tillgång på hö och vatten, så även i 12 timmar före försökets början. Permanentkanyler sattes i jugularven.

Chockhästar: Med hjälp av djursjukhus, veterinärer och annons i ridsport fick vi kontakt med 20 hästar, varav 11 ston och 9 valacker, som chockat på bensylpenicillinprokain runt om i landet. Kriterier för att hästarna skulle kunna vara med i försöket var att de skulle ha behandlats med bensylpenicillinprokain inom de senaste sex månaderna och att de fått en reaktion i anslutning till behandlingen.

Kontrollhästar: Kriterierna för kontrollhästarna var att de tidigare skulle ha behandlats med bensylpenicillinprokain utan reaktion. Det var 17 hästar, 8 ston och 9 valacker av olika ras och ålder som stod uppstallade på olika ställen.

Provtagning

Alla blodprover togs via vaccutainer i jugularven i heparinrör, förutom de till dygnsvariationsförsöket vilka togs via permanentkanyl. För dygnsvariations-

försöket togs prover var fjärde timme under ett dygn. Alla prover förvarades på is fram tills centrifugering. Heparinrören centrifugerades i 1500 x g i 15 min i 4°C. Därefter överfördes plasman sterilt i Sarstedt Micro tubes 2 ml. De förvarades sedan i -70°C frys fram till analys.

Hydrolys av prokain i hästplasma

Plasman tinades upp och till 500 µl plasma tillsattes 10 µg prokain. Proverna blandades väl med vortex i 30 sek, och placerades därefter omedelbart på is. För att mäta mängden endogent PABA gjordes nollprover. Två gånger hundra µl av blandningen fälldes genom att föras över i eppendorfrör innehållande 150 µl acetonitril (CH₃CN). Det blandades därefter med vortex i 30 sek. Resterande 300 µl av plasma/prokainblandningen inkuberades i 12 min i 37°C. Vid inkubationstidens slut fälldes 2x100 µl i vardera 150 µl acetonitril och blandades med vortex i 30 sek. Därefter centrifugerades alla proverna i maxfart (12000 x g) i 5 min. Pelleten mosades och blandades, varefter proverna centrifugerades i ytterliggare 15 min. Supernatanten dekanterades över till nya eppendorfrör. Proverna förvarades i -20°C frys fram till analys, där esterasaktiviteten bestämdes genom mätningar av bildad PABA.

HPLC analys av PABA

Mängden PABA i proverna analyserades med high performance liquid chromatography (HPLC). Systemet bestod av en Beckman System Gold Module 126 (USA), en Spectrometric Detector SPD-2A (Shimadzu Corp, Kyoto, Japan) och en analytisk kolonn (Ultra Sphere) C18 4,6 x 250 mm (Beckman, USA). Den mobila fasen bestod av 90 % destillerat vatten, 10 % acetonitril och 0,01 % TFA (trifluorättiksyra), pH 3, och flödes hastigheten var 1 ml/min. Våglängden för absorbans detektion av PABA var 300 nm. (metod enl. Murtaza et al., 2002). 40 µl av provet injicerades i kolonnen. Retentionstiden för PABA var ca 17 min. Kromatogrammet registrerades och analyserades med hjälp av en Merck Hitachi D-2500 Chromato-integrator. En standardkurva gjordes på med PABA spikade prover från poolad hästplasma. Koncentrationerna av bildad PABA beräknades utifrån denna standardkurva och anges i mg PABA per liter plasma.

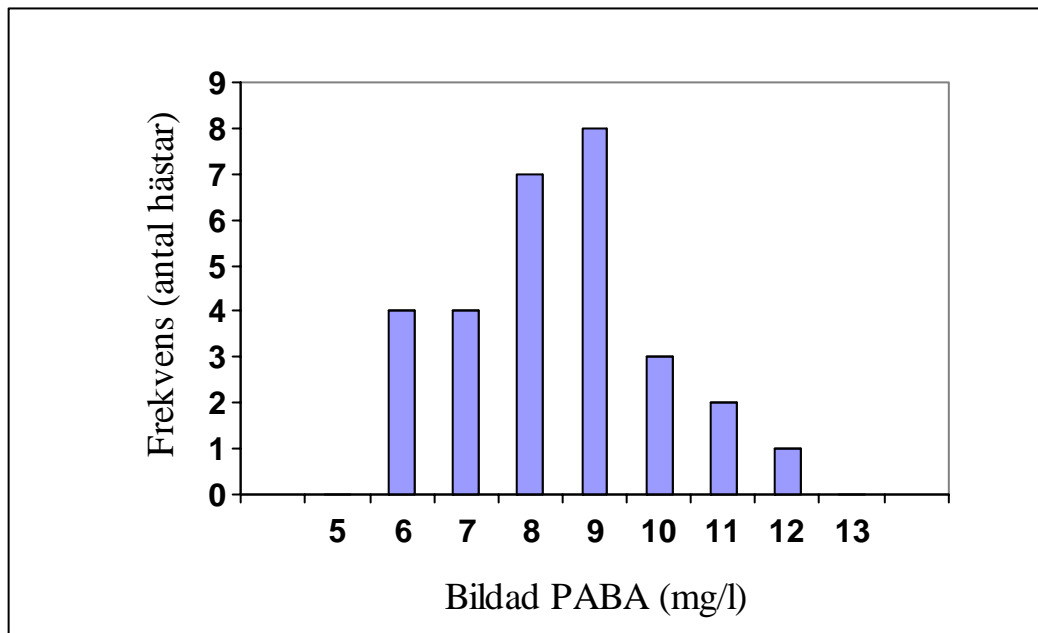
Analys av data

Grafer och beräkningar är gjorda med hjälp av datorprogram (Microsoft® Excel 2002 och Minitab™ 31.13). Ett "two-sample equal variance" t-test med ensidig fördelning har använts för att jämföra medelvärden bildad PABA hos hästarna som chockat med hästarna i kontrollgruppen.

RESULTAT

Hydrolys av prokain i plasma hos normalpopulationen

Hos normalpopulationen ses en relativt stor spridning i förmågan att hydrolysera prokain i plasma, mätt i bildad PABA mg/l (figur 1). Mängden bildad PABA varierar mellan en lägsta nivå på 5,7 mg/l och en högsta nivå på 11,5 mg/l. Medelvärdet bildad PABA för normalpopulationen är 8,4 mg/l.

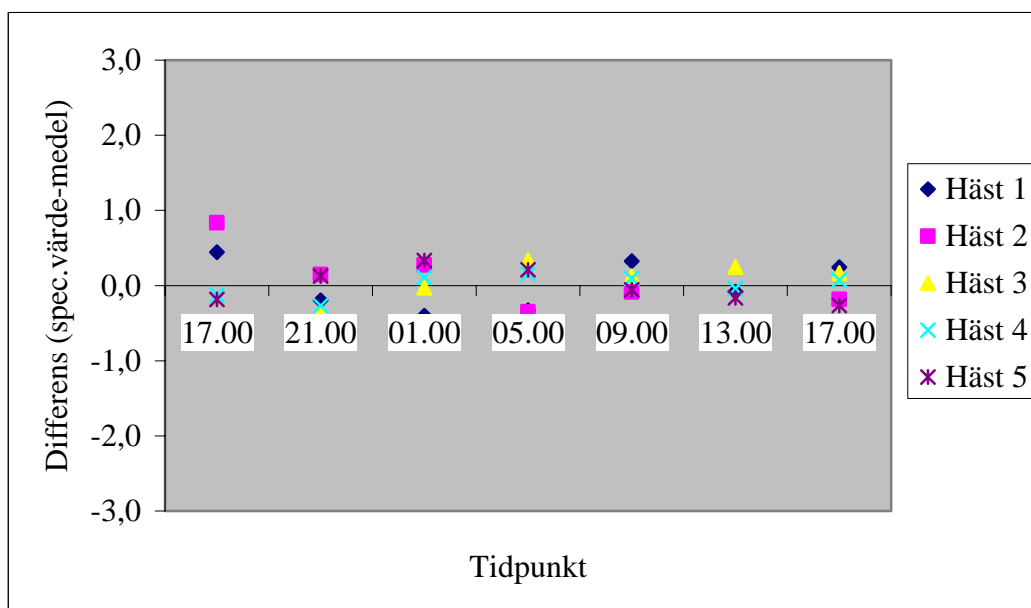


Figur 1. Mängd bildad PABA vid inkubation (12 min i 37°C) av prokain (20 µg/ml) i plasma från normalpopulationen. Två prover analyserades från varje häst.

Dygnsvariation

Resultaten visar inte på någon specifik dygnsvariation i esterasaktivitet i plasma hos de fem undersökta hästarna. I figur 2 visas differensen mellan mängden bildad PABA (mg/l) för varje häst vid varje tidpunkt och hästens dygnsmedelvärde bildad PABA (mg/l). Denna differens har plottats som förändring från baslinjen, där baslinjen utgörs av varje hästs dygnsmedelvärde. Diagrammet visar att hästarna inte verkar följa något speciellt mönster under dygnet i förmåga att hydrolysera prokain.

Försöket visade också att det föreligger en relativt stor individuell skillnad i förmågan att bilda PABA. Tre hästar hade ett medelvärde på något över 6 mg/l och två av hästarna på över 10,5 mg/l.

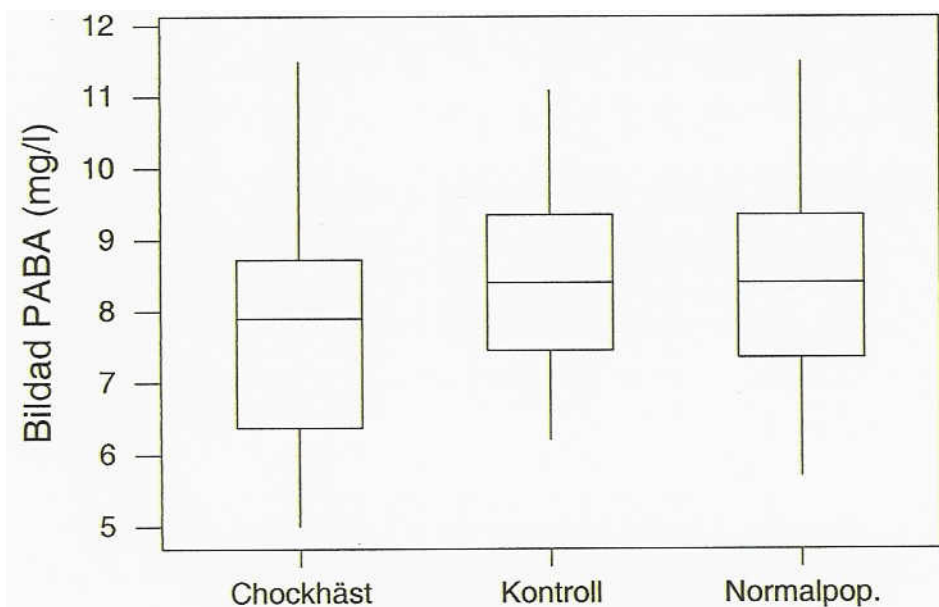


Figur 2. Variation av förmågan att hydrolysera prokain i plasma hos fem hästar under ett dygn. Hästplasma inkuberades med prokain (20 $\mu\text{g/ml}$) i 37°C i 12 min. Två prover analyserades från varje häst.

Hydrolys av prokain i plasma från "chockhästar" och kontroller

Variationen mellan medelvärdena av esterasaktiviteten, uttryckt som mängd bildad PABA, hos de olika grupperna av hästar visas i figur 3. Chockgruppens medelvärde i mängd bildad PABA är 7,8 mg/l jämfört med kontrollgruppens 8,5 mg/l och normalpopulationens 8,4 mg/l. I figur 3 görs en sammanställning av de olika gruppernas bildade PABA (mg/l) i form av box-plot. 50 % av hästarna befinner sig inom boxen, 25 % befinner sig under boxens nedre gräns och 25 % över den övre gränsen. Mittlinjen i varje box markerar medianvärdet bildad PABA (mg/l).

För att jämföra chockgruppen med kontrollgruppen gjordes ett t-test med hjälp av datorprogram och det visade att det inte är någon statistiskt signifikant skillnad ($p=0,076$) mellan chockhästarna och kontrollerna då signifikansnivån är 95 % ($p<0,05$).



Figur 3. Box-plot över bildad PABA (mg/l) för de olika grupperna; chockhästar, kontroller, normalpopulation. Mittlinjen i varje box markerar medianen. Hästplasma inkuberades med prokain (20 $\mu\text{g/ml}$) i 37°C i 12 min. Två prover analyserades från varje häst.

DISKUSSION

Hos människor finns det beskrivet en lägre esterasaktivitet hos patienter som drabbats av toxiska reaktioner efter injektion av bensylpenicillinprokain (Downham et al, 1978). Resultatet från denna studie visar på en viss tendens att chockhästarna har något lägre esterasaktivitet i plasma än både kontrollgruppen och normalpopulationen, men skillnaden är inte statistiskt signifikant för $p < 0,05$. Eftersom man vet att det finns ett flertal möjliga bakomliggande orsaker till penicillinchock (Tjälve, 2002), kan man tänka sig att de hästar som har hög esterasaktivitet har reagerat på grund av någon annan orsak ex allergi. Därför skulle det vara mycket intressant att få reda på om några av hästarna som ingått i försöket är allergiska mot bensylpenicillinprokain. Om man skulle kunna räkna bort de hästarna från materialet, är det inte omöjligt att skillnaden mellan chockhästar och kontrollgrupp kan bli statistiskt signifikant. Det pågår för tillfället ett projekt på Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap där man försöker utarbeta en metod för att kunna fastställa om hästar är allergiska mot penicillin eller prokain. När denna metod finns tillgänglig, kan vi kanske få ett bättre svar på om så är fallet. Det vore också intressant om man kunnat ta proverna direkt i anslutning till att hästarna chockat, för att se hur esterasaktiviteten varierar. Tyvärr var det inte praktiskt möjligt att utföra i denna undersökning.

Resultaten från undersökningen av plasma hos en normalpopulation av hästar visar att det föreligger en relativt stor variation i esterasaktivitet. Mängden bildad PABA varierar mellan 5,7 mg/l och 11,5 mg/l. Man kan tänka sig att det bland dessa hästar kan finnas individer som är potentiellt känsliga mot bensylpenicillinprokain. Tobin et al. (1976a) har också visat att det finns stora individuella skillnader i hästars hydrolysförmåga av prokain i plasma.

Resultatet från studien tyder på att det inte är någon variation under dygnet i förmågan att hydrolysera prokain i plasma hos hästar. Hästarna stod under försökets gång installerade och hade en foderstat som bestod av hö och vatten. Det skulle vara intressant att studera hur och om esterasaktiviteten påverkas av olika foder och om hästarna vistas utomhus, vilket är normalfallet för de flesta hästar. Hästarna som ingick i detta försök var ovariehysterektomerade ston vilket också skulle kunna tänkas påverka resultatet något. Man skulle också kunna tänka sig att aktiviteten hos esteraser kan påverkas av hästens träningsstatus, ålder och ras. Tobin et al. (1976b) jämförde hydrolyshastigheten av prokain i plasma hos fullblod, halvblod, varmlod och blandraser. Det visades ingen signifikant skillnad mellan medelvärdena hos de olika raserna i hydrolysförmåga. Hos människa är det visat att reaktioner efter injektion av bensylpenicillinprokain inte har något samband med ras eller kön (Green et al., 1974). Enligt Tobin et al. (1976b) påverkas hydrolysakтивiteten av prokain i blod av "packed cell volume" (pcv) in vitro. Hos hästar kan pcv variera markant beroende på träningsstatus. Tobin et al. (1976b) tror dock inte att det har någon signifikant betydelse in vivo, då det inte finns någon anledning att tro att den totala mängden esteraser i ett djur varierar med djurets träningsstatus.

Eftersom prokain, väl i blodcirkulationen, hydrolyseras av esteraser, borde faktorer som minskar esterasaktiviteten kunna resultera i förlängda och ökade

nivåer av prokain i blodet och på sätt leda till en toxisk reaktion (Chapman et al, 1992; Downham et al, 1978). Minskad esterasaktivitet i plasma har associerats med minskad lever- och njurfunktion (Downham et al., 1978). Ämnen som man vet kan påverka esterasaktiviteten är organiska fosforföreningar (Chapman et al., 1992). Man skulle också kunna tänka sig att olika läkemedel påverkar esterasaktiviteten. I samband med penicillinbehandling av häst ges ofta även ett smärtstillande, antiinflammatoriskt och febernedsättande preparat, som ex Fenylbutazon eller Finadyn. Både Fenylbutazon och Finadyn är läkemedel som binds till proteiner i plasma, vilket även prokain gör. Tillverkarna informerar i produkttexten om att vid samtidig behandling med andra proteinbundna läkemedel kan en förstärkt effekt fås av en av substanserna (LIF, 2004). Det skulle vara intressant att studera hur och om även esterasaktiviteten påverkas av dessa preparat.

Mängden fritt prokain som finns i bensylpenicillinprokain preparaten kan ha betydelse för om penicillinchock inträffar. Enligt en studie gjord i Australien, har de på marknaden tillgängliga bensylpenicillinprokain preparaten för häst en nästan tre gånger så hög koncentration av lösligt prokain jämfört med preparat som används inom humanmedicin (Chapman et al, 1992). Green et al. (1974) har visat att förvaringen av bensylpenicillinprokain kan påverka andelen fritt prokain i preparatet. Bensylpenicillinprokain som förvaras i 50°C (ex skulle denna värme kunna uppnås i en bil som står parkerad i solen) får en markant ökad andel fritt prokain jämfört med förvaring i lägre temperaturer. Detta skulle kunna göra preparatet mer potentiellt i fråga om att orsaka biverkningar.

Om det visar sig att hästar som reagerar på bensylpenicillinprokain har en nedsatt förmåga att bryta ned prokain skulle detta kunna få en praktisk betydelse, då man via blodprov skulle kunna få en uppfattning om hästarnas esterasaktivitet och därmed deras potentiella känslighet för prokain. I väntan på ytterliggare studier bör man göra vad man kan för att undvika biverkningar vid behandling med bensylpenicillinprokain. Om en häst reagerat på behandling med bensylpenicillinprokain och man ändå vill fortsätta/påbörja ny behandling, vill man på bästa möjliga sätt försäkra sig om att hästen inte är allergisk, då ytterliggare behandling vore kontraindicerad. Man kan då prova att injicera en liten mängd av läkemedlet först för att se om reaktion uppstår, visar sig ingen reaktion, torde hästen inte vara allergisk (Hästsektionens Normgrupp, 2002). Man bör också instruera djurägaren väl om hur injektionen ska utföras och vara noga med att aspirera före injektion. Andra profylaktiska åtgärder kan vara att förvara preparatet så som det ska förvaras, injicera det långsamt och ändra injektionsplats vid upprepade injektioner (Nielsen et al., 1988). Som nämnts tidigare rapporterades år 2003 fem fall av penicillinchock (Tjälve, 2004). Vid sökandet efter hästar som chockat till den här studien fick vi kontakt med 25 hästar under en period av cirka 12 månader. Det måste innebära att många fall av biverkningar inte rapporteras. För att få en bättre statistik över hur vanligt biverkningar efter injektion av penicillinpreparat är vore det bra om biverkningsrapporteringen från veterinärer blir bättre.

TACK

- Till min huvudhandledare Pia Larsson för all hjälp och för ditt engagemang under arbetets gång.
- Till biträdande handledare Lena Olsén, som varit oumbärlig och hjälpt mig mycket med laborationer och allt det praktiska och svarat på alla mina frågor.
- Till Carina Ingvast –Larsson och Hans Tjälve för ert engagemang och intressanta diskussioner under försökets gång.
- Till alla djurägare som ställt upp med sina hästar i studien, veterinärer och djursjukhus som kontaktat oss när hästar som ”chockat” har dykt upp.
- Till Ängelholms sjukhus som ställt sitt laboratorium till förfogande.
- Till Institutionen för obstetrik och gynekologi för att de ställde upp med hästar till försöket.

REFERENSER

- Chapman C. B., Courage P., Nielsen I. L., Sitaram B. R. & Huntington P. J. (1992) The role of procaine in adverse reactions to procaine penicillin in horses. *Aust Vet J* 69 (6), 129-133.
- Downham T. F., Cawley R. A., Salley S. O. & Dal Santo G. (1978) Systemic toxic reactions to procaine penicillin G. *J Am Vener Dis Assoc* 5 (1), 4-9.
- Green R. L., Lewis J. E., Kraus S. J. & Frederickson E. L. (1974) Elevated plasma procaine concentrations after administration of procaine penicillin G. *N Engl J Med*, 223-226.
- Hästsektionens Normgrupp för Veterinär Hästpraktik. 24 januari 2002. <http://www.svf.se> (29 november 2004)
- LIF, Läkemedelsindustriföreningen (2004). *Fass Vet.* 2005. Stockholm: Läkemedelsindustriföreningen.
- Murtaza R., Jackman H., Alexander B., Lleshi-Tali A., Winnie A. & Iqbal R. (2002) Simultaneous determination of mepivacaine, tetracaine and *p*-butylaminobenzoic acid by high-performance liquid chromatography. *J Pharmacol Toxicol Methods* 46, 131-136.
- Nielsen I. L., Jacobs K. A., Huntington P. J., Chapman C. B. & Lloyd K. C. (1988) Adverse reaction to procaine penicillin G in horses. *Aust Vet J* 65 (6), 181-184.
- Rang H. P., Dale M. M. & Ritter J. M. (1999) Harmful effects of drugs. In: Churchill Livingstone (Ed. 4) *Pharmacology*. 757-774. Edinburgh.
- Reidenberg M. M. (1972) The procaine esterase activity of serum from different mammalian species (36611). *Proc Soc Exp Biol Med* 140 (3), 1059-1061.
- Ricketts S. W. & Hopes R. (1984) Selection of antibiotics for use in equine practice. *Vet Rec* 114 (22), 544-546.
- Tjälve H. (2002) Läkemedelsbiverkningar hos djur rapporterade under 2000, del 1. *Svensk Veterinärtidning* 54 (1), 15-18.
- Tjälve H. (2004) Läkemedelsbiverkningar hos djur rapporterade under 2003, del 1. *Svensk Veterinärtidning* 56 (13), 17-21.
- Tobin T., Blake J. W., Tai C. Y. & Arnett S. (1976a) Pharmacology of procaine in the horse: A preliminary report. *Am J Vet Res* 37 (9), 1107-1110.
- Tobin T., Blake J. W., Tai C. Y., Sturma L. & Arnett S. (1976b) Pharmacology of procaine in the horse: Procaine esterase properties of equine plasma and synovial fluid. *Am J Vet Res* 37 (10), 1165-1170.
- Tobin T., Blake J. W., Sturma L., Arnett S. & Truelove J. (1977) Pharmacology of procaine in the horse: Pharmacokinetics and behavioural effects. *Am J Vet Res* 38 (5), 637-647.
- Uboh C. E., Soma L. R., Luo Y., McNamara E., Fennell M. A., May L., Teleis L. M., Rudy J. A. & Watson A. O. (2000) Pharmacokinetics of penicillin G procaine versus penicillin G potassium and procaine hydrochloride in horses. *Am J Vet Res* 61 (7), 811-815.