

AMCRA



VERBETER GEZONDHEID, VERMINDER RESISTENTIE

HET GEBRUIK VAN ZINKOXIDE (ZnO) BIJ GESPEENDE BIGGEN IN BELGIË TER PREVENTIE VAN SPEENDIARREE

AMCRA VZW
Salisburylaan 133
9820 Merelbeke



AMCRA heeft als doel om te fungeren als kenniscentrum voor alles wat te maken heeft met antibioticagebruik en -resistentie bij dieren. De missie van AMCRA luidt om alle gegevens in verband met het gebruik van en resistentie tegen antimicrobiële middelen bij dieren in België te verzamelen en te analyseren. Op basis hiervan willen we op een neutrale en objectieve manier communiceren, sensibiliseren en adviseren, met als doel het vrijwaren van volksgezondheid, diergezondheid en dierenwelzijn alsook het bereiken van een duurzaam antibioticabeleid in België. AMCRA is operationeel sinds 2 januari 2012 en zal adviezen formuleren met als doelstelling te komen tot een rationeel gebruik van antimicrobiële middelen in de diergeneeskunde in België.

AMCRA wordt ondersteund en gefinancierd door volgende partners:

- Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV)
- Federaal Agentschap voor Geneesmiddelen en Gezondheidsproducten (FAGG)
- Belgian Antibiotic Policy Coordination Committee (BAPCOC)
- Algemene Vereniging van de Geneesmiddelenindustrie (pharma.be)
- Agrofront: 'Boerenbond' (BB), 'Algemeen Boerensyndicaat' (ABS) en 'Fédération Wallonne de l'Agriculture' (FWA)
- Beroepsvereniging van Mengvoederfabrikanten (BEMEFA)
- Nederlandstalige Gewestelijke Raad van de Orde der Dierenartsen (NGROD)
- Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent (UGent)
- Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Luik (ULg)

Om de missie van AMCRA te kunnen verwezenlijken, werden voor het eerste werkjaar 2012 een aantal strategische objectieven vooropgesteld.

Naast deze strategische doelstellingen, werkt AMCRA ook aan andere objectieven, zoals beschreven in het 'Memorandum of Understanding', of op vraag van betrokken instanties of partners.

Vanaf juni 2012 werd o.a. het gebruik van ZnO in varkensvoeder als mogelijk alternatief voor antibiotica bestudeerd. Hierbij werden o.a. ecologische aspecten en vragen betreffende de dosering behandeld.

Tijdens het vierde kwartaal wordt een ontwerp van het studierapport verspreid. Op basis hiervan kunnen alle betrokken partijen de haalbaarheid en implementatie ervan aftoetsen op korte termijn. (www.amcra.be).

Goedgekeurd op de Raad van Bestuur dd 05/11/2012

Het gebruik van ZnO bij gespeende biggen in België ter preventie van speendiarree.

Gebruikte afkortingen

ABM	antibacteriële middelen; met deze term worden antibiotica en/of anti-infectieuze chemotherapeutica bedoeld, zoals geklasseerd volgens het ATCvet systeem
ACE	angiotensine-converting enzyme
CC	clonal complex
EFSA	European Food Safety Authority
ETEC	enterotoxigene <i>Escherichia coli</i>
kve	kolonie-vormende eenheden
MIC	minimum inhibitorische concentratie
MRSA	methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	methicillin susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>
NSAID	niet-steroidale anti-inflammatoire geneesmiddelen
PPM	parts per million (mg per kg volledig diervoeder)
ZnO	zinkoxide

1. Samenvatting

In de intensieve varkenshouderij in België is het gebruik van ABM, vooral in de periode onmiddellijk na het spenen, hoog en een rationele reductie hiervan dringt zich op. Anderzijds is een dergelijke reductie moeilijk te realiseren zonder nefaste gevolgen voor zowel gezondheid en welzijn van de dieren als voor de productie. In verschillende Europese landen is men erin geslaagd het gebruik van ABM te verminderen bij gespeende biggen, dankzij de toepassing van ZnO in farmacologische concentraties in het voeder kort na het spenen. In deze landen is het gebruik van ZnO aan dosissen hoger dan het wettelijk toegelaten maximumgehalte voor additieven (150 PPM Zn) enkel mogelijk op voorschrift van de dierenarts. Een dergelijke toepassing van ZnO valt dan ook onder de geneesmiddelenwetgeving.

De werking van ZnO aan hoge dosissen wordt verondersteld het resultaat van een combinatie van werkingsmechanismen te zijn. De preventie van speendiarree bij toepassing van hoge concentraties van ZnO in het voeder kan o.a. toegeschreven worden aan een verbeterde intestinale barrière-functie en de immunomodulerende werking van ZnO (Kim et al., 2012). Het is ook aangetoond dat ZnO *in vitro* een antibacteriële werking uitoefent, hoewel het mogelijke belang van deze antibacteriële werking bij de preventie van speendiarree verder onderbouwd moet worden. Er werden wel wijzigingen/verschuivingen waargenomen in de intestinale microbiota van gespeende biggen bij toediening van farmacologische concentraties van ZnO (Starke et al., 2012).

Bij toevoeging van hoge concentraties Zn aan het voeder kan er sprake zijn van competitie met de absorptie van andere mineralen, vnl. Ca, P, Cu en Fe. Een verlaagde opname van Fe en Cu (rol in het ijzertransport) kan leiden tot anemie (Sandström, 2001). Er zijn ook studies die aangeven dat verhoogd Zn in het voeder kan leiden tot een verlaagde effectiviteit van phytase in het voeder. Door complexvorming van Zn met P-phytaat kan phytase het P niet meer vrijmaken (Lizardo, 2004). In landen waar het gebruik van ZnO in farmacologische dosering in het speenvoeder is toegelaten, zijn totnogtoe geen meldingen gemaakt van mogelijk nadelige gevolgen voor de gezondheid van de dieren, indien deze verhoogde concentratie slechts kortstondig wordt toegepast (maximaal 14 dagen). Na 3 tot 4 weken overdosering zijn er echter wel meldingen van problemen.

In de humane geneeskunde zijn mogelijke interacties van Zn met geneesmiddelen beschreven, en wordt de gelijktijdige toediening van Zn met o.a. bepaalde ABM en NSAID's, cisplatine, penicillamine, bepaalde diuretica en ACE inhibitoren vermeden. Mogelijke interacties tussen gebruik van ZnO als diergeneesmiddel en andere diergeneesmiddelen zijn voor zover ons bekend nog niet beschreven. Eventuele verbanden tussen het gebruik van ZnO en andere diergeneesmiddelen zouden moeten gemonitord worden indien ZnO wordt toegelaten voor gebruik als diergeneesmiddel (dit kan eventueel via een centraal datacollectiesysteem m.b.t. het gebruik van diergeneesmiddelen: zie advies datacollectie van AMCRA).

Van zink zijn geen milieu-toxicologische effecten bekend (Willink, 1995). Mens en dier kunnen zink zowel oraal als aërogeen opnemen. Er vindt geen accumulatie in het lichaam plaats, enkel bij zeer zware zinkbelasting kunnen gehalten in lever, nier en bloed verhoogd zijn. Problemen met zinkvergiftiging bij de mens zijn eigenlijk alleen bekend van arbeiders uit de zinkverwerkende industrie (Derivaux en Liégeois, 1962; Willink, 1995). Op basis hiervan kan dan ook geconcludeerd worden dat er geen probleem is van risico voor de gezondheid van de personen die deze producten moeten hanteren (bvb. gedurende het voederproductie-proces).

Om na te gaan wat de zinkuitscheiding van varkens is, worden in dit rapport een aantal scenario's doorgerekend waarbij de totale zinkuitscheiding van één vleesvarken gedurende zijn volledige levensduur wordt berekend. In het **eerste scenario** wordt de huidige situatie doorgerekend waarbij gedurende de volledige levensduur een toevoeging van ZnO aan alle voeders wordt gedaan tot de maximaal toegelaten grens van 150 PPM Zn (norm volledig dierenvoeder). In een **tweede scenario** wordt berekend hoe de totale zinkuitscheiding toeneemt indien tijdens de eerste 14 dagen na het spenen een zinktoevoeging tot 2500 PPM Zn zou worden toegelaten, en tijdens de groei- en afmestfase de wettelijke voederadditieven-norm van 150 PPM wordt gehandhaafd. Verder worden alle zelfde aannames gemaakt als in scenario 1. De zinkuitscheiding neemt in scenario 2 met 16% toe ten opzichte van scenario

1. In een **derde scenario** wordt berekend wat de totale zinkuitscheiding is indien gedurende twee weken in het speenvoeder een zinktoevoeging tot 2500 PPM Zn zou worden toegelaten en het groeivoeder 150 PPM Zn bevat (zoals in scenario 2), maar in het afmestvoeder een gereduceerde maximale toegelaten Zn-concentratie van 120 PPM wordt gehanteerd. Dit derde scenario leidt tot een lichte afname van de totale zinkuitscheiding van 2% ten opzichte van de huidige situatie. In een **vierde scenario** wordt nog steeds een toevoeging van zink tot 2500 PPM Zn gedaan in het speenvoeder (twee weken na spenen) waarna een groeivoeder wordt toegediend met een Zn concentratie van 150 PPM Zn (zoals in scenario 2 en 3) en een afmestvoeder met een nog lagere maximale toegelaten Zn-concentratie van 90 PPM Zn in vergelijking met scenario 3. Dit leidt tot een reductie van de uitscheiding van 20% ten opzichte van scenario 1. Hoewel verwacht wordt dat de basisbehoefte aan zink nog steeds gedekt is in de afmestfase (Bikker, 2012), verkiest de werkgroep voorlopig scenario 3 boven scenario 4. Voor het doorvoeren van een verdere reductie van de zinkconcentratie in de afmestfase van 120 PPM naar 90 PPM, zou een veldstudie moeten uitgevoerd worden in België om na te gaan of de gezondheid van de dieren (cfr. specifieke Belgische genetica) in de afmestfase niet in het gedrang komt.

Het behandelen van gespeende biggen tegen speendiarree draagt in aanzienlijke mate bij tot het (preventief) groepsgebruik van ABM tijdens opfokken van vleesvarkens (van geboorte tot slacht) in België. Uit een recente studie van Callens et al. (2012) bleek dat 55% van de totale hoeveelheid in groep toegediende ABM op 50 gesloten of halfgesloten varkensbedrijven in Vlaanderen te wijten was aan voeder- en drinkwatermedicatie ter preventie en behandeling van speendiarree. Hoofdzakelijk wordt colistine gebruikt, dat de laatste jaren sterk in de belangstelling is gekomen in de humane geneeskunde als laatste redmiddel ter behandeling van multiresistente *Pseudomonas aeruginosa* en *Acinetobacter* infecties en carbapenemase-producerende *Enterobacteriaceae*, en wellicht binnenkort zal geklasseerd worden als kritisch belangrijk ABM voor de humane geneeskunde door de Wereldgezondheidsorganisatie. Door het toedienen van ZnO in farmacologische concentraties via het speenvoeder, zou het gebruik van o.a. colistine op de Vlaamse varkensbedrijven aanzienlijk kunnen gereduceerd worden. Recent onderzoek in België wees uit dat ongeveer 10% van de onderzochte varkens-*E. coli* stammen van zieke dieren resistentie vertoonden ten opzichte van colistine (Boyen et al., 2010). Klonale verspreiding van dergelijke resistente stammen naar de mens, kunnen potentieel een risico inhouden voor de volksgezondheid, hoewel hier momenteel nog geen indicaties voor zijn.

Hoewel voor de meeste kiemen de normale zinkgevoeligheid niet gekend is, kan verworven zinkresistentie weldegelijk voorkomen. Er is nog maar weinig gekend van deze resistentie, omdat er nog maar weinig onderzoek werd uitgevoerd. Bij MRSA werd zinkresistentie toevallig ontdekt omdat deze op hetzelfde mobiele genetische element lag als het methicilline-resistentiegen. Het belang van de toepassing van farmacologische concentraties van ZnO in het speenvoeder voor de selectie en verspreiding van zinkresistente MRSA en voor mogelijke (co)resistentieselectie tegenover ABM, is niet gekend. Onderzoek dringt zich dus op, en bovendien zal het noodzakelijk zijn om in surveillance programma's aandacht te geven aan het voorkomen van deze zinkresistentie. Het zal bovendien ook noodzakelijk zijn om bij indicatorbacteriën (Gram-negatieve en Gram-positieve kiemen) van de intestinale microbiota van varkens op te volgen hoe de gevoeligheid tegenover zink evolueert, wanneer ZnO aan farmacologische concentraties wordt toegevoegd in het speenvoeder.

Andere mogelijke Zn producten of alternatieve vormen van ZnO werden reeds beschreven of zijn zelfs reeds gecommercialiseerd, zoals organische Zn preparaten, vet-gecoate ZnO

producten, ZnO nanopartikels, 'high potentiated' zink, tetra zinkchloride, en micro-gekapseld ZnO. Momenteel zijn er onvoldoende veldstudies beschikbaar die de werking en effectiviteit van bovenstaande vormen van zink aantonen. Daarom verdient het de aanbeveling om deze potentiële alternatieven verder wetenschappelijk te bestuderen.

Op basis van de literatuurstudie uitgevoerd door de werkgroep ZnO worden volgende adviezen naar voor geschoven:

1. Een overeenkomst onder de vorm van een convenant kan afgesloten worden tussen de mengvoederindustrie, de veehouders, de dierenartsen en de overheid, waarin een kortstondige hogere dosering van 2500 PPM ZnO (farmacologische kwaliteit, als geregistreerd diergeneesmiddel) toegelaten wordt in de eerste 14 dagen na het spenen ter behandeling en preventie van speendiarree, onder voorwaarde dat nadien een gereduceerde Zn-concentratie in het voeder wordt gebruikt, nl. 150 PPM in het groeivoeder en 120 PPM in het afmestvoeder (zie hoger: scenario 3), zodat de totale Zn belasting voor het milieu niet stijgt.

2. Het gebruik van ZnO als diergeneesmiddel (farmacologische kwaliteit) in de eerste 14 dagen na het spenen mag enkel onder toezicht van de dierenarts gebeuren, en kan aldus enkel op voorschrift toegepast worden. Het toedienen en verschaffen van ZnO als geneesmiddel zou moeten opgevolgd worden binnen een nationaal datacollectiesysteem m.b.t. het gebruik van diergeneesmiddelen (zie advies datacollectie van AMCRA). Op deze manier kunnen ook eventuele verbanden tussen het gebruik van ZnO als diergeneesmiddel en andere diergeneesmiddelen bestudeerd worden.

3. Het eventuele voorkomen van zinkresistentie bij bacteriën zou moeten gemonitord worden via surveillance studies.

4. In afwachting van de ontwikkeling van goede alternatieven voor het gebruik van ZnO en van ABM, pleit de werkgroep voor een tijdelijke autorisatie van ZnO als diergeneesmiddel aan een concentratie van 2500 PPM (farmacologische kwaliteit) in de eerste 14 dagen na het spenen. In de tussentijd kan verder onderzoek gebeuren om de kwaliteit van de voedersamenstelling van de speenvoeders te optimaliseren om de intestinale barrière-functie van pas gespeende biggen zo goed mogelijk te ondersteunen en op deze manier het optreden van speendiarree, en de noodzakelijkheid van behandelingen met ABM, te minimaliseren.

2. Situering

Het gebruik van ABM in de varkenshouderij in België is hoog en het is het doel van het AMCRA om dit op een rationele manier te reduceren, teneinde de resistentie tegenover ABM te verminderen. Uit onderzoek is geweten dat een groot deel van de groepsbehandelingen bij varkens worden toegediend kort na het spenen ter preventie of behandeling van speendiarree (zie verder). In de praktijk blijkt duidelijk dat het verminderen of zelfs volledig wegnemen van deze behandelingen met ABM kort na het spenen vaak moeilijk haalbaar is zonder dat er zich snel weer klinische problemen manifesteren met zowel gezondheid, productie- als welzijnsconsequenties.

Uit onderzoek is gekend dat supplementatie van speenvoeder van biggen met ZnO gedurende korte tijd aan relatief hoge dosis (2500 PPM Zn) een stabiliserend effect heeft op

het spijsverteringsstelsel (stabiliseren microbiota en voorkomen van aanhechting van pathogene bacteriën aan de darmvilli) wat heel wat problemen van speendiarree kan voorkomen (zie verder). In heel wat Europese landen waar het gebruik van ZnO gedurende een korte periode aan een hoge dosis toegelaten is, blijkt dan ook dat er aanzienlijk minder ABM ter preventie van speendiarree gebruikt worden.

Momenteel is het gebruik van ZnO aan een dosis van 2500 PPM Zn in speenvoeder gedurende een korte tijd toegelaten in Denemarken, Spanje, Italië, Verenigd Koninkrijk, Ierland, Portugal, Polen, Noorwegen, Zweden en Finland. In elk van deze landen is het gebruik van ZnO aan dosissen hoger dan het wettelijk toegelaten maximumgehalte voor additieven (150 PPM Zn - zie verder) enkel mogelijk op voorschrift van de dierenarts. Een dergelijke toepassing van ZnO valt dan ook onder de geneesmiddelenwetgeving. In Frankrijk wordt momenteel onderzocht of het kan toegelaten worden als diergeneesmiddel. Verschillende van deze landen zijn belangrijke varkens-producerende landen (bvb. Denemarken) en gebruiken hun relatief beperkt gebruik van ABM als een marketing tool. Dit wordt door de Belgische varkenssector aangevoeld als deloyale concurrentie gezien het gebruik van ZnO in België aan hoge dosissen (als diergeneesmiddel) op dit moment niet is toegelaten en de sector aldus een belangrijke tool mist om het gebruik van ABM te kunnen laten dalen.

In onderstaand rapport wordt het gebruik van ZnO als diergeneesmiddel, aan hoge dosis gedurende korte tijd in het speenvoeder van varkens, geëvalueerd. Het gebruik van ZnO aan een hoge dosis en als diergeneesmiddel impliceert dat dit gebruik ook dient geregistreerd te worden in de datacollectie met betrekking tot het gebruik van diergeneesmiddelen (zie ook advies datacollectie van AMCRA). In ontwikkelingslanden wordt zink ook als geneesmiddel gebruikt bij diarree bij neonati en jonge kinderen (Black, 1998; Bhandari et al., 2002).

3. Fysiologische Zn behoeften van het varken

Zink speelt een belangrijke rol in het metabolisme van het varken en is aldus een essentieel sporenelement voor groeiende varkens. Zinktekorten kunnen resulteren in een gereduceerde voederopname, parakeratosis, en een verminderde immuniteit. Adviezen met betrekking tot de minimale nutritionele behoeften van zink variëren en zijn niet zo goed gedocumenteerd. Wel is bekend dat ze dalen met een stijgend lichaamsgewicht van ongeveer 100 PPM Zn naar 50 PPM Zn. Echter door een gebrek aan goede documentatie over de minimale zinkbehoeften worden vaak doseringen van boven de 100 PPM Zn toegediend om voldoende toediening te verzekeren (Bikker, 2012). Uit een recente studie van Bikker (2012) blijkt echter dat een toevoeging van 15 PPM Zn onder de vorm van zinksulfaat aan een dieet waar al 33 PPM Zn aanwezig is in de grondstoffen, voldoende was om deficiënties te voorkomen. Een toevoeging van 40 PPM Zn bovenop het zink, aanwezig in de grondstoffen, was voldoende om de serum-zinkniveau 's te maximaliseren. Wanneer dan nog eens een veiligheidsmarge van 10 PPM Zn extra wordt in acht genomen dan komt men uit op een noodzakelijke totale zinkvoorziening in het dieet van ongeveer 80 PPM Zn. De wettelijke maximale norm als diervoederadditief is momenteel 150 PPM Zn. Het dient evenwel opgemerkt te worden dat bovenstaande studies niet werden uitgevoerd bij "Belgische" varkens, en het daarom niet 100% zeker is of deze behoeften ook gelden voor de Belgische varkens met hun specifieke genetische kenmerken.

4. Wetgeving met betrekking tot additieven in diervoeder toegepast op zink.

De wettelijke norm voor Zn als additief in diervoeder is 150 PPM Zn (150 mg per kg volledig diervoeder). Dit is een Europees vastgelegde norm (verordening 1334/2003) waar de lidstaten niet individueel kunnen van afwijken. Er is momenteel op Europees niveau een oefening bezig (herevaluatie van alle bestaande diervoederadditieven) waarin onder andere wordt nagegaan of deze norm dient aangepast te worden. Op basis van een aantal eerste adviezen is de kans reëel dat er nog een verdere reductie van de zinknorm zal komen. De discussie hierover zal vermoedelijk in de tweede helft van 2012 opgestart worden.

De norm van 150 PPM Zn betreft het totaal zinkgehalte in een volledig diervoeder. Het dient opgemerkt te worden dat er in varkensvoeder normaalgezien reeds een concentratie van rond de 30-40 PPM Zn aanwezig is als natuurlijk onderdeel van de granen in het voeder. Dit wil zeggen dat er nog maximaal 110 PPM Zn mag toegevoegd worden als additief. Er dient echter eveneens opgemerkt te worden dat deze totale Zn-bron van 150 PPM Zn niet volledig biologisch beschikbaar is.

Het toevoegen van voederadditieven is geregeld door de EU verordening 1831/2003. In uitvoering hiervan wordt o.a. een maximale norm bepaald (150 PPM voor Zn) en wordt eveneens bepaald dat sporenelementen enkel mogen dienen om in de nutritionele behoeften van de dieren te voorzien en dat hierbij geen claims mogen worden gemaakt met betrekking tot dierengezondheidseffecten of groeitechnische karakteristieken (bvb. verbeteren voederconversie).

Van zodra een toevoeging van Zn boven de wettelijke additieven-norm gedaan wordt en dit bovendien wordt gedaan met de claim van verbeterde darmgezondheid en preventie van spijsverteringstoornissen (speendiarree) valt dit niet meer binnen de grenzen van de voederadditieven en wordt gesproken van een diergeneesmiddel. Dit valt dan ook onder de regelgeving met betrekking tot registratie en gebruik van diergeneesmiddelen. Gemedicineerde voormengsels worden eveneens als diergeneesmiddelen beschouwd.

De wetgeving m.b.t. de normen voor een gemedicineerd voormengsel als geneesmiddel is geregeld in Bijlage II "chemische, farmaceutische en analytische normen, veiligheid- en residuonderzoek en preklinische en klinische proeven ten behoeve van onderzoek voor geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik" van het KB 14.12.2006 betreffende geneesmiddelen voor menselijk en diergeneeskundig gebruik, gewijzigd door het KB van 10 september 2009 (BS 15.09.2009) als gevolg van de implementatie van Richtlijn 2009/9 tot wijziging van RL 2001/82.

5. Werking van ZnO ter preventie van diarree

De werking van ZnO aan hoge dosissen wordt verondersteld het resultaat van een combinatie van werkingsmechanismen te zijn, waaronder de modificatie van de intestinale microbiota en een gereduceerde vrijstelling van histamine door de dunne darmen. Verder kan Zn de kwaliteit van de intestinale mucosa verbeteren door een stimulering van de

expressie van IGF 1 en de receptoren hiervoor en zodoende het herstel van de schade, veroorzaakt door het gewijzigde dieet bij het spenen, versnellen (Li et al, 2010).

Sommige studies suggereren dat zink ook de productie van intestinale en pancreasenzymen doet toenemen (Doppenberg en van der Aar, 2010) terwijl in andere studies geen verhoogde genenexpressie, die zou kunnen wijzen op een verhoogde productie van spijsverteringsenzymen, kon worden aangetoond (Martin et al., 2012).

Roselli et al. (2003) toonden aan dat ZnO de adhesie en invasie van enterotoxigene *E.coli* (ETEC) in een enterocyten celcultuur afremt en een optimale anti-inflammatoire cytokinebalans na ETEC infectie van de celcultuur herstelt (Roselli et al., 2003). Ook in *in vivo* studies met gespeende biggen werd aangetoond dat een dieet met farmacologische concentraties aan ZnO de paracellulaire permeabiliteit (Huang et al., 1999; Zhang en Guo, 2009) vermindert en de translocatie van (pathogene) bacteriën zoals *E. coli* en *Enterococcus* spp. in de mesenterische lymfeknopen van de dunne darm tegenhoudt (Huang et al., 1999).

Hoewel zink een essentieel element is voor het overleven van bacteriën - vele enzymen gebruiken Zn ionen als katalysator of hebben dit element nodig om actief te zijn - is dit metaal aan hoge dosis toxisch voor kiemen. De toxische dosis verschilt van kiem tot kiem. Er zijn echter weinig gegevens beschikbaar met betrekking tot het direct antibacterieel effect van zink. De normale gevoeligheden van kiemen voor deze stof dienen veelal nog bepaald te worden. Vandaar dat het ook moeilijk is om in de huidige omstandigheden van verworven resistentie te spreken. Zoals voor vele ABM, verschilt de normale gevoeligheid tegenover zink nogal tussen verschillende kiemspecies.

Onderzoek naar de *in vitro* gevoeligheid tegenover ZnO van een reeks referentiestammen van intestinale oorsprong toont aan dat de zinkgevoeligheid van de geteste bacteriespecies variabel is (Liedtke en Vahjen, 2012). De gerapporteerde MICs van *Lactobacillaceae* zijn hoog, deze van *Clostridia* en *Bacteroidaceae* zijn variabel, en *Enterobacteriaceae* vertonen gemiddelde tot hoge MIC waarden. Liedtke en Vahjen (2012) besluiten dat er geen gegeneraliseerd antibacterieel effect van ZnO kan verondersteld worden, aangezien MIC waarden sterk verschillen tussen, maar ook binnen verschillende bacteriegroepen. Tayel en co-auteurs (2010) demonstreerden een antibacteriële werking van ZnO (conventionele poedervorm én ZnO nanopartikels) *in vitro* tegenover zowel Gram-positieve kiemen (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) als Gram-negatieve kiemen (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*). In deze studie werden hogere MIC waarden van ZnO (zowel van de conventionele poedervorm als van ZnO nanopartikels) gevonden bij Gram-negatieve kiemen dan bij Gram-positieve kiemen (Tayel et al., 2010). Cellyse door ZnO nanopartikels trad sneller op bij *S. aureus* dan bij *Salmonella* Typhimurium. In de studie van Roselli en co-auteurs (2003) kon geen directe antibacteriële werking van ZnO ten opzichte van ETEC cellen worden aangetoond *in vitro*, aangezien het aantal kve gegroeid in media met en zonder toevoeging van ZnO niet verschilde. Ook Hardy et al. (2003) vonden geen groeiremming in bouillon van *E. coli* K88 na toevoeging van 250, 2000, 3000 en 5000 PPM ZnO, maar wel na toevoeging van zinksulfaat en kopersulfaat.

In vroege *in vivo* studies, waarbij cultuur-gebaseerde technieken werden gebruikt, werd geen invloed waargenomen van concentraties van 2500-3000 PPM ZnO in het voeder op de *E. coli* populatie in faeces en ileum (Jensen-Waern et al., 1998; Li et al., 2001). Ook Højberg en co-auteurs (2005) vonden met 16S rRNA sequencering geen remming van de groei van

facultatief pathogene Gram-negatieve bacteriën in de spijsverteringstractus door 2500 PPM ZnO, terwijl Gram-positieve commensalen zoals *Lactobacillus* spp. en *Streptococcus alactolyticus* wel significant onderdrukt werden. In een studie van Starke et al. (2012) werd een duidelijke reductie in aantal van een reeks intestinale bacteriën (enkele *Lactobacillus* spp., *Clostridia* van een bepaalde cluster, het totaal aan *Enterobacteriaceae*, en de *E.coli/Hafnia/Shigella* groep) en hun metaboliëten waargenomen bij gespeende biggen waaraan voeder gesupplementeerd met 2425 PPM Zn (uit ZnO) werd verstrekt. De veranderingen of verschuivingen in de microbiota waren het meest uitgesproken op jonge leeftijd, kort na het spenen, en namen af met stijgende leeftijd, wat suggereert dat het gunstige effect van ZnO op de darmgezondheid enkel belangrijk is in de periode kort na het spenen.

Meer studies dienen te gebeuren om de algemene gevoeligheid van kiemen tegenover ZnO te bepalen, en het mogelijke belang van een antibacteriële werking van ZnO ter preventie van diarree te evalueren. Ook het werkingsmechanisme van de mogelijke antibacteriële werking van ZnO dient opgehelderd te worden. Uit bovenstaande literatuurgegevens kan niet geconcludeerd worden dat het gunstige effect van hoge voederconcentraties aan ZnO op speendiarree te danken is aan ETEC eliminatie. Preventie van speendiarree kan eerder toegeschreven worden aan de verbeterde intestinale barrière-functie en de immunomodulerende werking van ZnO (Kim et al., 2012). Nochtans werden door verschillende auteurs verklaringen gegeven voor een antibacteriële werking van ZnO, zoals vorming van H₂O₂ aan het oppervlak van ZnO (Yamamoto, 2001) en het verhoogd vrijkomen van Zn²⁺ ionen bij productie van H₂O₂ als een gevolg van ZnO decompositie (ZnO wordt onstabiel in oplossing) (Doménech en Prieto, 1986).

6. Interactie van zink met micronutriënten en geneesmiddelen

6.1. Interactie van zink met micronutriënten

Bij toevoeging van hoge concentraties Zn aan het voeder kan er sprake zijn van competitie met de absorptie van andere mineralen, vnl. Ca, P, Cu en Fe. Een verlaagde opname van Fe en Cu (rol in het ijzertransport) kan leiden tot anemie (Sandström, 2001). Er zijn ook studies die aangeven dat verhoogd Zn in het voeder kan leiden tot een verlaagde effectiviteit van phytase in het voeder. Door complexvorming van Zn met P-phytaat kan phytase het P niet meer vrijmaken (Lizardo, 2004).

Indien echter gedurende slechts een korte periode (maximaal 14 dagen) verhoogde concentraties Zn aan het voeder worden toegevoegd, valt te verwachten dat dit geen nadelig effect zal hebben, zoals ook blijkt uit praktijkinfo van landen die dit nu reeds toelaten. Er zijn echter wel meldingen van problemen die kunnen ontstaan na 3 tot 4 weken overdosering. Langdurig verhoogde Zn waarden in het voeder leiden immers tot vergiftigingsverschijnselen en tekorten van andere mineralen (vnl. Ca, P, Cu en Fe). Het zou ook meermaals aangetoond zijn dat biggen een serieuze opname-depressie vertonen bij langdurige opname van hoge Zn waarden na het spenen (Mavromichalis, 2011). Het verdient dus aanbeveling niet langer dan 14 dagen farmacologische concentraties van ZnO (2500 PPM) via het voeder te verstrekken aan gespeende biggen. Het zou tevens interessant zijn het effect van deze kortstondige toepassing van farmacologische concentraties van ZnO op de mineralenbalans van de biggen na te gaan via veldproeven.

6.2. Interactie van zink met geneesmiddelen

Op verschillende websites (University of Maryland Medical center, National Institutes of Health – USA, Web MD, MED TV, Livestrong.com, ...) wordt melding gemaakt van mogelijke interacties van Zn-toepassing in de humane geneeskunde met geneesmiddelen. Zo zou Zn de werkzaamheid negatief beïnvloeden van ABM (quinolones, tetracyclines met uitzondering van doxycycline), bepaalde NSAID's (o.a. piroxicam, ibuprofen), cisplatine (gebruikt in chemotherapie, kankerbestrijding), penicillamine (voor o.a. bestrijding van reuma), bepaalde diuretica en ACE inhibitoren, ... Het gelijktijdig toedienen van Zn met deze medicatie zou leiden tot een verlaagde absorptie (in het bloed) en dus een verminderde werking van deze geneesmiddelen, wellicht voornamelijk door een soort complexvorming met de actieve molecule. In de humane geneeskunde vermijdt men zink gelijktijdig met hogergenoemde middelen toe te dienen. Mogelijke interacties tussen gebruik van ZnO als diergeneesmiddel en andere diergeneesmiddelen zijn zover ons bekend nog niet beschreven. Eventuele verbanden tussen het gebruik van ZnO en andere diergeneesmiddelen zouden moeten gemonitord worden indien ZnO wordt toegelaten voor gebruik als diergeneesmiddel (dit kan eventueel via een centraal datacollectiesysteem m.b.t. het gebruik van diergeneesmiddelen: zie advies datacollectie van AMCRA).

In een vrij recente studie van Thati et al. (2010) wordt aangetoond dat ZnO nanopartikels synergistisch werken met bepaalde ABM *in vitro*. In dit onderzoek werd een klinisch *S. aureus* isolaat getest d.m.v. agardiffusie om de gevoeligheid t.o.v. verschillende ABM na te gaan. De groei-inhibitiezones waren groter wanneer de test werd uitgevoerd met ABM-disks geïmpregneerd met ZnO nanopartikels (100 µg/disk), dan wanneer de test werd uitgevoerd met disks die enkel een ABM bevatten. De activiteit van beta-lactams, cephalosporines, aminoglycosiden, glycopeptiden, erythromycine, clindamycine en tetracycline namen toe *in vitro*, hoewel het exacte mechanisme van de verhoogde gevoeligheid t.o.v. deze ABM door combinatie met nano-ZnO verder moet uitgezocht worden (verminderde efflux van ABM?). Het is aannemelijk dat de zeer kleine nanopartikels van ZnO meer en beter worden opgenomen in de bacteriecel waardoor de celschade verhoogt (Tayel et al., 2011).

7. Milieubelasting van ZnO

Algemeen dient opgemerkt te worden dat er van zink geen milieu-toxicologische effecten bekend zijn (Willink, 1995). Mens en dier kunnen zink zowel oraal als aërogeen opnemen. Er vindt geen accumulatie in het lichaam plaats, enkel bij zeer zware zinkbelasting kunnen gehalten in lever, nier en bloed verhoogd zijn. Problemen met zinkvergiftiging bij de mens zijn eigenlijk alleen bekend van arbeiders uit de zinkverwerkende industrie (Derivaux en Liégeois, 1962; Willink, 1995). Op basis hiervan kan dan ook geconcludeerd worden dat er geen probleem is van risico voor de gezondheid van de personen die deze producten moeten hanteren (bvb. gedurende het voederproductie-proces).

Om na te gaan wat de zinkuitscheiding is, worden een aantal scenario's doorgerekend waarbij de totale zinkuitscheiding van één vleesvarken gedurende zijn volledige levensduur wordt berekend.

In het **eerste scenario** wordt de huidige situatie doorgerekend waarbij gedurende de volledige levensduur een toevoeging van ZnO aan alle voeders wordt gedaan tot de maximaal toegelaten grens van 150 PPM Zn (norm volledig dierenvoeder).

Situatie scenario 1 (gangbare situatie)		
Speenvoeder (6 - 8 kg)	150	PPM
Groeivoeder (8 - 23 kg)	150	PPM
Afmestfase (23 - 110 kg)	150	PPM
Voederopname varken in levenstraject		
Opname speenvoeder (dag 0 - 14 na spenen)	3	kg/big
Opname groeivoeder	27	kg/big
Opname afmestvoeder	270	kg/varken
Accumulatie Zn door varken	2	%
Totale opname Zn via speenvoeder	450	mg/big
Totale opname Zn via groeivoeder	4050	mg/big
Totale opname Zn via afmestvoeder	40500	mg/varken
Totale opname Zn varken (6 - 110 kg)	45000	mg/varken
Totale uitscheiding Zn via speenvoeder	441	mg/big
Totale uitscheiding Zn via groeivoeder	3969	mg/big
Totale uitscheiding Zn via afmestvoeder	39690	mg/varken
Totale uitscheiding Zn varken (6 - 110 kg)	44100	mg/varken

In deze berekening wordt rekening gehouden met een accumulatie van Zn door het varken van 2% (Dourmad en Jondreville, 2007). Dit resulteert in een totale uitscheiding van 44100 mg Zn per varken. Er zijn echter literatuurbronnen die stellen dat er 0% accumulatie optreedt (Willink, 1995). Indien uitgegaan wordt van 0% accumulatie is de totale uitscheiding gelijk aan de totale opname.

In een **tweede scenario** wordt berekend hoe de totale zinkuitscheiding toeneemt indien gedurende twee weken een zinktoevoeging tot 2500 PPM Zn zou worden toegelaten. Verder worden alle zelfde aannames gemaakt als in scenario 1.

Situatie scenario 2		
Speenvoeder (6 - 8 kg)	2500	PPM
Groeivoeder (8 - 23 kg)	150	PPM
Afmestfase (23 - 110 kg)	150	PPM
Voederopname varken in levenstraject		
Opname speenvoeder (dag 0 - 14 na spenen)	3	kg/big
Opname groeivoeder	27	kg/big
Opname afmestvoeder	270	kg/varken
Accumulatie Zn door varken	2	%
Totale opname Zn via speenvoeder	7500	mg/big
Totale opname Zn via groeivoeder	4050	mg/big
Totale opname Zn via afmestvoeder	40500	mg/varken
Totale opname Zn varken (6 - 110 kg)	52050	mg/varken
Totale uitscheiding Zn via speenvoeder	7350	mg/big
Totale uitscheiding Zn via groeivoeder	3969	mg/big
Totale uitscheiding Zn via afmestvoeder	39690	mg/varken
Totale uitscheiding Zn varken (6 - 110 kg)	51009	mg/varken

In dit scenario stijgt de totale uitscheiding naar 51009 mg per varken wat een toename van 16% betekent t.o.v. scenario 1.

In een **derde scenario** wordt berekend wat de totale zinkuitscheiding is indien gedurende twee weken een zinktoevoeging tot 2500 PPM Zn zou worden toegelaten en het groeivoeder 150 PPM Zn bevat (zoals in scenario 2), maar in het afmestvoeder een gereduceerde maximale toegelaten Zn-concentratie van 120 PPM wordt gehanteerd.

Situatie scenario 3		
Speenvoeder (6 - 8 kg)	2500	PPM
Groeivoeder (8 - 23 kg)	150	PPM
Afmestfase (23 - 110 kg)	120	PPM
Voederopname varken in levenstraject		
Opname speenvoeder (dag 0 - 14 na spenen)	3	kg/big
Opname groeivoeder	27	kg/big
Opname afmestvoeder	270	kg/varken
Accumulatie Zn door varken	2	%
Totale opname Zn via speenvoeder	7500	mg/big
Totale opname Zn via groeivoeder	4050	mg/big
Totale opname Zn via afmestvoeder	32400	mg/varken
Totale opname Zn varken (6 - 110 kg)	43950	mg/varken
Totale uitscheiding Zn via speenvoeder	7350	mg/big
Totale uitscheiding Zn via groeivoeder	3969	mg/big
Totale uitscheiding Zn via afmestvoeder	31752	mg/varken
Totale uitscheiding Zn varken (6 - 110 kg)	43071	mg/varken

In dit scenario daalt de totale uitscheiding naar 43071 mg per varken wat een lichte afname van 2% betekent t.o.v. scenario 1, m.a.w. de totale zinkuitscheiding komt in dit geval zelfs iets lager uit dan voorheen, hoewel het verschil beperkt is.

Dit derde scenario zou kunnen kaderen in een convenant tussen de mengvoederindustrie, de veehouders, de dierenartsen en de overheid waarin wordt afgesproken dat er enkel een kortstondige hogere dosering van ZnO in het voeder kan toegelaten worden in de eerste 14 dagen na het spenen ter preventie van speendiarree, indien deze concentratie in de groeifase gereduceerd wordt naar 150 PPM en in de afmestfase verder gereduceerd wordt naar 120 PPM, zodat de totale milieubelasting ongeveer overeenkomt met de huidige situatie.

In een **vierde scenario** wordt nog steeds een toevoeging van zink tot 2500 PPM Zn gedaan in het speenvoeder (twee weken na spenen) waarna een groeivoeder wordt toegediend met een Zn concentratie van 150 PPM Zn (zoals in scenario 2 en 3) en een afmestvoeder met een nog lagere maximale toegelaten Zn-concentratie van 90 PPM Zn in vergelijking met scenario 3.

Situatie scenario 4		
Speenvoeder (6 - 8 kg)	2500	PPM
Groeivoeder (8 - 23 kg)	150	PPM
Afmestfase (23 - 110 kg)	90	PPM
Voederopname varken in levenstraject		
Opname speenvoeder (dag 0 - 14 na spenen)	3	kg/big
Opname Groeivoeder	27	kg/big
Opname Afmestvoeder	270	kg/varken
Opname anorganische zinkbron door varken	2	%
Totale opname Zn via speenvoeder	7500	mg/big
Totale opname Zn via groeivoeder	4050	mg/big
Totale opname Zn via afmestvoeder	24300	mg/varken
Totale opname Zn varken (6 - 110 kg)	35850	mg/varken
Totale uitscheiding Zn via speenvoeder	7350	mg/big
Totale uitscheiding Zn via groeivoeder	3969	mg/big
Totale uitscheiding Zn via afmestvoeder	23814	mg/varken
Totale uitscheiding Zn varken (6 - 110 kg)	35133	mg/varken

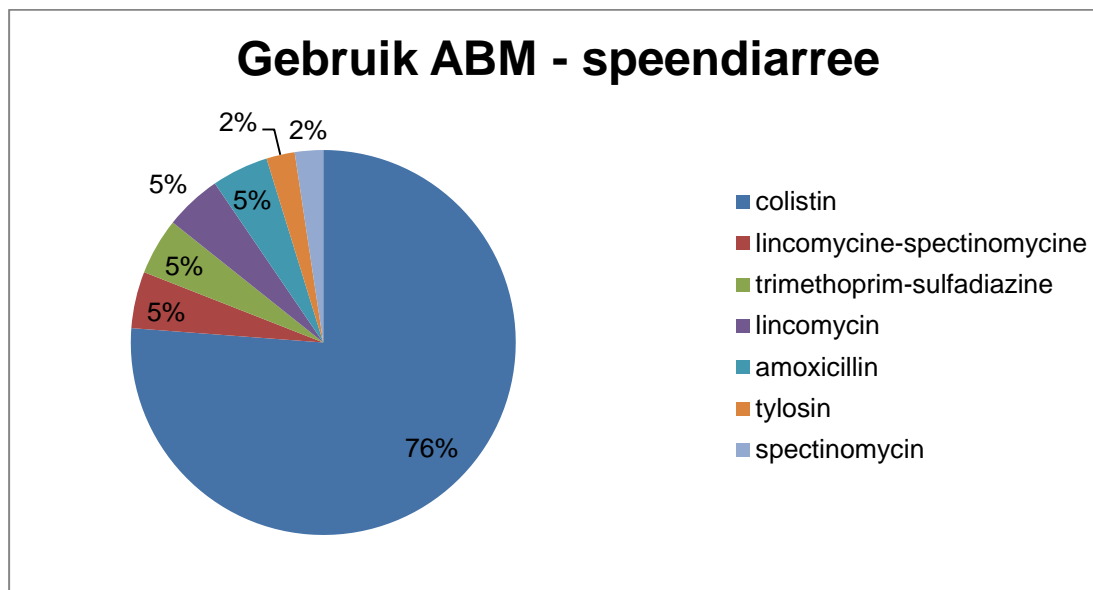
In dit scenario wordt de totale zinkuitscheiding gereduceerd naar 35133 mg per varken wat een reductie betekent van 20% t.o.v. de huidige situatie (scenario 1).

In dit vierde scenario wordt aangenomen dat een gereduceerde totale zinkconcentratie van 90 PPM in het afmestvoeder, wat nog steeds voldoende is om te voorzien in de minimale fysiologische behoeften aan zink (zie hoger), geen nadelige effecten zal hebben op technische prestaties (zoals groei, voederconversie) en uitval. Er is immers geen literatuur beschikbaar die melding maakt van mogelijke negatieve effecten op de gezondheid van de dieren bij dergelijke lage zinkconcentraties in de afmestfase. De werkgroep zinkoxide is echter van mening dat, hoewel voldaan wordt aan de fysiologische behoefte volgens Bikker (2012), een verdere reductie ten opzichte van scenario 3 van de totale zinkconcentratie in het afmestvoeder enkel kan geïmplementeerd worden indien vooraf een studie uitgevoerd wordt onder Belgische omstandigheden die bevestigt dat deze concentratie de basisbehoefte dekt. Indien de concentratie in de afmestfase verder verlaagd wordt ten opzichte van scenario 3, zijn data noodzakelijk die aantonen dat de gezondheid van de dieren (cfr. specifieke Belgische genetica) niet in het gedrang komt.

8. Mogelijk effect van het gebruik van ZnO als diergeneesmiddel op de hoeveelheid gebruikte ABM op varkensbedrijven

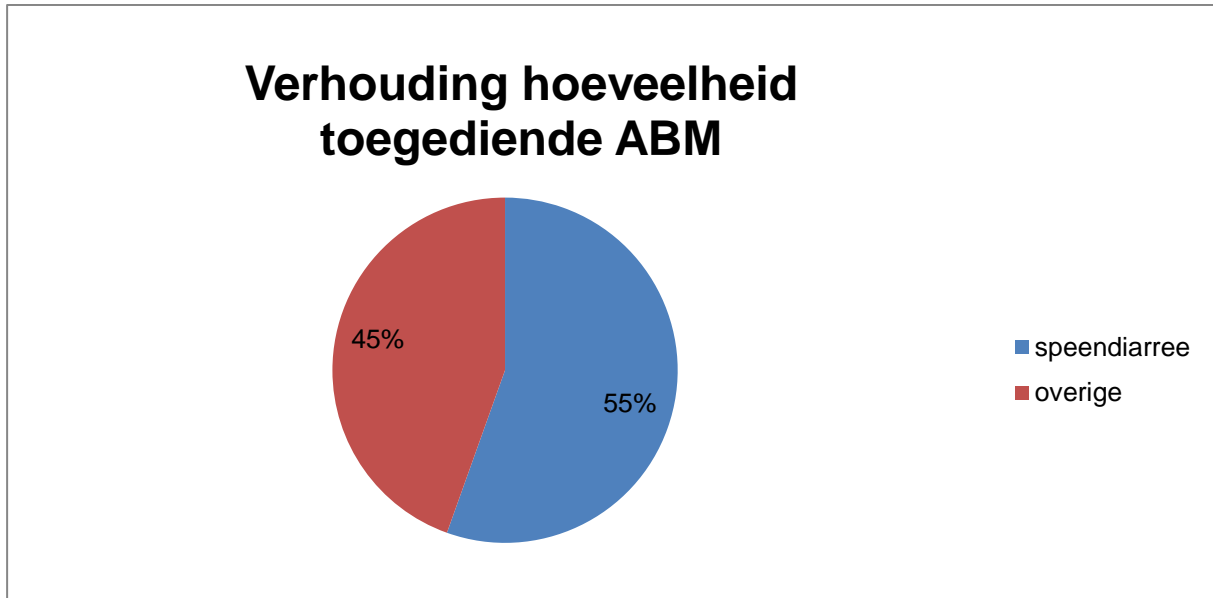
ZnO in farmacologische concentraties wordt voornamelijk toegepast ter preventie van maagdarfstoornissen in de eerste twee weken na het spenen. In deze periode is er vaak sprake van speendiarrée als gevolg van een combinatie van verandering van dieet en infectieuze oorzaken.

In een recente studie op 50 gesloten of halfgesloten varkensbedrijven in Vlaanderen werden retrospectief gegevens over het gebruik van ABM in groep in kaart gebracht (Callens et al., 2012). Uit deze studie bleek dat 84% van de ondervraagde bedrijven groepsbehandelingen met ABM toedienen in de batterij ter preventie en behandeling van speendiarrée. Hiervoor werd meestal colistine (polymyxine) gebruikt (76%, zie figuur 1). Dit gebeurt in hoofdzaak via het voeder (+/- 75%) en in mindere mate via het drinkwater (+/- 25%). In 2010 was het totale colistinegebruik bij dieren in België ongeveer 10.000 kg actieve substantie op een totaal van 300.000 kg actieve substantie (3,3%). Hierbij dient opgemerkt te worden dat colistine, dat in het verleden bijna nooit werd gebruikt in de humane geneeskunde omwille van slechte farmacokinetische eigenschappen en toxiciteit, de laatste jaren sterk in de belangstelling is gekomen in de humane geneeskunde als laatste redmiddel ter behandeling van multiresistente *Pseudomonas aeruginosa* en *Acinetobacter* infecties en carbapenemase-producerende *Enterobacteriaceae*.



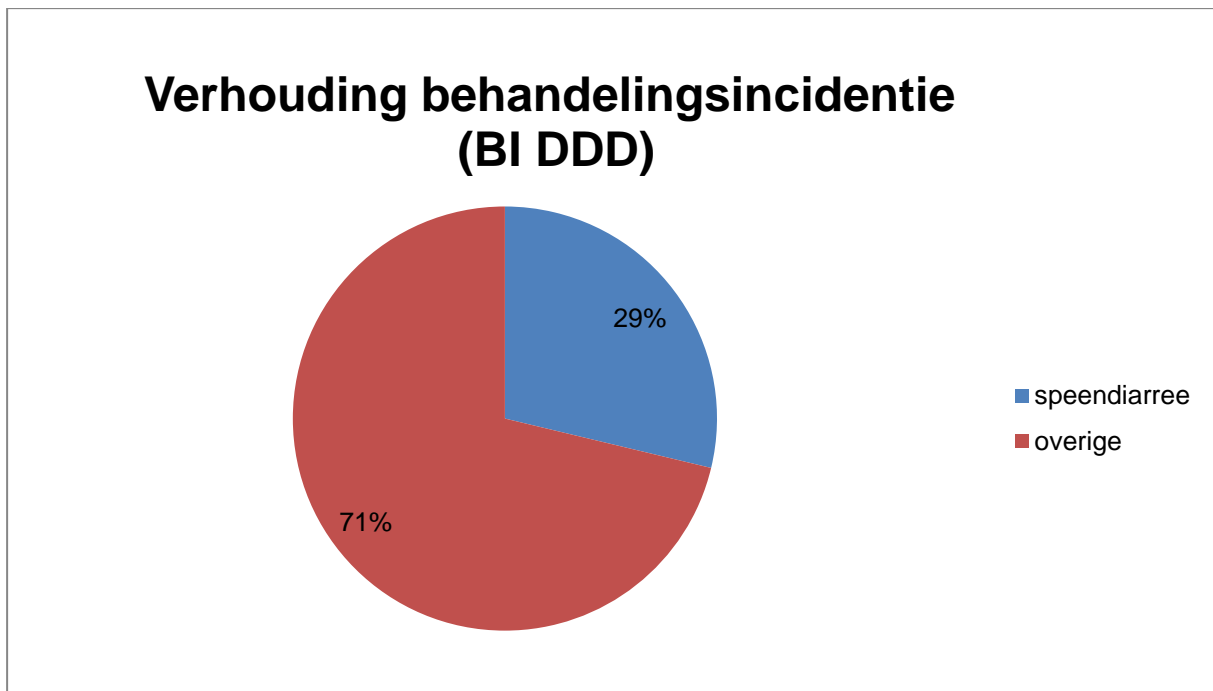
Figuur 1: Verdeling groepsgebruik ABM in voeder of water ter preventie en behandeling van speendiarrée, in 50 gesloten of halfgesloten Vlaamse varkensbedrijven.

Het behandelen van gespeende biggen tegen speendiarree draagt in aanzienlijke mate bij tot het (preventief) groepsgebruik van ABM tijdens het opfokken van vleesvarkens (van geboorte tot slacht). Uit de studie van Callens et al. (2012) bleek dat 55% van de totale hoeveelheid in groep toegediende ABM te wijten was aan voeder- en drinkwatermedicatie ter preventie en behandeling van speendiarree (figuur 2).



Figuur 2: Verhouding hoeveelheid gebruikte ABM ter preventie en behandeling van speendiarree ten opzichte van totale gebruikte hoeveelheid ABM in groep tussen geboorte en slacht van vleesvarkens, in 50 gesloten of halfgesloten Vlaamse varkensbedrijven.

Indien het gebruik uitgedrukt wordt in behandelingsincidentie (aantal dagen dat een dier behandeld wordt gedurende een theoretische levensduur van 1000 dagen met een voorgeschreven dosis), bleek dat 29% van de tijd een dier ABM toegediend kreeg, ter preventie en behandeling van speendiarree (figuur 3). Bovendien bleek uit deze studie dat oraal toegediende ABM vaak ondergedoseerd worden. Een foute dosering, vaak te wijten aan het verkeerd inschatten van lichaamsgewichten van de behandelde dieren, kan een bijkomend risico zijn voor resistentie-selectie.



Figuur 3: Verhouding behandelingsincidentie ter preventie en behandeling van speendiarree ten opzichte van totale behandelingsincidentie in groep tussen geboorte en slacht van vleesvarkens, in 50 gesloten of halfgesloten Vlaamse varkensbedrijven.

BI DDD= Behandelingsincidentie: aantal dagen dat een dier een voorgeschreven dosis (Defined Daily Dose) toegediend krijgt gedurende een theoretische levensduur van 1000 dagen.

Gemiddeld gezien is de behandelingsincidentie (BI) op Vlaamse varkensbedrijven rond de 200 per 1000 dier-dagen. Indien het gebruik van ABM ter preventie en behandeling van speendiarree bvb. met 2/3 zou kunnen gereduceerd worden, zou dit resulteren in een daling van het gebruik van ABM met ongeveer 40 per 1000 dier-dagen (dus van een BI van 200/1000 naar een BI van 160/1000), wat een reductie van 20% van het totale antibioticumgebruik (uitgedrukt in BI DDD) in de varkenshouderij zou inhouden.

Een verminderd (preventief) groepsgebruik van ABM bij gespeende varkens heeft voor gevolg dat niet enkel pathogenen verantwoordelijk voor de klinische symptomen van speendiarree, maar ook de onschadelijke en erg nuttige darmmicrobiota minder blootgesteld worden aan de selectiedruk uitgeoefend door deze ABM.

Volledigheidshalve is het belangrijk te vermelden dat colistine, momenteel frequent gebruikt tegen speendiarree, waarschijnlijk binnenkort zal geklasseerd worden als kritisch belangrijk ABM voor de humane geneeskunde door de Wereldgezondheidsorganisatie. In een Europese monitoringsstudie werd geen resistentie tegenover colistine waargenomen bij *E. coli* isolaten van verschillende voedselproducerende dieren, maar wel bij 21 *Salmonella* Enteritidis isolaten van kippen, wellicht door klonale verspreiding van dit serovar in Spanje (de Jong et al., 2012). Harada en co-auteurs (2005) rapporteerden echter resistentie bij 35,6% van de *E. coli* isolaten geïsoleerd uit zieke varkens, en bij 12,1% van de *E. coli* isolaten van zieke runderen. Het verschil in aantal resistente stammen tussen *E. coli* van varkens en van runderen werd toegeschreven aan het hogere gebruik van colistine bij varkens. Ook recenter onderzoek in België wees uit dat ongeveer 10% van de onderzochte varkens-*E. coli* stammen van zieke dieren resistentie vertoonden ten opzichte van colistine (Boyen et al., 2010). Klonale verspreiding van dergelijke resistente stammen naar de mens,

kunnen potentieel een risico inhouden voor de volksgezondheid, hoewel hier momenteel nog geen indicaties voor zijn.

9. Mogelijk effect van het gebruik van ZnO op resistentie-selectie

In een studie uit 2004 (Aarestrup en Hasman, 2004) werd het voorkomen van zinkchloride-resistentie nagegaan in verschillende bacteriën (152 *Salmonella*, 202 *E. coli*, 43 *S. aureus*, 38 *S. hyicus*, 52 *E. faecalis*, 78 *E. faecium*) afkomstig van landbouwhuisdieren. In deze studie kon geen verworven resistentie tegenover Zn aangetoond worden. Aarestrup et al. (2010) toonden echter aan dat 23 van 31 (74%) MRSA CC398 stammen geïsoleerd uit varkens in Denemarken resistent waren ten opzichte van zinkchloride, terwijl geen van de 60 MSSA varkensstammen zinkresistentie vertoonden. Het gen (*czrC*) werd gekarakteriseerd, en tevens teruggevonden bij 48% van de geteste humane MRSA CC398 stammen uit Denemarken (Cavaco et al., 2010). In een internationale MRSA-stammencollectie werd fenotypisch zinkresistentie aangetoond bij 74% van de Europese MRSA CC398 varkensstammen en bij 42% van de Europese MRSA CC398 stammen van vleeskalveren. Het *czrC* gen werd gedetecteerd bij nagenoeg alle zinkresistente stammen, terwijl dit gen niet teruggevonden werd bij MSSA isolaten (Cavaco et al., 2011). Recent werd het *spa* type t1333 (CC30), dat frequent voorkomt bij MSSA isolaten van varkens in Denemarken, gevonden bij MRSA isolaten van Deense varkens (Agersø, Y. et al., 2012). De MRSA CC30 (*spa* type t1333) stammen bevatten ook de *SCCmec* cassette type V die het *czrC* gen draagt. Wellicht werd deze *SCCmec* cassette horizontaal overgedragen door MRSA CC398 of een andere niet-geïdentificeerde donorstam. De auteurs concludeerden dat het belangrijk is om het voorkomen van dit nieuwe MRSA type verder op te volgen. In deze studie werd ook voor het eerst CC398, met *SCCmec* cassette type V en *czrC* gevonden in rundsvlees, wat indicatief is voor een spreiding van MRSA CC398 (ST398) tussen verschillende diersoorten (Agersø, Y. et al., 2012).

Deze resultaten suggereren een mogelijke resistentieselectie en -verspreiding van MRSA door het verstrekken van voeder met zink. De invloed van het gebruik van zink in het voeder op het voorkomen van antibacteriële resistentie kan moeilijk ingeschat worden. Mogelijk kan door co-resistentieselectie de effectiviteit van courant gebruikte ABM in het gedrang komen. MRSA CC398 stammen zijn immers multi-resistent. Verder onderzoek naar de selectiedynamiek van MRSA zal moeten aantonen of het toedienen van farmacologische concentraties van ZnO in het voeder een belangrijke factor is voor de selectie en verspreiding van MRSA.

In een recente studie van Mohamed en Abo-Amer (2012) werden bacteriën geïsoleerd enerzijds uit bodems en vegetatie gecontamineerd met zware metalen (nabij grote wegen met veel verkeer) en anderzijds uit botanische tuinen in Egypte. Hoe hoger de concentraties waren aan zware metalen in de omgeving, hoe minder bacteriën werden geïsoleerd. Deze bacteriën vertoonden bovendien resistentie tegenover verschillende zware metalen (o.a. Zn^{2+} , Pb^{2+}). Bij een geselecteerde zeer resistente *Pseudomonas aeruginosa* stam werd bovendien een 9.5 kb plasmide gevonden dat verantwoordelijk was voor de resistentie tegenover verschillende zware metalen, o.a. Zn^{2+} . Ook in een eerdere studie van deze auteurs (Abo-Amer en Mohamed, 2006) werd resistentie gevonden tegenover verschillende zware metalen, inclusief Zn^{2+} , in een *P. aeruginosa* stam geïsoleerd uit de bodem van Sohag; ook in deze studie werd de resistentie op een mobiel DNA-element gedetecteerd.

Uit bovenstaand literatuuroverzicht kan worden geconcludeerd dat er weldegelijk verworven zinkresistentie kan voorkomen bij bacteriën. Voor de meeste kiemen is de normale zinkgevoeligheid evenwel niet gekend. De hogergenoemde zinkresistentie van MRSA CC398 werd per toeval ontdekt, aangezien het gen dat hiervoor codeert op het SCC mec element werd gevonden, dat ook de resistentie tegenover methicilline omvat. Het verdient de aanbeveling om in de surveillance programma's aandacht te geven aan het voorkomen van deze zinkresistentie. Het zal bovendien ook noodzakelijk zijn om bij indicatorbacteriën (Gram-negatieve en Gram-positieve kiemen) van de intestinale microbiota van varkens op te volgen hoe de gevoeligheid tegenover zink evolueert, wanneer ZnO aan farmacologische concentraties wordt toegevoegd in het speenvoeder.

Door Dr. Hanne Maribo werd op het recente AMCRA-symposium "Alternatives for antibiotics in animal production" gemeld dat er in de Deense varkenshouderij na jaren van intensief gebruik van ZnO nog geen aanwijzingen zijn voor een verhoogde zink-resistentieselectie en -spreiding (mondelijke mededeling, 18 oktober 2012).

10. Andere mogelijke Zn producten of alternatieve vormen van ZnO

Hoewel het gebruik van ZnO aan farmacologische concentraties bij gespeende biggen in de varkenssector wereldwijd geaccepteerd wordt als eerste keuze ter vervanging van ABM in het voeder omwille van de gunstige effecten op productieparameters en colibacillosis na het spenen (Hoque et al., 2004), kan zink ook onder andere vormen toegediend worden via het voeder. In onderstaande tekst worden enkele van deze mogelijke alternatieven kort besproken.

Organische Zn preparaten (chelaten, glycinaten, ...) zijn beter opneembare vormen van Zn, met een hogere biobeschikbaarheid, dan anorganische zinkbronnen (zoals ZnO). De veiligheid van een organisch zinkpreparaat toegediend als voederadditief aan dieren werd onlangs bevestigd in een publicatie van EFSA (2012). Aan de nutritionele behoeften wordt voldaan indien dergelijke producten als voederadditief worden toegepast. Voor de preventie van speendiarree echter, wordt in de literatuur de effectiviteit van ZnO in farmacologische concentraties gedocumenteerd.

Er zijn enkele vet-gecoate ZnO producten op de markt. Deze zouden aan veel lagere concentraties dan standaard ZnO toch even goed werken. Door de speciale coating zouden deze producten dieper doordringen in het spijsverteringsstelsel waardoor op de juiste locaties meer Zn beschikbaar is voor de uitoefening van een antibacteriële en anti-inflammatoire werking, en verhoogde IGF 1 expressie. De inclusie van ZnO in het dieet zou op deze manier gereduceerd kunnen worden van 2500 tot 3000 PPM naar 100 PPM met dezelfde gunstige effecten ten opzichte van *E. coli* infecties na het spenen (Kim et al., 2012).

Micro-gekapseld ZnO is ook een vorm van zink met potentieel voor de toekomst. In een recent uitgevoerd experiment werden 21 dagen oude gespeende biggen gevoederd met een controlevoeder zonder toevoeging van ZnO, een voeder met 3000 PPM ZnO, of een voeder met 100 PPM micro-gekapseld ZnO. De helft van de biggen in iedere groep werd experimenteel geïnfecteerd met β -haemolytische ETEC. Toevoeging aan het voeder van 100 PPM micro-gekapseld ZnO onderdrukte de ziektesymptomen van colibacillosis na het

spenen bij zowel de geïnfecteerde als de niet-geïnfecteerde biggen, en zorgde ervoor dat de plasma- en faecale Zn niveau's dezelfde bleven als deze gevonden bij biggen die het controlevoeder kregen (Kim et al., 2012). De invloed van micro-geïncapseld zink op de intestinale barrière-functies *in vivo* moet verder bestudeerd worden.

Ook nanotechnologie wordt gebruikt om de effectiviteit van ZnO te verhogen zodat de dosis kan verlaagd worden. Door het extreem fijn maken van ZnO (en het creëren van een hogere oppervlakte/volume ratio), zouden meer ZnO moleculen ter beschikking komen om interacties aan te gaan in het gastro-intestinaal stelsel met de mucosa en de aanwezige bacteriën. Deze technologie zou ook toelaten veel lagere concentraties van Zn te gebruiken dan de farmacologische dosering. Een antibacterieel effect van ZnO nanopartikels werd door verschillende auteurs aangetoond (Liu et al., 2009; Tam et al., 2008; Tayel et al., 2010). Toch is nog onvoldoende geweten over de interactie van nanopartikels en de bacteriële cel en het doordringen van nanopartikels tot in de cellen (Jiang et al., 2009).

Een andere recente ontwikkeling betreft 'high potentiated' zink. Het oppervlak en de porositeit van ZnO wordt meer dan 10 maal vergroot. Hierdoor wordt een nog effectievere Zn-vorm gecreëerd dan nano-zink, omwille van het veel hogere aandeel aan mogelijke interactieplaatsen tussen de ZnO molecule, de gastheer en de intestinale kiemen. De eerste onderzoeken met deze producten zijn veelbelovend. *In vivo* tests laten zien hoe 150 g/T gepotentialiseerd Zn een even sterke activiteit uitoefent als 3 kg/T ZnO (Durosoy et al., 2012).

Tetra zinkchloride is een vrij nieuwe vorm van Zn met veelbelovende resultaten. Deze Zn-vorm (Zinkchloride Hydroxyde) werd in oktober recent via verordening 991/2012 toegelaten voor gebruik in de veevoeding. Een literatuurgegeven vernoemt hogere dosissen (1000 – 1500 PPM) om de werking van 2500 PPM ZnO te evenaren.

Echter, momenteel zijn er onvoldoende gegevens en vooral veldstudies beschikbaar die de werking en effectiviteit van bovenstaande vormen van zink aantonen. Daarom verdient het de aanbeveling om deze potentiële alternatieven verder wetenschappelijk te bestuderen alvorens ze in het veld in te zetten.

11. Adviezen aan de overheid

Op basis van bovenstaande studie stelt de werkgroep voor om een overeenkomst onder de vorm van een **convenant** af te sluiten **tussen de mengvoederindustrie, de veehouders, de dierenartsen en de overheid**, waarin een **kortstondige hogere dosering van 2500 PPM ZnO (farmacologische kwaliteit, als geregistreerd diergeneesmiddel) toegelaten wordt in de eerste 14 dagen na het spenen** ter behandeling en preventie van speendiarree, onder voorwaarde dat nadien een gereduceerde Zn-concentratie in het voeder wordt gebruikt, nl. **150 PPM in het groeivoeder** en **120 PPM in het afmestvoeder** (zie hoger: scenario 3). De gereduceerde concentratie van 120 PPM in het afmestvoeder is nog steeds ruim voldoende om in de basisbehoeften van de varkens te voorzien.

Bij implementatie van dit scenario blijft de totale milieubelasting gelijk ten opzichte van de huidige zinktoepassing als additief in diervoeder voor varkens. Bovendien wordt bij een kortstondige toepassing van een hoge dosering van ZnO geen nadelig effect verwacht op de productieparameters of de mineralenbalans.

Uit bovenstaand overzicht is duidelijk dat het gebruik van ZnO in farmacologische concentraties het gebruik van ABM ter preventie van speendiarree sterk kan doen dalen, zoals ook het geval is in andere landen waar het gebruik van ZnO als diergeneesmiddel in het speenvoeder is toegelaten. Hierdoor kan ook het gebruik van colistine bij gespeende biggen sterk teruggedrongen worden, wat gezien het toenemend belang van dit antibioticum voor de humane geneeskunde, een absolute noodzaak is.

Anderzijds zal het belangrijk zijn dat het gebruik van ZnO als diergeneesmiddel (farmacologische kwaliteit) in de eerste 14 dagen na het spenen **onder toezicht van de dierenarts** gebeurt, en aldus **enkel op voorschrift** mogelijk is. Net zoals voor ABM, is ook voor zink reeds resistentie beschreven, vnl. bij MRSA afkomstig van varkens uit Denemarken, een land dat farmacologische concentraties van ZnO in het speenvoeder toelaat. Daarom is het belangrijk om bij toepassing van ZnO in farmacologische concentraties, een voorzichtig en rationeel gebruik van dit geneesmiddel te respecteren en te stimuleren. Hoewel niet geweten is in welke mate de toepassing van farmacologische concentraties van ZnO in het voeder ter preventie van speendiarree bijdraagt tot de selectie en verspreiding van MRSA, is het noodzakelijk dat **zinkresistentie** bij deze bacteriën, alsook bij Gram-negatieve en Gram-positieve indicatorbacteriën van het intestinaal stelsel van varkens, **opgevolgd wordt via surveillance studies**. Het **toedienen en verschaffen van ZnO als diergeneesmiddel** moet bijgevolg ook **gemonitord worden binnen een nationaal datacollectiesysteem** (cfr. advies datacollectie van AMCRA), zodat eventuele verbanden tussen gebruik en resistentie kunnen nagegaan worden. Op deze manier kunnen ook eventuele verbanden tussen het gebruik van ZnO als diergeneesmiddel en het gebruik van andere diergeneesmiddelen bestudeerd worden.

In afwachting van de ontwikkeling van goede alternatieven voor het gebruik van ZnO en van ABM, pleit de werkgroep voor een **tijdelijke autorisatie van ZnO als diergeneesmiddel** aan een concentratie van 2500 PPM (farmacologische kwaliteit) in de eerste 14 dagen na het spenen. Enkel op deze manier is het mogelijk het gebruik van het humaan belangrijke colistine sterk te reduceren in de intensieve varkenshouderij, zonder het dierenwelzijn in het gedrang te brengen en onnodig dierenleed te creëren. **In de tussentijd kan verder onderzoek** gebeuren om de **kwaliteit van de voedersamenstelling van de speenvoeders** te optimaliseren om de intestinale barrière-functie van pas gespeende biggen zo goed mogelijk te ondersteunen en op deze manier het optreden van speendiarree, en de noodzakelijkheid van behandelingen met ABM, te minimaliseren (Kim et al., 2012).

12. Referenties

Aarestrup, F.M., Cavaco, L., Hasman, H. 2010. Decreased susceptibility to zinc chloride is associated with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in Danish swine. Vet. Mic. 142: 455-457.

Aarestrup, F.M., Hasman, H. 2004. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. Vet. Mic. 100: 83-89.

Abo-Amer, A.E, Mohamed, R.M. 2006. Heavy metals resistant plasmid-mediated utilization of solar by *Pseudomonas aeruginosa* AA301. Rom. Arch. Microbiol. Immunol. 65: 113-119.

- Agersø, Y., Hasman, H., Cavaco, L.M., Pedersen, K., Aarestrup, F.M. 2012. Study of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Danish pigs at slaughter and in imported retail meat reveals a novel MRSA type in slaughter pigs. *Vet. Microbiol.* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.12.023>.
- Bhandari, N., Bahl, R., Taneja, S., Strand, T., Mølbak, K., Ulvik, R.J., Sommerfelt, H., Bhan, M.K. 2002. Substantial reduction in severe diarrheal morbidity by daily zinc supplementation in young North Indian children. *Pediatrics* 109: 1-7.
- Bikker, P. Copper and zinc in diets of growing pigs.- New insights in requirements. Productschap Diervoeder, Themabijeenkomst "koper en Zink in de varkenshouderij", 8 mei 2012, Wageningen, Nederland.
- Black, R. 1998. Therapeutic and preventive effects of zinc on serious childhood infectious diseases in developing countries. *Am. J. Clin. Nutr.* 68 (suppl.): 476S-479S.
- Boyen, F., Vangroenweghe, F., Butaye, P., De Graef, E., Castryck, F., Heylen, P., Vanrobaeys, M., Haesebrouck, F. 2010. Disk prediffusion is a reliable method for testing colistin susceptibility in porcine *E. coli* strains. *Vet. Microbiol.* 144: 359-362.
- Callens, B., Persoons, D., Maes, D., Laanen, M., Postma, M., Boyen, F., Haesebrouck, F., Butaye, P., Catry, B., Dewulf, J. 2012. Prophylactic and metaphylactic antimicrobial use in Belgian fattening pig herds. *Prev. Vet. Med.* 106: 53-62.
- Cavaco, L.M., Hasman, H., Aarestrup, F.M. 2011. Zinc resistance of *Staphylococcus aureus* is strongly associated with methicillin resistance. *Vet. Mic.* 150: 344-348.
- Cavaco, L.M., Hasman, H., Stegger, M., Andersen, P.S., Skov, R., Fluit, A.C., Ito, T., Aarestrup, F.M. 2010. Cloning and occurrence of *czrC*, a gene conferring cadmium and zinc resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54: 3605-3608.
- de Jong, A., Thomas, V., Simjee, S., Godinho, K., Schiessl, B., Klein, U., Butty, P., Vallé, M., Marion, H., Shryock, T.R. 2012. Pan-European monitoring of susceptibility to human-use antimicrobial agents in enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. *J. Antimicrob. Chemother.* 67: 638-651.
- Derivaux, J., Liégeois, F. 1962. Vigot Frères, S^{té} A^{mé} Desoer (Editeurs). Toxicologie vétérinaire, Toxicologie spéciale (Deuxième partie), Chapitre I, Poisons inorganiques, E) Métaux et composés, Zinc: p. 156-160.
- Doménech, J., Prieto, A. 1986. Stability of zinc oxide particles in aqueous suspensions under UV illumination. *J. Phys. Chem.* 90: 1123-1126.
- Doppenberg, J., van der Aar, P. (Editors). 2010. Gut physiology in pigs around weaning: recent findings and implications for rearing practice. Dynamics in animal nutrition. Wageningen Academic Publishers, the Netherlands.
- Dourmad, J.Y., Jondreville, C. Improvement of balance of trace elements in pig farming systems. Pancosca Symposium, June 2007, Switzerland.

Durosoy, S., Vahjen, W., Zentek, J. Inhibitory action of analytical grade and of a new potentiated ZnO on the ex vivo growth of porcine small intestine bacteria. 4th European Symposium of Porcine Health Management, April 2012, Belgium.

European Food Safety Authority (EFSA) panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP). 2012. Scientific opinion on safety and efficacy of zinc compounds (E6) as feed additives for all animal species: zinc chelate of amino acids hydrate, based on a dossier submitted by Zinpro Animal Nutrition Inc. EFSA Journal 10: 2621.

Harada, K., Asai, T., Kojima, A., Oda, C., Ishihara, K., Takahashi, T. 2005. Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs in Japan. J. Vet. Med. Sci. 67: 999-1003.

Hardy, B., Mahlberg, J., Simonson, R.R. 2003. Effect of various trace minerals on the growth of *E. coli* K88 in vitro. In: Paterson, J.E. (Ed.), Manipulating Pig Production IX. Australasian Pig Science Association, Werribee, Victoria, Australia, p. 166.

Hoque, K.M., Rajendran, V.M., Binder, H.J. 2004. Zinc inhibits cAMP-stimulated CL secretion via basolateral K-channel blockade in rat ileum. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 288: G956-G963.

Højberg, O., Canibe, N., Poulsen, H.D., Hedemann, M.S., Jensen, B.B. 2005. Influence of dietary zinc oxide and copper sulphate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. Appl. Environ. Microbiol. 71: 2267-2277.

Huang, S.X., McFall, M., Cegielski, A.C., Kirkwood, R.N. 1999. Effect of dietary zinc supplementation on *Escherichia coli* septicaemia in weaned pigs. Swine Health Prod. 7: 109-111.

Jensen-Waern, M., Melin, L., Lindberg, R., Johannisson, A., Wallgren, P.P. 1998. Dietary zinc oxide in weaned pigs – effects on performance, tissue concentrations, morphology, neutrophil functions and faecal microflora. Res. Vet. Sci. 64: 225-231.

Jiang, W., Mashayekhi, H., Xing, B. 2009. Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. Environ. Pollut. 157: 1619-1625.

Kim, J.C., Hansen, C.F., Mullan, B.P., Pluske, J.R. 2012. Nutrition and pathology of weaner pigs: nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. Anim. Feed Sci. Technol. 173: 3-16.

Li, X.L., Dong, B., Li, D.F., Yin, J.D. 2010. Mechanisms involved in the growth promotion of weaned piglets by high-level zinc oxide. J. Anim. Sci. Biot. 1: 59-67.

Li, B.T., van Kessel, A.G., Caine, W.R., Huang, S.X., Kirkwood, R.N. 2001. Small intestinal morphology and bacterial populations in ileal digesta and faeces of newly weaned pigs receiving a high dietary level of zinc oxide. Can. J. Anim. Sci. 81: 511-516.

Liedtke, J., Vahjen, W. 2012. *In vitro* antibacterial activity of zinc oxide on a broad range of reference strains of intestinal origin. Vet. Microbiol. (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.05.013>.

- Liu, Y., He, L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z.Q., Lin, M. 2009. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. J. Appl. Microbiol. 107: 1193-1201.
- Lizardo, R, the Institute for Food Research and Technology, Spain. Interaction between high dosed ZnO and phytase. Expert talk Pig Progress, 2004.
- Martin, L., Pieper, R., Vahjen, W., Zentek, J. Influence of high level dietary zinc oxide on performance and small intestine gene expression in weaned piglets. XII International symposium on digestive physiology in pigs, May-June 2012, USA.
- Mavromichalis, I. The search for alternatives to zinc oxide. Pig Progress, February 2011.
- Mohamed, R.M., Abo-Amer, A.E. 2012. Isolation and characterization of heavy-metal resistant microbes from roadside soil and phylloplane. J. Basic Microbiol. 52: 53-65.
- Roselli, M., Finamore, A., Garaguso, I., Britti, M.S., Mengheri, E. 2003. Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by *Escherichia coli*. J. Nutr. 133: 4077-4082.
- Sandström, B. 2001. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. Br. J. Nutr. 85 Suppl. 2: S181-185.
- Starke, I., Vahjen, W., Zentek, J. Dietary zinc oxide leads to short and long term modification in the intestinal microbiota of piglets. XII International symposium on digestive physiology in pigs, May-June 2012, USA.
- Tam, K.H., Djurišić, A.B., Chan, C.M.N., Xi, Y.Y., Tse, C.W., Leung, Y.H., Chan, W.K., Leung, F.C.C., Au, D.W.T. 2008. Antibacterial activity of ZnO nanorods prepared by a hydrothermal method. Thin Solid Films 516: 6167-6174.
- Tayel, A.A., El-Tras, W.F., Moussa, S., El-Baz, A.F., Mahrous, H., Salem, M.F., Brimer, L. 2011. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. J. Food Safety 31: 211-218.
- Thati, V., Roy, A.S., Prasad, M.V.N.A., Shivannavar, S.T., Gaddad, S.M. 2010. Nanostructured zinc oxide enhances the activity of antibiotics against *S. aureus*. J. Biosci. Tech. 1: 64-69.
- Tjeenk Willink, S. H. D. uitgeverij, Alphen aan den Rijn, 1995. Veterinaire Hoofdinspectie van de volksgezondheid. Milieucontaminanten bij dierlijke productie in relatie tot de volksgezondheid.
- Yamamoto, O. 2001. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. Int. J. Inorg. Mater. 3: 643-646.
- Zhang, B., Guo, Y. 2009. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. Br. J. Nutr. 102: 687-693.

13. Samenstelling werkgroep

Dit rapport kwam tot stand in overleg tussen de verschillende leden van de werkgroep ZnO, de voorzitter van deze werkgroep, en de permanente staf van AMCRA. De Raad van Bestuur en Staf van AMCRA wensen de heer Martin Fockedeey, voorzitter van de werkgroep, en alle leden te bedanken voor hun medewerking en constructieve bijdragen.

Voorzitter

Martin Fockedeey (Voorzitter werkgroep ZnO): Dierenartsenpraktijk Vedanko BVBA, BU manager Varkensproductie, Kwaliteitsmanager

Leden

Josy Arendt: Dierenarts, Union Professionnelle Vétérinaire

Dirk Baute: Danis NV

Patrick De Backer: Universiteit Gent, Faculteit Diergeneeskunde, Vakgroep Farmacologie, Toxicologie en Biochemie, Vakgroepvoorzitter

Jeroen Dewulf: Universiteit Gent, Faculteit Diergeneeskunde, Vakgroep Verloskunde, Voortplanting en Bedrijfsdiergeneeskunde, Hoofddocent; Voorzitter Raad van Bestuur AMCRA

Frederik Dieryckxvisschers: Vanden Avenne (VDA) - Ooigem, Nutritionist-dierenarts

Kaat Goris: AVEVE Veevoeding en Boerenbond, Dierenarts-nutritionist

Erik Hoeven: Beroepsvereniging van de Mengvoederfabrikanten (BEMEFA), Technisch Wetenschappelijk Medewerker

Louis Istasse: Université de Liège

Dominiek Maes: Universiteit Gent, Faculteit Diergeneeskunde, Vakgroep Verloskunde, Voortplanting en Bedrijfsdiergeneeskunde, Hoogleraar

Ludo Segers: Orffa Belgium NV, directeur, namens de Federatie van Fabrikanten en Vertegenwoordigers van Toevoegingen voor Dierlijke Voeding, FRANA

Filip Timmerman: Dopharma, Verkoopsverantwoordelijke België

Peter Yde: Danis NV, Nutritionist

Experten die toelichting gaven i.v.m. wetgeving

Diederik Standaert: Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu DG Dier, Plant en Voeding, Celhoofd a.i. Dierenvoerders, GGO's en Tabak

Lionel Laurier: Federaal Agentschap voor Geneesmiddelen en Gezondheidsproducten

Permanente staf AMCRA

Evelyne De Graef, Coördinator

Isabelle Persoons, Administratief medewerkster

Addendum: literatuuroverzicht

Onderstaand een literatuuroverzicht met betrekking tot de invloed van het gebruik van ZnO op de productieparameters en de preventie van diarree bij biggen:

Maribo, H., Skovsted Koch, A. 2007. Eggs Tend 88 in weaner feed. Danish Pig Production, report 789.

Dit Deense rapport toont aan dat toevoeging van 2500 PPM zink aan het voeder van biggen tijdens de eerste 14 dagen na het spenen leidde tot betere productieresultaten (dagelijkse gewichtstoename en voederconversie 0-6 weken na het spenen), en een lager aantal behandelingen voor diarree (periode 0-6 weken na het spenen) dan een dieet zonder toevoeging van zink. Significante verschillen werden genoteerd voor de dagelijkse gewichtstoename en het aantal behandelingen voor diarree tijdens de volledige periode van de proef (0-6 weken na het spenen) tussen de groep die het dieet met zink ontving en de controlegroep. De meerderheid van de behandelingen vond plaats in de eerste twee weken na het spenen.

Maribo, H. 2009. Daka Porcine Plasma and zinc for weaners. Danish Pig Production, report 846.

Ook in dit rapport wordt aangetoond dat toevoeging van 2500 PPM Zn (uit ZnO) aan het dieet van biggen in de eerste 14 dagen na het spenen tot betere productiewaarden leidt dan bij verstrekking van voeder zonder ZnO. Een significant positief effect van toevoeging van ZnO op dagelijkse gewichtstoename en voederopname werd waargenomen vóór weging van de biggen op 10 dagen na het spenen, en op voederopname en voederconversie in de periode hierna, ongeacht of al dan niet bloedplasma aan het dieet met ZnO werd toegevoegd. In de eerste 10 dagen na het spenen werden bovendien significant meer biggen behandeld voor diarree in de controlegroep (geen toevoeging van zink of bloedplasma aan het dieet) dan in de groepen die een dieet ontvingen met 2500 PPM Zn (uit ZnO) en/of bloedplasma.

Han, Y., Thacker, P. 2009. Performance, nutrient digestibility and nutrient balance in weaned pigs fed diets supplemented with antibiotics or zinc oxide. J. Anim. Vet. Adv. 8: 868-875.

Y. Han en P. Thacker onderzochten of de gunstige effecten van ZnO toevoeging aan het voeder van gespeende biggen ook bereikt konden worden met farmacologische concentraties van Zn (uit ZnO) in het voeder lager dan 2000-4000 PPM. De proefopzet had tot doel om gewichtstoename, voederopname en voederconversie, verteerbaarheid van nutriënten en de zinkbalans van gespeende biggen te evalueren bij verstrekken van een basisdieet (1, 2 of 3) zonder toevoeging van ZnO of ABM (negatieve controle), een basisdieet met toevoeging van 33 ppm tiamuline en 100 PPM chloortetracycline (positieve controle), een basisdieet met 1500 PPM Zn (uit ZnO), en een basisdieet met 2500 PPM Zn (uit ZnO).

Resultaten experiment 1 (productiewaarden nl. gewichtstoename, voederopname en voederconversie):

Dag 0-14 (fase 1 - basisdieet 1 al dan niet met toevoeging van 1500 of 2500 PPM ZnO of ABM):

-geen verschil in gewichtstoename dieet met ZnO (1500 of 2500 PPM Zn) en dieet met ABM, ook geen verschil tussen de diëten met verschillende concentraties aan ZnO (1500 of 2500 PPM Zn), wel significant hogere gewichtstoename bij biggen die dieet met ZnO of ABM hadden ontvangen dan bij biggen uit controlegroep (basisdieet) ($p < 0.05$);

-geen significante verschillen in voederopname tussen de 4 groepen, maar laagste voederopname in controlegroep ($p = 0.12$);

-voederconversie controle (basisdieet) > 1500 PPM Zn (uit ZnO) > 2500 PPM Zn (uit ZnO) > ABM-dieet, verschil tussen controlegroep en elk van de andere 3 groepen is significant ($p < 0.05$), geen significante verschillen tussen andere 3 groepen

Dag 14-28 (fase 2 –basisdieet 2, al dan niet met toevoeging van 1500 of 2500 PPM Zn (uit ZnO) of ABM) en volledige proefperiode (dag 0-28):

-geen verschil in gewichtstoename en voederopname tussen de verschillende groepen;

-significant ($p < 0.05$) lagere voederconversie over de volledige periode (dag 0-28) bij biggen die ABM hadden gekregen in het voeder dan bij andere groepen, geen significante verschillen tussen controlegroep en biggen die 1500 of 2500 PPM zink hadden gekregen via het voeder

Resultaten experiment 2 (verteerbaarheid van nutriënten – faecale excretie patronen):

-over volledige proefperiode geen effect van ZnO of toevoeging van ABM op verteerbaarheid van droge stof, ruw eiwit, calcium, fosfor of energie;

-concentratie van zink in faeces significant hoger (zie Tabel) bij biggen die dieet ontvingen gesupplementeerd met ZnO dan bij biggen die dieet ontvingen met ABM of basisdieet;

-concentratie van zink in faeces van biggen die dieet ontvingen met 1500 PPM Zn (uit ZnO) slechts ongeveer de helft van de concentratie gevonden bij biggen die dieet ontvingen met 2500 PPM Zn (uit ZnO).

Voeder	Controle	ABM	1500 PPM Zn	2500 PPM Zn	SEM
zinkexcretie fase 1 (basisdieet 1* tot dag 10)					
Opname (mg/dag)	50 ^c	65 ^c	305 ^b	501 ^a	34
Faeces (mg/dag)	45 ^c	60 ^c	342 ^b	555 ^a	60
zinkexcretie fase 2 (basisdieet 2* tot dag 20)					
Opname (mg/dag)	143 ^c	154 ^c	426 ^b	745 ^a	58
Faeces (mg/dag)	143 ^c	126 ^c	365 ^b	676 ^a	73

Tabel: Effect van zinkconcentratie in het dieet op zinkexcretie in de faeces
*In het basisdieet zit 100 PPM Zn als ZnSO₄ (35.5% zink).

Verschillende letter-superscripts in de tabel geven aan dat de gemiddelden significant verschillend zijn ($p < 0.05$).

Uit de tabel blijkt dat in fase 1 de biggen die een dieet ontvingen gesupplementeerd met ZnO een negatieve zinkbalans vertonen. Dit is in analogie met de resultaten van Case en Carlson (2002). Deze auteurs vonden ook een correlatie tussen de faecale zinkconcentraties en de zinkconcentraties in het voeder: een 4 maal hogere zinkexcretie werd waargenomen bij varkens die 3000 PPM Zn ontvingen via het voeder dan bij varkens die 500 PPM Zn ontvingen. Hill et al. (2001) rapporteerden dat dieren die een voeder ontvingen met 2000 PPM Zn 14 maal meer zink uitscheidde via de faeces dan biggen die een voeder ontvingen met 150 PPM Zn.

Case, C.L., Carlson, M.S. 2002. Effect of feeding organic and inorganic sources of additional zinc on growth performance and zinc balance in nursery pigs. J. Anim. Sci. 80: 1917-1924.

Hill, G.M., Mahan, D.C., Carter, S.D., Cromwell, G.L., Ewan, R.C., Harrold, R.L., Lewis, A.J., Miller, P.S., Shurson, G.C., Veum, T.L., NCR-42 Committee on Swine Nutrition. 2001. Effect of pharmacological concentrations of zinc oxide with or without the inclusion of an antibacterial agent on nursery pig performance. J. Anim. Sci. 79: 934-941.

Resultaten experiment 3 (productiewaarden nl. gewichtstoename, voederopname en voederconversie):

Het experiment bestond uit drie fasen:

- 1) dag 0-7 (fase 1 - basisdieet 1 al dan niet met toevoeging van 1500 PPM Zn (uit ZnO) of ABM)
- 2) dag 7-21 (fase 2 - basisdieet 2 al dan niet met toevoeging van 1500 PPM Zn (uit ZnO) of ABM)
- 3) dag 21-28 (fase 3 - basisdieet 3 al dan niet met toevoeging van 1500 PPM Zn (uit ZnO) of ABM)

Bevindingen:

-significant hogere gewichtstoename bij biggen die dieet met 1500 PPM Zn (uit ZnO) of ABM hadden ontvangen dan bij biggen uit controlegroep (basisdieet) ($p < 0.05$), dit gold voor de drie fases afzonderlijk en voor de volledige duur van het experiment (dag 0-28);

-in geen enkele fase van het experiment was er een verschil in gewichtstoename tussen biggen die ABM of 1500 PPM Zn (uit ZnO) hadden ontvangen via het voeder;

-lagere voederopname in controlegroep dan in andere twee groepen (significante verschillen, behalve in fase 1: dag 0-7), geen verschil in voederopname tussen biggen die ABM- of ZnO-gesupplementeerd dieet ontvingen;

-dag 0-7 en volledige proefperiode: significant hogere voederconversie ($p < 0.05$) bij varkens die basisdieet ontvingen dan bij varkens die voeder ontvingen met 1500 PPM Zn (uit ZnO) of ABM;

-voederconversie ABM-groep en ZnO-groep in geen enkele fase significant verschillend

Besluit:

Uit deze studie kan afgeleid worden dat productieresultaten vrij gelijklopend zijn bij verschaffing van voeder met 2500 PPM Zn (uit ZnO) of 1500 PPM Zn (uit ZnO). Verschaffing van 1500 PPM Zn (uit ZnO) verlaagt de faecale excretie van zink en dus ook de milieubelasting (bij gebruik van varkensmest voor bemesting) drastisch in vgl. met de verschaffing van 2500 PPM Zn (uit ZnO). Het is dus mogelijk om het niveau van ZnO te verlagen zonder de productieresultaten te beïnvloeden in de negatieve zin. De productieresultaten bekomen met ZnO-gesupplementeerd voeder waren vergelijkbaar met deze bekomen bij verschaffing van ABM-gesupplementeerd voeder. Dit toont aan dat ZnO toevoeging aan het voeder van gespeende biggen een waardig alternatief kan zijn voor ABM in het voeder.

Hill, G.M., Mahan, D.C., Carter, S.D., Cromwell, G.L., Ewan, R.C., Harrold, R.L., Lewis, A.J., Miller, P.S., Shurson, G.C., Veum, T.L. 2001. Effect of pharmacological concentrations of zinc oxide with or without the inclusion of an antibacterial agent on nursery pig performance. J. Anim. Sci. 79: 934-941.

De bevindingen van Han en Thacker (2009) zijn analoog aan deze van Hill et al. (2001): deze laatste auteurs onderzochten de invloed van verschillende concentraties ZnO in het voeder (in de range van 0 tot 3000 mg Zn/kg) op de productieresultaten van biggen gedurende een periode van 28 dagen na het spenen. Hun bevinding was dat de positieve invloed op de productieresultaten van (zowel vroeg gespeende als later gespeende) biggen een plateau bereikt bij een zinkconcentratie in het voeder van 1500 tot 2000 mg Zn/kg.

De toenemende positieve invloed op voederopname, gewichtstoename, voederconversie naarmate de zinkconcentratie in het voeder groter was, was het meest opvallend bij vroeg-gespeende biggen (< 15 dagen), maar ook later gespeende biggen (> 20 dagen) hadden voordeel bij hoge ZnO concentraties in het voeder.

Wanneer naast ZnO ook het antibacteriële carbadox aan het voeder werd toegevoegd (experiment met biggen die gemiddeld op 19,7 dagen leeftijd gespeend werden), waren de productieresultaten in de 28 dagen-periode na het spenen nog beter dan bij supplementatie van enkel ZnO: er was dus sprake van een additief effect. Ook in dit experiment waren de productieresultaten beter naarmate de concentratie van ZnO in het voeder toenam.

Bosi, P., Meriardi, G., Sarli, G., Casini, L., Gremokolini, C., Preziosi, R., Brunetti, B., Trevisi, P. 2003. Effects of doses of ZnO or Zn-Glutamate on growth

performance, gut characteristics, health and immunity of early-weaned pigs orally challenged with *E. coli* K88. Ital. J. Anim. Sci. 2: 361-363.

In deze studie ontvingen gespeende biggen (21 d) verschillende voedersamenstellingen, met of zonder toevoeging van zink, gedurende een week. Verschillende doseringen van zink werden gebruikt (200 of 2500 mg/kg). Op dag 1 kregen de biggen oraal 1,5 ml van een 10^{10} kve/ml *E. coli* K88 suspensie toegediend.

Resultaat: supplementatie van het voeder met een hoge dosis zink (2500 mg/kg) gedurende een korte periode na het spenen leidt tot een reductie van de *E. coli* (totaal *E. coli* en *E. coli* K88) excretie via de faeces ($p < 0.05$), in vergelijking met andere voedersamenstellingen (geen zink of lage concentratie). Dit kan een indicatie zijn voor een beschermend effect van een hoge concentratie zink in het voeder ten opzichte van kolonisatie en infectie met *E. coli*.

Hoewel in de literatuur controversiële resultaten worden teruggevonden m.b.t. de eventuele reductie van diarree geassocieerd met het gebruik van zink, is er toch voldoende bewijs dat zinksupplementatie een beschermend effect uitoefent ten opzichte van pathogenen. Het voorkomen of verminderen van diarree bij biggen werd door verschillende auteurs (Huang et al., 1999; Jensen-Waern et al., 1998; Owusu-Asiedu et al., 2003) aangetoond. Gebruik van zink stabiliseert de intestinale microbiota: stabiele niveaus van diverse coliformen zorgen ervoor dat stammen die diarree veroorzaken minder gemakkelijk kunnen koloniseren en infectie veroorzaken (Katouli et al., 1999). Bovendien werd aangetoond dat zinksupplementatie de translocatie van pathogene bacteriën van de dunne darm naar de mesenteriale lymfeknopen reduceert (Huang et al., 1999). zink speelt ook een belangrijke rol bij het onderhouden van de epitheliale barrièrefunctie ter hoogte van de darmen (positief effect op hoogte van de villi in de dunne darm, ...) (M. Roselli et al., 2005).

M. Roselli en co-auteurs (2005) besluiten daarom in een overzichtsartikel dat ZnO een waardig alternatief kan zijn voor ABM in het voeder, en dat zelfs bij een gematigde concentratie een beschermend effect kan worden waargenomen. De goede *in vivo* resultaten bij gebruik van farmacologische concentraties van ZnO in Denemarken bevestigen dit: in Denemarken heeft gebruik van ZnO niet alleen geleid tot een vermindering van het gebruik van ABM in varkensvoeder, maar ook tot een reductie van de incidentie en ernst van (*E. coli*) diarree bij biggen (Holm, 1996).

Holm, A. 1996. Zinc oxide in treating *E. coli* diarrhea in pigs after weaning. Comp. Cont. Ed. Pract. Vet. 18: S26–S48.

Huang, S.X., McFall, M., Cegielski, A.C., Kirkwood, R.N. 1999. Effect of zinc supplementation on *Escherichia coli* septicemia in weaned pigs. Swine Health Prod. 7: 109–111.

Jensen-Waern, M., Melin, L., Lindberg, R., Johannisson, A., Petersson, L., Wallgren, P. 1998. Dietary zinc oxide in weaned pigs – effects on performance, tissue concentrations, morphology, neutrophil functions and faecal microflora. Res. Vet. Sci. 64: 225-231.

Katouli, M., Melin, L., Jensen-Waern, M., Wallgren, P., Möllby, R. 1999. The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs. J. Appl. Microbiol. 87: 564-573.

Owusu-Asiedu, A., Nyachoti, C.M., Marquardt, R.R. 2003. Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody, zinc oxide, fumaric acid, or antibiotic. J. Anim. Sci. 81: 1790-1798.

Roselli, M., Finamore, A., Britti, M.S., Bosi, P., Oswald, I., Mengheri, E. 2005. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results. *Anim. Res.* 54: 203-218.