



**WETENSCHAPPELIJK COMITÉ
VAN HET FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN**

ADVIES 19-2013

Betreft: Verantwoord gebruik van antibacteriële middelen bij groepsbehandeling van nutsdieren en het effect op resistentieselectie (dossier Sci Com 2012/10)

Advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 20 september 2013.

Samenvatting

Er is gevraagd aan het Wetenschappelijk Comité om advies uit te brengen over het verantwoord gebruik van antibacteriële middelen bij groepsbehandeling van nutsdieren en het effect hiervan op resistentieselectie.

Vooraleer 2 specifieke vragen te beantwoorden gaat het Wetenschappelijk Comité in op diverse aspecten van het gebruik van antibacteriële middelen en de resistentieselectie bij nutsdieren.

Uit de literatuur blijkt dat er een overweldigende hoeveelheid bewijsvoering bestaat dat het gebruik van antibacteriële middelen (antibiotica, chemotherapeutica) een krachtige druk uitoefent op het uitslecteren van resistentie bij bacteriën (commensale, zoönotische en pathogene bacteriën) en dit zowel in het individuele dier als op het niveau van de populatie. Er zijn evenwel geen wetenschappelijke publicaties gevonden die éénduidig het effect van individuele versus groepsbehandeling op resistentieselectie beschrijven zonder dat er eveneens verschillende toedieningswegen werden aangewend. Er zijn slechts een beperkt aantal studies beschikbaar die het effect van oraal versus parenteraal antibioticumgebruik op resistentieselectie testen. Deze studies bieden onvoldoende houvast om algemene conclusie te trekken. Hetgeen wel vast staat is dat beide toedieningswegen een effect hebben op de antibacteriële resistentieselectie dat bovendien lange tijd kan aanhouden in het dier en in het milieu.

De dosering (dosis en behandelingsinterval) en toedieningswijze van het antibacterieel middel beïnvloeden de weefselconcentraties en bijgevolg de mate van antibacteriële resistentieselectie, zowel bij de pathogenen waarvoor de behandeling

werd opgestart, als bij de commensale bacteriën. De in de bijsluiter aanbevolen dosissen blijken sterk te verschillen tussen fabrikanten. Ze werden bovendien bepaald in functie van de klinische genezing na behandeling en niet in functie van het voorkomen van resistentieselectie.

Groepsbehandelingen met antibacteriële middelen worden frequent toegepast bij nutsdieren (varkens, pluimvee, vleeskalveren). Dit kan zijn uit therapeutisch oogpunt ter behandeling van geïnfecteerde en klinisch zieke dieren, uit metafylactisch oogpunt ter behandeling van geïnfecteerde en zieke dieren en ter preventie van infectie bij de nog niet geïnfecteerde dieren van dezelfde groep en uit profylactisch oogpunt tijdens strategische momenten in de productiecycclus ter preventie van infectie.

Verskillende vormen van groepsbehandeling kunnen worden toegepast: lokale groepsbehandeling (vb. intra-mammaire droogzettherapie bij melkvee), parenterale groepsbehandeling (vb. injectie van geneesmiddelen bij zuigende biggen en kalveren) en orale groepsbehandeling hetzij via het voeder, hetzij via het drinkwater of de kunstmelk.

De intra-mammaire droogzettherapie is een bijzonder vorm van groepsbehandeling aangezien niet alle dieren gelijktijdig behandeld worden maar wel in functie van de evolutie van de lactatieperiode. Bij het droogzetten wordt gebruik gemaakt van langwerkende antibiotica met als doel subklinische infecties te behandelen tijdens de droogstand en nieuwe infecties te voorkomen. De selectiedruk op antibacteriële resistentie is beperkt tot de bacteriële flora van de uier.

Behalve voor zuigende biggen en kalveren worden parenterale groepsbehandelingen relatief weinig toegepast bij nutsdieren omwille van het arbeidsintensief karakter. Langs deze toedieningsweg is het, in tegenstelling tot de toediening via het voeder, wel mogelijk de dosis en behandelingsduur nauwgezet te bepalen. Het beperken van de behandelingsduur beperkt tevens de periode tijdens dewelke een resistentieselectiedruk wordt uitgevoerd op de bacteriële flora.

De grote meerderheid van de groepsbehandelingen wordt via het voeder of het drinkwater toegediend. De antibacteriële producten oefenen in de eerste plaats hun werking uit op de bacteriële flora in het spijsverteringsstelsel en worden in variërende mate opgenomen in de bloedbaan. De mate van biologische beschikbaarheid wordt sterk bepaald door het type molecule en de formulering en kan variëren van zo goed als geen absorptie tot relatief hoge absorptiepercentages. Er bestaat eveneens grote individuele variatie in absorptie tussen dieren voor dezelfde molecule.

Toediening van antibacteriële middelen via het voeder is vanuit arbeid technisch, en logistiek oogpunt een zeer eenvoudige manier van groepsbehandeling van nutsdieren (waardoor ook heel laagdrempelig) die evenwel verschillende praktische nadelen heeft zoals de weinig betrouwbare effectieve dosering bij zieke dieren, problematiek van versleping van antibacteriële middelen en hun ontmenging in het voeder, de vaststelling dat gewoonlijk grote groepen dieren aangesloten zijn op dezelfde voederlijn, de neiging tot overconsumptie van antibiotica omwille van het

laagdrempelig karakter van de toedieningswijze en het overschrijden van de strikt noodzakelijke therapieduur als gevolg van de inflexibele start en stop van behandeling, ... waardoor resistentieselectie in de hand wordt gewerkt. Daarnaast is er ook nog het risico van de blootstelling van mens en dier aan residuen van antibacteriële middelen in het stalstof afkomstig van gemedicineerde voeders.

Groepsbehandeling via drinkwater of kunstmelk laat een flexibele manier van toediening van antibacteriële middelen toe aan selectieve groepen van dieren gedurende een door de dierenarts te bepalen periode. Het toepassen van een correcte dosering vereist een degelijke kennis van de oplosbaarheid van de antibacteriële middelen, van de drinkwateropname door de dieren, een geschikte waterkwaliteit en een goede technische instelling van de doseersystemen (en controle hierop) en van de drinkwatertoevoer naar de dieren.

Bij varkens worden groepsbehandelingen frequent toegepast; langs parenterale weg bij zuigende biggen en langs het voeder of het drinkwater bij biggen na het spenen. Zowel onderdosering als overdosering werden vastgesteld. Er is een grote variatie in behandelingsincidentie tussen bedrijven. Bij pluimvee worden antibiotica vrijwel uitsluitend via groepsbehandeling aangewend en bijna steeds via het drinkwater. De gemiddelde behandelingsincidentie is hoog. Ook bij pluimvee bestaat een grote variatie in antibioticumgebruik tussen bedrijven. Bij vleeskalveren worden de meeste groepsbehandelingen oraal toegediend. De gemiddelde behandelingsincidentie is zeer hoog. Ook bij vleeskalveren bestaat er een variatie in behandelingsincidentie tussen bedrijven doch deze is minder hoog dan bij varkens en pluimvee. Over het antibioticumverbruik bij konijnen in ons land bestaan weinig gegevens. In Frankrijk gebeurt een overschakeling van groepsbehandeling met gemedicineerd voeder naar toediening van antibiotica via het drinkwater. Aquacultuur wordt slechts op een geringe schaal uitgevoerd in ons land. Op wereldvlak is aquacultuur echter een belangrijke agro-industriële activiteit. Het gebruik van antibacteriële middelen varieert sterk van land tot land. Antibacteriële middelen worden voornamelijk via het voer toegediend. Contaminatie van het sediment en het leefmilieu met antibacteriële middelen is een belangrijk aandachtspunt teneinde de resistentieselectiedruk te beheersen.

Sommige biociden kunnen volgens gelijkaardige werkingsmechanismen als antibiotica de selectie van antibacteriële resistentie in de hand werken en kunnen bijgevolg bijdragen tot de selectie van antibioticumresistentie. Het belang hiervan in het veld is echter nog onduidelijk.

Na deze omstandige inleiding formuleert het Wetenschappelijk Comité een antwoord op de volgende vragen.

Vraag 1:

Uitgaande van het feit dat bij groepsbehandeling (van varkens, kalveren, pluimvee, konijnen of vissen) met antibacteriële middelen een doeltreffende bestrijding van infectieuze ziekten wordt nagestreefd, wat is dan de impact op de resistentieselectie?

Iedere behandeling met antibacteriële middelen zorgt voor een selectiedruk op de resistentiegenen van pathogene en / of commensale bacteriën. Bij groepsbehandeling is dit fenomeen nog meer uitgesproken dan bij individuele behandeling omdat de selectiedruk op alle dieren gelijktijdig wordt uitgeoefend waardoor mag verwacht worden dat dit zich vertaalt in een meer uitgebreide resistentieselectie. Bovendien wordt opgemerkt dat strategische profylactische groepsbehandelingen in strijd zijn met het 'voorzichtig gebruik' van antibacteriële middelen, hetgeen een hoeksteen is ter beperking van de selectie van resistentie.

Wat betreft de toedieningsweg is het, omwille van de beperktheid van de beschikbare informatie, moeilijk te bepalen welke te verkiezen is in functie van de minste resistentieselectie. Voor wat betreft de orale en parenterale groepsbehandeling besluit het Wetenschappelijk Comité dat beide toedieningswegen een resistentieselectiedruk uitoefenen die proportioneel is aan het aantal dieren dat blootgesteld is. Deze selectiedruk kan bovendien lange tijd aanhouden in het dier en in het milieu.

Uit bovenstaande blijkt dat geen enkele antibacteriële groepsbehandeling kan worden toegediend zonder dat er een resistentieselectiedruk optreedt. Bijgevolg is volgens het Wetenschappelijk Comité de beste manier om de resistentieselectie in de populatie tegen te gaan de mate van gebruik aan antibacteriële middelen te doen dalen.

Vraag 2:

Met welke risicofactoren voor resistentieselectie moet rekening worden gehouden bij groepsbehandeling met antibacteriële middelen?

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat de risicofactoren voor resistentieselectie voornamelijk verband houden met de keuze en het gebruik van de antibacteriële middelen, met hun farmacologische eigenschappen en met de arbeidstechnische omstandigheden van bepaalde toedieningswegen waardoor de drempel voor toepassing van groepsbehandeling bijzonder laag is.

Er werd een rangschikking opgemaakt van de verschillende groepsbehandelingen op basis van hun direct of indirect (gemiddelde groeps grootte van de behandelde groep en duur van de behandeling) effect op resistentieselectie. Het geringste effect geldt voor lokale behandeling. Daarna volgt in stijgende lijn de parenterale behandeling, de orale behandeling via drinkwater of kunstmelk, de orale behandeling via gemedicineerd voeder ingemengd op het veebedrijf via mobiele doseersystemen en tenslotte de groepsbehandeling via gemedicineerd voeder ingemengd in het mengvoederbedrijf. Het gebrek aan flexibiliteit bij deze laatste vorm is een belangrijk minpunt.

Het Wetenschappelijk Comité besluit dat gezien de vele nadelen van orale groepsbehandeling via het voeder en de grote inflexibiliteit en laagdrempeligheid van

het gebruik van gemedicineerde voeders (aangemaakt in het mengvoederbedrijf) dat deze vorm van groepsbehandeling bij voorkeur niet meer wordt toegepast.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om als algemene regel zoveel mogelijk groepsbehandeling te vermijden en in te zetten op dierenziektepreventie.

Summary

Advice 19-2013 of the Scientific Committee of the FASFC on responsible use of antibacterial substances via group treatment of livestock and the effect on the selection of resistance.

The Scientific Committee has been asked to give advice on the responsible use of antibacterial substances administered via group treatment of livestock and the impact there-off on resistance selection.

Before answering two specific questions, the Scientific Committee elucidates the various aspects of the use of antibacterial substances and resistance selection in livestock.

The literature shows that there is an overwhelming amount of evidence that the use of antibacterial substances (antibiotics and chemotherapeutics) provoke a powerful pressure on the selection of resistance in bacteria (commensal, zoonotic and pathogenic bacteria), both in the individual animal and at the level of the population. However, no scientific publications were found which unambiguously describe the effect of individual versus group treatment on resistance selection without also using different routes of administration. There are only a limited number of studies available that test the effect of oral versus parenteral antibiotic treatment on selection of resistance. These studies provide insufficient basis to draw general conclusions. What is certain is that both routes of administration have an effect on the selection of antibacterial resistance which may also persist for a long time in the animal and in the environment.

The dosage (dose and treatment interval) and mode of administration of the antibacterial agent affect the tissue concentrations and, consequently, the degree of selection of anti-bacterial resistance in both the pathogens, for which the treatment was started, as in the commensal bacteria. The recommended doses in the leaflet appear to differ heavily between manufacturers. They were also determined in function of the clinical cure after treatment, and not in terms of the occurrence of resistance selection.

Group treatment with antibacterial substances are frequently used in livestock (pigs, poultry, veal calves). This may be with a therapeutic objective, for the treatment of infected and clinically sick animals, with a metaphylactical objective for the treatment of infected and diseased animals and for the prevention of infection in the not yet infected animals of the same group or with a prophylactic point of view during strategic moments during the production cycle to prevent infection.

Various forms of group treatment can be applied: local group treatment (e.g. intra-mammary dry-off therapy in dairy cattle), parenteral group treatment (e.g. injection of drugs in suckling piglets and calves) and oral group treatment either through feed or through drinking water or milk replacer.

The intra-mammary dry-off therapy is a special form of group treatment since not all animals are treated simultaneously but according the evolution of the lactation period. Dry-off therapy uses long-acting antibiotics in order to treat subclinical infections and to prevent new infections from occurring. The selection pressure on resistance is limited to the bacterial flora of the udder.

Except for sucking piglets and calves parenteral group treatment is relatively little used in livestock due to its labor intensive nature. However, this route of administration enables, in contrast to feed medication, to meticulously determine the dose and duration of treatment. Limiting the duration of treatment also reduces the period during which a pressure on resistance selection is executed on the bacterial flora.

The large majority of the group treatments are administered via feed or drinking water. The antibacterial substances exert, in the first place, their action on the bacterial flora in the digestive system and are in varying degrees absorbed into the bloodstream. The bioavailability is strongly influenced by the type of molecule and the formulation and can range from almost no absorption to relatively high absorption rates. There is also wide variation in absorption of the same molecule between animals.

Administration of antibacterial substances via the feed is from labor technical and logistical point of view a very simple way of group treatment of livestock (and thus very easy applicable) which, however, has several practical disadvantages such as the unreliable effective dosage of sick animals, the issue of cross-contamination of antibacterial substances and their segregation in the feed, the fact that usually large numbers of animals are connect to the same feed line, the tendency for overconsumption of antibiotics because of the low threshold of the route of administration and exceeding of the minimum necessary duration of therapy due to the inflexible start and stop moment of the treatment, which promotes the selection of resistance. Besides this there is also the risk of exposure of humans and animals to antibacterial residues in the stable dust originating from medicated feed.

Group treatment through drinking water or milk replacer allows for a more flexible administration of antibacterial substances to selective groups of animals for a period determined by the veterinarian. Applying the correct dosage requires a thorough knowledge of the solubility of the antibacterial substances, the water uptake by the animals, a suitable water quality and good technical adjustment of the dosing (and their control) and the water supply system.

In pigs group treatments are frequently applied; through parenteral route in suckling piglets and through the feed or drinking water in piglets after weaning. Both underdosing as overdosing have been observed. There is a large variation in treatment incidence between farms. In poultry, antibiotics are almost exclusively used by group treatment and almost always via the drinking water. The average treatment incidence is high. Also in poultry a large variation in antibiotic use is observed between farms. In veal calves most group treatments are administered orally. The average treatment incidence is very high. Also in veal calves, there is a variation in treatment incidence between farms but this incidence is lower than in pigs and poultry. Little is known about the antibiotic use in rabbits in our country. In France a switch is made from group treatment with medicated feed to administration of antibiotics via the drinking water. Aquaculture is performed only on a small scale in our country. However, globally aquaculture is an important agro-industrial activity. The use of antibacterial substances varies greatly from country to country. Antibacterial drugs are mainly administered through the feed. Contamination of the sediment and the environment with antibacterial substances is an important issue in order to control the pressure on the selection of resistance.

Some biocides may contribute, according to similar mechanisms of antibiotics, to the selection of antibiotic resistance. However, their importance in the field is still unclear.

After this detailed introduction the Scientific Committee formulates an answer to the following questions.

Question 1:

Based on the fact that in group treatment (of pigs, calves, poultry, rabbits or fish) with antibacterial substances an effective control of infectious diseases is pursued, what is the impact on the selection of resistance?

Each treatment with antibacterial substances creates a selection pressure on the resistance of pathogenic and / or commensal bacteria. In group treatment, this phenomenon is even more pronounced than in individual treatment because the selection pressure is exerted on all animals simultaneously, whereby it may be expected that this translates into a more comprehensive resistance selection. Moreover it should be noted that strategic prophylactic group treatments are contrary to the 'prudent use' of antibacterial substances, which is a keystone to limit the selection of resistance.

Regarding the treatment route, it is difficult to determine which one is preferable in terms of the least selection of resistance because of the limited amount of available information. With regard to oral and parenteral group treatment the Scientific Committee concludes that both routes of administration exert pressure on the selection of resistance proportionally to the number of animals exposed. This selection pressure may also persist for a long time in the animal and in the environment.

From the above it appears that no antibacterial group therapy can be given without the occurrence of pressure on the selection of resistance. Consequently, the Scientific Committee is of the opinion that the best way to counter the selection of resistance in the population is to lower the usage of antibacterial substances.

Question 2:

Which risk factors for resistance selection must be considered in group treatment with antibacterial substances?

The Scientific Committee is of the opinion that the risk factors for resistance selection are mainly related to the choice and use of antibacterial substances, with their pharmacological properties and with the technical labor conditions of certain routes of group treatment whereby the threshold for their application is particularly low.

A ranking is made of the different group treatments based on their direct or indirect (through number of animals exposed and duration of exposure) effect on resistance selection. The slightest effect applies to local treatment. Followed in increasing order by parenteral treatment, by oral treatment through drinking water or milk replacer, by the oral treatment using medicated feed mixed on the farm through a mobile dosing system and finally by group treatment via medicated feed mixed into the compound feed company. The lack of flexibility in the latter form is a major flaw.

The Scientific Committee concludes that given the many disadvantages of oral group treatment through feed, the great inflexibility and approachability of the use of medicated feed (mixed in the compound feed company) this form of group treatment should preferably no longer be applied.

As a general rule the Scientific Committee recommends to avoid as much as possible group treatment and to invest in animal disease prevention.

Sleutelwoorden

Antibacteriële middelen, antibiotica, resistentie, groepsbehandeling, productiedieren

1. Referentietermen

Resistentie van bacteriën tegen antibacteriële middelen betekent een reële dreiging voor zowel de volksgezondheid als de diergezondheid. Het gebruik van antibacteriële middelen zowel bij mens als dier geeft aanleiding tot selectie van resistente kiemen bij de behandelde patiënt of bij het dier. Zowel via direct of indirect contact met dieren als via de voedselketen is er overdracht van resistentie mogelijk van bacteriën afkomstig van dieren naar bacteriën die voorkomen bij de mens. Om nutsdieren zo doeltreffend mogelijk te kunnen behandelen en tegelijkertijd de kans op resistentievorming zo laag mogelijk te houden wordt de vraag gesteld naar de meest efficiënte toedieningsvorm (combinatie van werking en gemak van toediening) van diergeneesmiddelen in het algemeen en meer specifiek van antibacteriële middelen.

1.1. Vraagstelling

Na overleg met de adviesaanvrager werden de volgende vragen geformuleerd.

Vraag 1

Uitgaande van het feit dat bij groepsbehandeling (van varkens, kalveren, pluimvee, konijnen of vissen) met antibacteriële middelen een doeltreffende bestrijding van infectieuze ziekten wordt nagestreefd, wat is dan de impact op de resistentieselectie? Hierbij worden alle toedieningswijzen van antibacteriële middelen bij groepsbehandeling in beschouwing genomen.

Het advies heeft geen betrekking op het gebruik van zinkoxide dat recent een tijdelijke vergunning heeft gekregen als geneesmiddel. Voor meer informatie over het gebruik van zinkoxide ter preventie van speendiarree bij biggen wordt verwezen naar de adviezen uitgebracht door het AMCRA (Kenniscentrum Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals) in 2012 en door ANSES in 2013. Over het effect van het gebruik van zinkoxide onder veldsituaties op antibacteriële resistentieselectie zijn nog weinig betrouwbare studies voorhanden.

Vraag 2

Met welke risicofactoren voor resistentieselectie moet rekening worden gehouden bij groepsbehandeling met antibacteriële middelen?

1.2. Wettelijke context

Er is momenteel geen specifieke regelgeving over het verantwoord gebruik van antibiotica en over de vermindering van de antibioticumresistentie. Er zijn echter wel 'EU Council conclusions' (2012) en aanbevelingen van EFSA en OIE die de lidstaten ertoe aanzetten om acties te ondernemen.

1.3. Definities

De volgende definities worden gebruikt in dit advies:

Antimicrobiële middelen: het geheel van antibacteriële, anti-mycotische, anti-parasitaire en antivirale middelen.

Antibacteriële middelen: het geheel van antibiotica, chemotherapeutica en antiseptica (biociden).

Groepsbehandeling: profylactische, metafylactische of therapeutische toediening van diergeneesmiddelen aan een koppel dieren, hetzij langs parenterale weg, hetzij langs orale weg (drinkwater of voeder).

Orale behandeling: orale toediening van een diergeneesmiddel via het voeder, het drinkwater of de kunstmelk.

Parenterale behandeling: toediening van een diergeneesmiddel door injectie (subcutaan, trans-dermaal, intra-musculair, intra-veneus of intra-peritoneaal) of via infuus waarbij een systemische werking wordt beoogd.

Lokale behandeling: toediening van een diergeneesmiddel via de huid, via de tepels (intra-mammair), intra-oculair, intra-auriculair, intra-uterien of intra-articulair waarbij een lokale werking wordt beoogd.

Profylactische behandeling: Antibacteriële behandeling van een groep dieren op strategische momenten in de productiecyclus (bv. biggen na spenen, kalveren bij opzet) met het oog op het voorkomen van een infectie die zou kunnen resulteren in zieke dieren en/of productie dalingen.

Metafylactische behandeling: Antibacteriële behandeling van een groep dieren waarin een deel van de dieren geïnfecteerd en klinisch ziek is en dit ter behandeling van de geïnfecteerde dieren (al dan niet klinisch ziek) alsook ter preventie van de verspreiding van de infectie naar de nog niet geïnfecteerde dieren.

Therapeutische behandeling: Antibacteriële behandeling van een dier of een groep dieren die geïnfecteerd zijn en klinische symptomen vertonen.

Resistentie: intrinsieke of verworven ongevoeligheid van bacteriën ten opzichte van antibacteriële middelen. In het verdere document zal bij het gebruik van de term resistentie steeds verwezen worden naar de verworven resistentie. Er bestaat geen eenvoudige definitie die resistentie tegen antibacteriële middelen in alle omstandigheden correct kan omschrijven. Daarom is men genoodzaakt om meerdere criteria te gebruiken om een bepaalde bacterie als resistent of gevoelig aan te duiden. Deze zijn het microbiologisch of epidemiologisch criterium, het genetisch criterium, het farmacologisch criterium en het klinisch criterium. Dit houdt in dat bepaalde bacteriële stammen gevoelig kunnen zijn volgens één criterium, maar resistent volgens een ander, de verschillende definities worden verder in het document uitgewerkt.

Resistentieselectie: het uitselecteren van resistente bacteriën (zowel bij commensale, zoönotische als pathogene bacteriën) als gevolg van blootstelling aan antibacteriële middelen.

Productiedieren: varkens, pluimvee, herkauwers, konijnen, vissen, ... die in groep worden gehouden voor de productie van producten van dierlijke oorsprong.

Kruisresistentie: wanneer bacteriën resistentie vertonen tegenover meerdere antibacteriële middelen via eenzelfde resistentiemechanisme.

Multipele resistentie: wanneer bacteriën resistent zijn tegenover verschillende antibacteriële middelen waartussen geen kruisresistentie bestaat en dit door middel van onafhankelijke resistentiemechanismen.

MIC: de minimale inhibitorische concentratie. Dit is de laagste concentratie van een antibacterieel middel die onder welbepaalde in vitro condities de groei van een bepaalde bacteriële stam verhindert. Dit is de "eenheid" waarin antibacteriële gevoeligheid/resistentie wordt uitgedrukt.

MPC: de 'mutant prevention concentration'. Dit is de laagste concentratie van een antibacterieel middel die onder welbepaalde in vitro condities de selectie van resistente stammen (door middel van éénstapsmutaties) voorkomt. Met andere woorden, wanneer de concentratie van het antibacterieel middel tijdens de behandeling boven de MPC blijft, zal de kans op selectie van resistente stammen zeer laag zijn.

MSC: de minimale selectieve concentratie. Dit is de laagste concentratie die onder welbepaalde in vitro condities nog selectie van resistente stammen induceert. In verschillende artikels wordt de MSC gelijkgesteld aan de MIC waarde van de stam, alhoewel aangetoond werd dat ook concentraties (ver) onder de MIC waarde nog een bepaalde selectiedruk kunnen veroorzaken (Gullberg et al., 2011).

MSW: de 'mutant selection window'. Dit is een range van concentraties van een antibacterieel middel. Stammen die aan een concentratie van het antibacterieel middel worden blootgesteld die binnen deze range valt, ondervinden een resistentieselectiedruk. Deze range wordt aan de bovenlimiet begrensd door de MPC en aan de onderlimiet door de MIC, of bij uitbreiding de MSC.

De begrippen MPC, en bijgevolg ook MSW, worden voornamelijk gebruikt voor "bacterie-antibacterieel middel" combinaties waarbij het optreden van puntmutaties het belangrijkste mechanisme van resistentie vormt. De meeste van dergelijke studies handelen dan ook over de fluoroquinolones.

MRL: 'maximum residu level' is de maximale concentratie van een antibacterieel middel en of zijn metabolieten dat nog aanwezig mag zijn in de doelweefsels (spier, vet, lever, nier, eieren, melk, honing) op het moment dat deze in de voedselketen komen.

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergadering van 10 april 2012, 8 april 2013 en 13 juni 2013 en de plenaire zittingen van 28 juni en 20 september 2013 ;

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende advies :

2. Inleiding

In dit advies wordt het gebruik van antibacteriële middelen bij nutsdieren in zijn algemeenheid benaderd in functie van de gestelde vragen met betrekking tot de relatie met de resistentieselectie.

Voor meer specifieke aanbevelingen naar de keuze van antibacteriële middelen wordt verwezen naar de gidsen voor verantwoord gebruik van antibiotica uitgebracht door het AMCRA. Deze hebben als doel diersoortspecifieke informatie en aanbevelingen voor behandelingen in functie van de aandoening bij varkens en runderen aan te reiken aan de dierenarts. Hierin zijn de antibacteriële middelen geklasseerd volgens 1^{ste}, 2^{de} of 3^{de} keuze op basis van wetenschappelijke onderbouwing (literatuurgegevens) en rekening houdend met o.a. antibacteriële gevoeligheidsgegevens, farmacokinetiek en -dynamiek, effectiviteit, kliniek van de dieren. Verder werd aan iedere molecule een kleur- en lettercode toegekend, gebaseerd op het belang van de molecule voor volks- en diergezondheid, volgens de gepubliceerde lijsten van respectievelijk de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO, 2011) en de 'Office Internationale d'Epizooties' (OIE, 2007).

2.1. Resistentie tegen antibacteriële middelen

Voor een wetenschappelijk overzicht van de resistentiemechanismen tegen antibacteriële middelen wordt verwezen naar Muylaert en Mainil (2013).

Over het algemeen kunnen 2 types van antibacteriële resistentie worden onderscheiden:

- 1) **de intrinsieke of natuurlijke resistentie tegen antibacteriële middelen.** Dit is een natuurlijk fenomeen bij alle leden van een betreffende bacteriënsoort gebaseerd op de afwezigheid of onbereikbaarheid van een aantal doelwitten van het antibacterieel middel of de synthese van antibioticuminactiverende enzymen (vb. : *Mycoplasma spp* (afwezigheid van celwand) is intrinsiek resistent tegen antibacteriële middelen die inwerken op de celwand synthese; *Bordetella bronchiseptica* is intrinsiek resistent tegen penicilline wegens aanwezigheid van een beta-lactamase enzyme). Deze species specifieke resistentie is niet gebonden aan een vroegere blootstelling aan antibacteriële middelen.
- 2) **de verworven resistentie tegen antibacteriële middelen.** Dit is een resistentie die niet natuurlijk aanwezig is bij de betreffende bacteriënsoort en

waarvoor geselecteerd wordt door blootstelling aan antibacteriële middelen. De antibacteriële resistentie is verworven via mutatie of via horizontale gentransfer. Horizontale gentransfer tussen bacteriën gebeurt via drie verschillende mechanismen: conjugatie, transformatie en transductie (zie kader).

Conjugatie is de transfer van mobiele genetische elementen (plasmiden, conjugatieve transposons, genomische eilanden,...) tussen levende bacteriële cellen en vereist nauw contact tussen donor- en recipiëntcel. Conjugatie gebeurt in vergelijking met transformatie en transductie met een hogere frequentie en naar het breedste spectrum aan bacteriële species.

Transductie gebeurt via vasthechten van een specifieke bacteriofaag aan een bacterie waarbij genetisch materiaal wordt overgedragen dat mogelijk bacterieel DNA van zijn vorige gastheer met eventueel antibioticumresistentie genen bevat. Transductie treedt over het algemeen op tussen nauw verwante bacteriële stammen.

Bij **transformatie** worden naakte DNA-fragmenten vanuit de omgeving, die bv. antibioticumresistentie genen bevat, opgenomen in bacteriële cellen.

De begrippen gevoeligheid en resistentie tegen antibacteriële middelen zijn niet zo gemakkelijk éénduidig te definiëren in alle omstandigheden. Om deze reden is men genooddaakt om meerdere criteria te gebruiken om een bepaalde bacterie als resistent of gevoelig aan te duiden. Deze zijn het microbiologisch of epidemiologisch criterium, het genetisch criterium, het farmacologisch criterium en het klinisch criterium. Dit houdt in dat bepaalde bacteriële stammen gevoelig kunnen zijn volgens één criterium, maar resistent volgens een ander (Boyen et al., 2012).

a) Het microbiologisch of epidemiologisch criterium

Volgens het microbiologisch criterium wordt een bacteriestam als resistent aanzien wanneer ze minder gevoelig is voor een bepaald antibacterieel middel (dit wil zeggen een hogere MIC-waarde vertoont) dan de populatie bacteriën die de normale gevoeligheid vertonen ("wild-type" populatie). Het onderscheid tussen de "wild-type" populatie en de "niet wild-type" populatie wordt gemaakt aan de hand van een breekpunt dat de 2 populaties van elkaar onderscheidt; de wild type cut-off.

b) Het genetisch criterium

Op basis van het genetisch criterium zal een bacteriestam als resistent worden aanzien wanneer genen aangetoond zijn die coderen voor resistentie of wanneer er bepaalde mutaties aanwezig zijn die geassocieerd worden met verworven resistentie.

c) Het farmacologisch criterium

Op basis van het farmacologisch criterium zal een bacteriestam als resistent worden aanzien indien de MIC waarde van een bepaald antibacterieel middel hoger ligt dan

de bloed- of weefselspiegels die kunnen bereikt worden via de voorgeschreven dosering.

d) Het klinisch criterium

Op basis van het klinisch criterium wordt een bacteriestam als resistent aanzien als er geen klinische genezing optreedt na een behandeling met de aanbevolen dosis van het antibacterieel middel. Het klinisch criterium is enerzijds van groter belang voor de diergeneeskundige praktijk dan de andere criteria, maar is anderzijds moeilijk exact te bepalen daar er steeds allerhande andere factoren het succes van de genezing zullen beïnvloeden, zoals b.v. de beschikbaarheid van het antibacterieel middel ter hoogte van de infectiehaard, de graad van infectie, de immuniteitsstatus van het dier, ... Klinische gevoelige kiemen worden van klinische resistente kiemen gescheiden door een klinisch breekpunt.

De epidemiologie van resistentie tegen antibacteriële middelen kan grofweg onderverdeeld worden in 4 stadia. In eerste instantie is er de ontwikkeling van de resistentie (b.v. door mutatie) waarna vervolgens onder invloed van een selectiedruk resistente bacteriën uitgeselecteerd worden en er verspreiding van de resistentie kan optreden. Deze resistente bacteriën kunnen dan persisteren in een populatie, soms ook na het wegvallen van de selectiedruk, of terug reverseren naar gevoelige bacteriën.

Hieronder worden de verschillende stappen kort besproken:

1. De determinanten voor resistentie bestonden reeds voor de ontdekking en het gebruik van antibiotica. Het zijn kenmerken die inherent voorkomen in bepaalde bacteriesoorten die kunnen teruggevonden worden in diverse ecosystemen. De selectie van resistentie is bijgevolg een natuurlijk fenomeen dat ook optreedt zonder gebruik van antibacteriële middelen (D'costa et al., 2011), maar gestimuleerd wordt door het gebruik van antibacteriële middelen.

2. Antibacteriële middelen zijn krachtige middelen die de selectie van resistente bacteriën in de hand werken. De interactie tussen de bacteriële populatie en het antibioticum varieert naargelang de antibioticumconcentratie en de samenstelling van de bacteriële populatie. In een eerste fase worden de reeds aanwezige resistente bacteriën uitgeselecteerd. Vervolgens is het zeer waarschijnlijk dat de overlevende gevoelige bacteriënpopulatie één of meerdere resistentiegenen opnemen via horizontale gentransfer of via mutatie. Ook in lage concentraties gaan antibiotica bijdragen tot het behoud van en het verhogen van de antibioticaresistentie (Gulberg et al., 2011; van der Horst et al., 2011).

Antibiotica kunnen bijgevolg de samenstelling en het evenwicht (gevoelig/resistent) van een gemengde bacteriële populatie wijzigen (Acar en Moulin, 2012). Resistentieselectie is het gradueel vermogen van microorganismen om zich aan te passen aan een selectiedruk vanwege

antibacteriële middelen. Resistentieselectie maakt deel uit van het evolutieproces van het microbiële leven.

3. De kenmerken van resistentie kunnen ook na het wegvallen van een selectiedruk persisteren en stabiel aanwezig blijven in resistente bacteriële populaties. In het verleden was men van mening dat het opnemen van resistentiegenen gepaard ging met een fitheidsverlies waardoor deze bacteriën hun stabiliteit zouden verliezen. Er is evenwel aangetoond dat resistente bacteriën kunnen persisteren in afwezigheid van antibiotica (Andersson and Hughes, 2011). Eens een bepaald niveau van resistentie is uitgeselecteerd kan deze vaak persisteren in de bacteriënpopulatie o.a. wegens de resistentiegenen die zich op zeer stabiele genetische constructies bevinden.

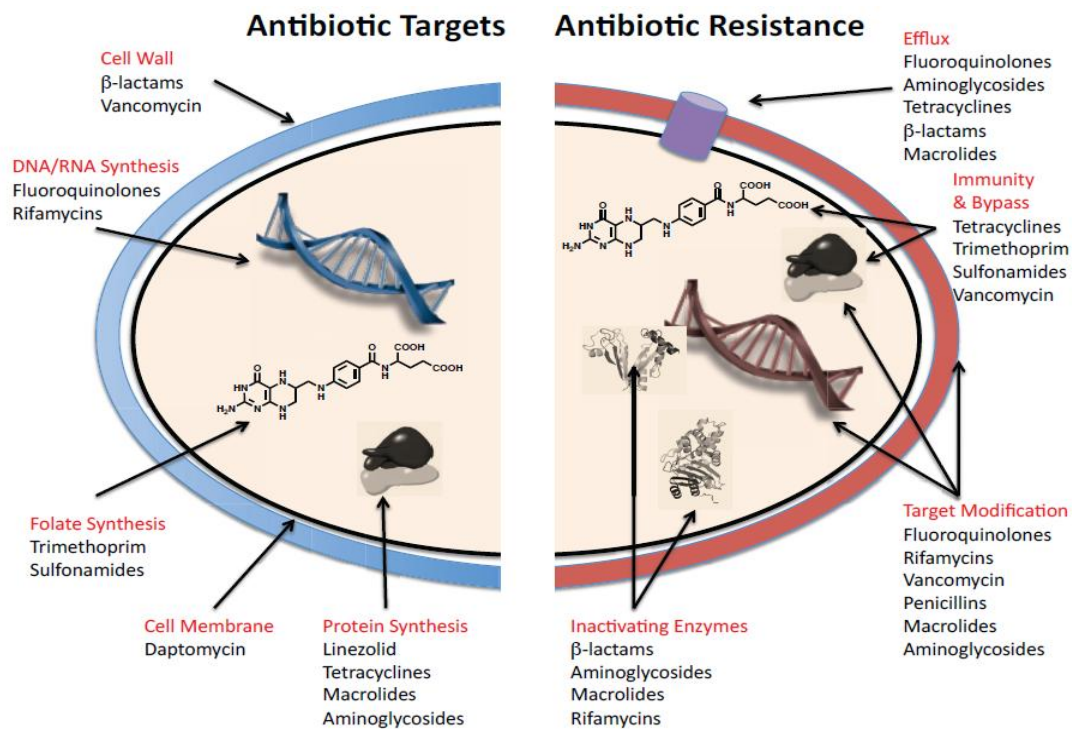
4. Totale reversie naar gevoeligheid gebeurt zeer zelden. In afwezigheid van selectiedruk kan er een trage evolutie naar vermindering van de resistentie prevalentie optreden maar dit betekent niet de reversie naar gevoeligheid. (Acar and Moulin, 2012).

2.2. Antibioticumgebruik en resistentie tegen antibacteriële middelen

De ontwikkeling van antibacteriële producten heeft zowel in de humane als in de diergeneeskunde een immense impact gehad en heeft ertoe geleid dat heel wat aandoeningen die voorheen tot erge ziekte of zelfs de dood leidden, plots (relatief) makkelijk te behandelen werden. Echter, de keerzijde van het gebruik van deze antibacteriële producten werd snel duidelijk door de selectie van resistentie. De uitzonderlijke adaptieve capaciteiten van bacteriën zorgen er namelijk voor dat resistente bacteriën snel kunnen ontwikkelen en zich eveneens snel kunnen verspreiden.

Het ontstaan van resistentie bij bacteriën is een gevolg van een natuurlijk selectieproces waarbij bacteriën die minder of niet gevoelig zijn aan bepaalde antibacteriële stoffen, bij de aanwezigheid van een selectiedruk, een voordeel hebben ten opzichte van de gevoelige bacteriën.

Mechanismen die bacteriën gebruiken om zich te beschermen tegen de antibacteriële middelen zijn zeer divers en gaan van verhoogde efflux of verminderde influx van het antibioticum over modificaties van de receptoren tot biofilm formatie (Miao et al., 2012) (figuur 1). Het gebruikte mechanisme hangt zowel af van de bacteriesoort als van de omgeving waarin de bacterie zich bevindt. De bacteriën kunnen deze resistentiemechanismen verwerven van andere bacteriën via horizontale genentransfer of zelf ontwikkelen via mutatie (zie eerder).



Figuur 1: Receptoren en mechanismen van antibacteriële resistentie (Wright, 2010).

Het verband tussen het gebruik van antibacteriële middelen en het ontstaan van resistentie kan op verschillende niveaus aangetoond worden. Een directe relatie tussen één specifiek antibacterieel middel en de selectie van resistentie is relatief makkelijk aan te tonen in **het laboratorium** (Stamey et al., 1976; Cloeckaert and Chaslus-Dancla, 2001). Op het niveau van het **individuele dier** toonden Berge et al., (2005) aan dat de individuele (parenterale) behandeling van een beperkt aantal stieren met florfenicol resulteert in een duidelijke stijging van resistentie bij fecale *Escherichia coli*. Op het niveau van het **bedrijf** werd ook reeds in verschillende studies een correlatie aangetoond tussen het verbruik aan antibacteriële middelen en het niveau van resistentie (Dewulf et al., 2006; Da Costa et al., 2008, Persoons et al., 2010). In een studie van Casteleyn et al. (2007) werden *Escherichia coli* stalen verzameld bij verschillende **diersectoren**. Ook hier werd vastgesteld dat in de sectoren waar veel antibacteriële behandelingen worden toegediend (pluimvee, varken) er aanzienlijk meer resistentie is dan bij melkvee en in het wild levende hazen. Recent toonde Chantziaras et al., (2013) ten slotte aan dat **landen** met een hoge consumptie aan antibacteriële middelen in verhouding tot de dierlijke productie eveneens meer resistentie hebben bij *Escherichia coli*.

Er zijn echter veel verschillende factoren zoals het type antibioticum, de gebruikte hoeveelheid, de toedieningsweg,... die kunnen inwerken op de associatie tussen het gebruik van antibacteriële middelen en het voorkomen van resistentie. Ook mechanismen als multipele resistentie en kruisresistentie kunnen bijdragen aan het complexe geheel van resistentieselectie en persistentie en zijn vaak een stuk moeilijker te linken aan het gebruik van een specifiek antibacterieel middel (Koningstein et al., 2010).

In een recent overzichtsartikel beschrijven Acar en Moulin (2012) de complexe manier waarop resistentie ontstaat en hoe het gebruik van antibacteriële middelen hierop inwerkt. Zij besluiten dat er een overweldigende hoeveelheid bewijs is dat het gebruik van antibacteriële middelen een krachtige selectiedruk uitoefent op het ontstaan van resistente bacteriën.

Daarnaast dient opgemerkt te worden dat er naast antibioticumgebruik verschillende andere factoren een (beperkte) rol kunnen spelen bij resistentieselectie en/of verspreiding. Effect van factoren zoals stress, hygiëne (Dewulf et al., 2007; Persoons et al., 2010), leeftijd (Butaye et al., 1999; Berge et al., 2005; Dewulf et al., 2007), dieet (Khachatryan et al., 2006) werden reeds beschreven. De onderliggende mechanismen zijn vaak niet volledig uitgeklaard maar kunnen onder andere te maken hebben met een toegenomen mate van gentransfer via integrons (Beaber et al., 2004) of plasmiden (Feld et al., 2008) onder bepaalde omstandigheden, de mate van contact met een heterogeen gevoelige bacteriënpopulatie (Dewulf et al., 2007) of een veranderende microbiële flora in het spijsverteringsstelsel (Catry et al., 2007).

Er is een overweldigende hoeveelheid bewijsvoering dat het gebruik van antibacteriële middelen een krachtige selectiedruk uitoefent op resistente bacteriën en dit zowel op het niveau van het individuele dier als op populatieniveau. Daarnaast zijn er nog een reeks andere factoren die de selectie en verspreiding van resistentie kunnen beïnvloeden. De uitzonderlijke adaptieve capaciteiten van bacteriën zorgen ervoor dat resistente bacteriën snel kunnen ontwikkelen en verspreiden.

2.2.1. Effect van individuele versus groepsbehandelingen op resistentieselectie tegen antibacteriële middelen

Wanneer in een groep dieren een aantal dieren ziek is of ziek dreigt te worden kan men beslissen om enkel de manifest klinisch zieke dieren individueel te behandelen of de volledige groep te behandelen. Het behandelen van een selectief aantal dieren zal uiteraard steeds een lager totaal gebruik van antibacteriële middelen met zich meebrengen dan wanneer de volledige groep wordt behandeld. Bij behandeling van een volledige groep dieren wordt een selectiedruk op alle dieren uitgeoefend waardoor mag verwacht worden dat dit eveneens een impact zal hebben op de resistentie in de volledige groep. Bijgevolg is een individuele behandeling steeds te verkiezen boven een groepsbehandeling.

In de praktijk worden vaak, omwille van praktische redenen, individuele behandelingen parenteraal toegediend terwijl groepsbehandelingen vaak oraal gebeuren (zie verder). Zo is er een studie van Dunlop et al. (1998) waaruit blijkt dat vleesvarkens die in groep oraal werden behandeld met tetracyclines en ampicilline significant hogere niveaus van tetracyclineresistentie vertonen bij de commensale bacteriën in het spijsverteringsstelsel in vergelijking met vleesvarkens die individueel en parenteraal werden behandeld. De resultaten van deze studie bevestigen de idee dat een groepsbehandeling leidt tot hogere resistentieniveaus dan individuele behandelingen maar helemaal zeker kan men niet zijn van deze conclusie omdat het

effect eveneens beïnvloed zou kunnen zijn door de toedieningswegen (oraal versus parenteraal) die in deze studie niet onafhankelijk van elkaar werden bestudeerd.

Om een duidelijkere evaluatie van het effect van individuele versus groepsbehandelingen op de resistentieselectie uit te kunnen voeren is het bijgevolg van belang om op zoek te gaan naar die studies waarbij de vergelijking wordt gemaakt zonder dat er verschillende toedieningswegen worden gebruikt. Voor zover ons bekend zijn er echter geen studies beschikbaar die een dergelijke studieopzet beschrijven.

Het behandelen van een volledige groep dieren met antibacteriële middelen zal er voor zorgen dat de selectiedruk op alle dieren wordt uitgeoefend waardoor mag verwacht worden dat dit eveneens een impact zal hebben op de resistentieselectie. Er zijn echter geen wetenschappelijke publicaties beschikbaar die het effect van individuele versus groepsbehandeling op resistentieselectie beschrijven zonder dat er eveneens verschillende toedieningswegen werden aangewend.

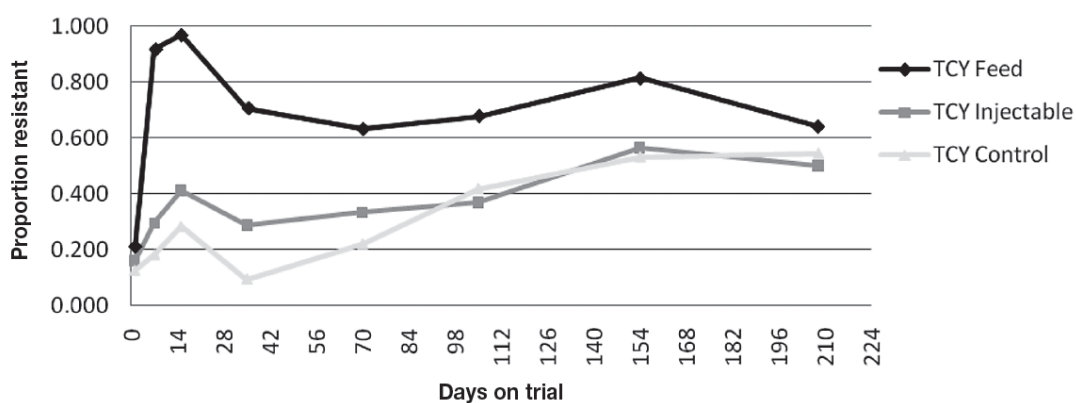
2.2.2. Het effect van oraal versus parenteraal antibioticumgebruik op resistentieselectie tegen antibacteriële middelen

Er zijn in overvloed studies beschikbaar die aantonen dat zowel orale (Inglis et al., 2005; Dewulf et al., 2006; Berge et al., 2006; Callens et al., 2013) als parenterale behandelingen (Berge et al., 2005; Grondvold et al., 2011) resulteren in resistentieselectie.

Echter, verschillende toedieningswegen van een antibacterieel middel resulteren in verschillende absorptie, diffusie, metabolisatie en eliminatie patronen en bijgevolg ook verschillende concentraties in verschillende lichaamscompartimenten (Wiuuff et al., 2002; Olofsson and Cars, 2007). Deze verschillende concentraties kunnen een verschillend effect uitoefenen op de resistentieselectie (zie verder). Daarnaast oefenen oraal toegediende antibiotica steeds een directe selectiedruk uit op de intestinale flora terwijl dit voor parenteraal toegediende antibiotica slechts indirect gebeurt en afhankelijk is van de mate van excretie van het antibioticum of een actieve metaboliet ervan via de entero-hepatische cyclus (Guggenbichler et al. 1985). Op basis van deze argumenten wordt verondersteld dat orale toediening leidt tot hogere resistentieselectie dan parenterale toediening (Guggenbichler et al., 1985).

Ondanks een voor de hand liggend verschil in biologische beschikbaarheid van het antibacterieel middel na parenterale versus orale toediening, met als gevolg een verschillend effect op de resistentieselectie, zijn er slechts een beperkt aantal studies verschenen die expliciet dit effect van de verschillende toedieningswegen op de resistentieselectie testen. Opnieuw worden we hier geconfronteerd met de moeilijkheid dat in de meeste studies de toedieningsweg gecombineerd met individuele versus groepsbehandeling wordt bestudeerd waardoor het enkelvoudig effect van de toedieningsweg moeilijk kan geëvalueerd worden.

Een uitzondering hierop vormt de studie van Checkley et al., 2010 waar de resistentieselectie en -evolutie opgevolgd werd bij drie groepen vleesstieren, gehuisvest in open lucht ('feedlot'). De eerste groep werd oraal behandeld met 2 gr oxytetracycline per dier en per dag gedurende 14 dagen (totaal 28 gr per dier). De tweede groep kreeg een éénmalige subcutane injectie met een langwerkend oxytetracycline (20mg/kg = 6 gr voor een stier van 300 kg) en de derde groep bleef onbehandeld. Uit de resultaten blijkt duidelijk dat korte tijd na toediening van de profylactische behandeling het aantal dieren met tetracyclineresistente *Escherichia coli* stijgt. De grootste stijging werd waargenomen bij de orale groep waar de resistentieprevalentie voor tetracycline stijgt van 10% naar boven de 90% op 7 en 14 dagen na de start van de behandeling om vervolgens weer langzaam te dalen naar rond de 60% net voor slacht (210 dagen na opzet). In de parenteraal behandelde groep wordt ook een stijging waargenomen na behandeling maar deze gaat slechts naar 40% op dag 14 om vervolgens ook langzaam verder te stijgen naar een gelijkaardig niveau van 60% vlak voor slacht. In de controle groep wordt een tijdelijke korte stijging waargenomen met vervolgens een kleine daling en nadien ook een evolutie naar 60%.

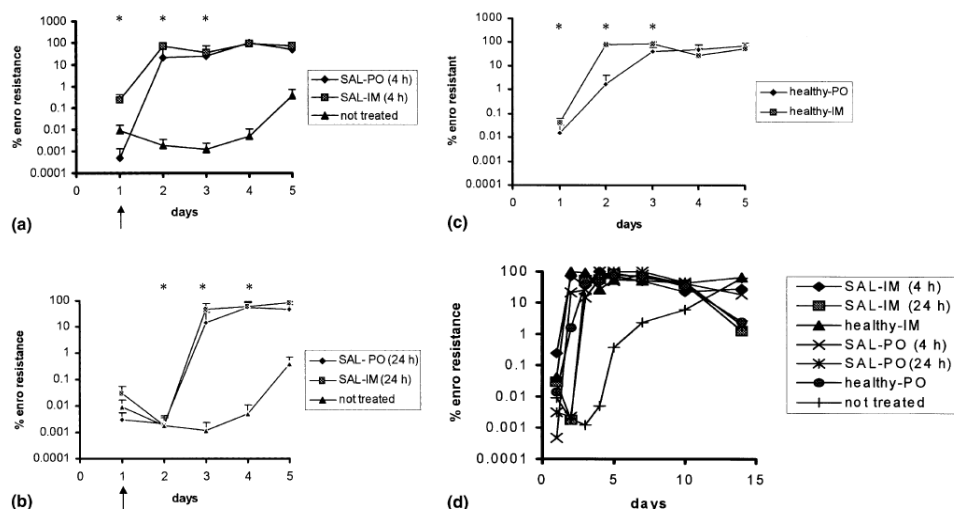


Figuur 2: Proportie vleesstieren met één of meer tetracyclineresistente (TCY) isolaten tijdens het verloop van de observatieperiode (Checkley et al., 2010).

Uit deze studie kan geconcludeerd worden dat een orale behandeling met oxytetracycline in vergelijking met een parenterale behandeling kort na de behandeling resulteert in een uitgesproken hogere selectiedruk op intestinale *Escherichia coli*. Op langere termijn lijkt dit effect evenwel weg te ebben. Dit langetermijn effect is mogelijk het gevolg van een vermenging van de bacteriële flora over de drie groepen (allemaal aanwezig op hetzelfde bedrijf in 'feedlots'). Dit verklaart mede de stijging over tijd in resistentie waargenomen in de controle groep.

Een studie van Wiuff et al., 2003 heeft een vergelijkbare studieopzet getest maar onder meer experimentele omstandigheden bij varkens en met gebruik van enrofloxacin. Van deze molecule is geweten dat er ook na parenterale toediening hoge concentraties in het spijsverteringsstelsel terechtkomen en dat de resistentie ontstaat door puntmutaties eerder dan door de acquisitie van resistentiegenen. In

deze studie blijkt dat er helemaal geen verschil werd waargenomen in de resistentieontwikkeling bij de coliformen na orale of parenterale behandeling.



Figuur 3: Enrofloxacin resistentie in coliforme kiemen bij varkens (Wiuuff et al., 2003)

Deze twee verschillende studieresultaten tonen aan dat er geen veralgemeningen mogen gemaakt worden in verband met het effect van orale versus parenterale behandelingen op de resistentieselectie en dat het effect eerder per molecule dient geëvalueerd te worden. Wel dient opgemerkt te worden dat oraal toegediende antibacteriële middelen vaak niet of onvolledig worden gemetaboliseerd in het spijsverteringsstelsel waardoor actieve substanties kunnen worden uitgescheiden in de feces. Deze kunnen vervolgens ook nog buiten het dier hun resistentieselectie druk verder uitoefenen (Wooldridge., 2012).

Er zijn slechts een beperkt aantal studies beschikbaar die het effect van oraal versus parenteraal antibioticumgebruik op resistentieselectie testen. Deze studies bieden onvoldoende houvast om algemene conclusies te trekken. Beide toedieningswegen hebben een effect op de resistentieselectie die bovendien lange tijd kan aanhouden in het dier. Daarnaast zullen antibacteriële middelen of hun metabolieten na orale toediening met de feces uitgescheiden worden en zullen deze vervolgens voor resistentieselectiedruk zorgen buiten het dier.

2.2.3. Effect van dosering op resistentieselectie tegen antibacteriële middelen

De dosis die wordt toegediend in combinatie met de behandelingsduur zullen in sterke mate de hoeveelheid antibacterieel middel die een dier opneemt, bepalen. In de praktijk blijkt dat er heel vaak zowel dosissen worden toegediend als behandelingsduren worden toegepast die niet in overeenstemming zijn met de aanbevolen dosis zoals op de bijsluiter is vermeld. Zowel over- als onderdoseringen komen voor (Callens et al., 2012; Pardon et al., 2012). Orale behandelingen leiden vaak tot onderdosering en parenterale behandelingen tot overdosering. Anderzijds dient opgemerkt dat ook de aanbevolen dosissen zoals vermeld op de bijsluiter, niet uniform zijn en er vaak voor hetzelfde actief product aangeboden door verschillende

farmaceutische firma's verschillende dosissen voor dezelfde doeldieren en dezelfde indicaties worden aangeraden. Ook tussen verschillende landen (verschillende registratiedossiers met verschillende 'dose finding' en 'dose confirmation' studies ter ondersteuning van de dosering) komen vaak grote variaties in aanbevolen dosering voor.

Het selectief effect van antibacteriële middelen op de resistentieselectie wordt mede beïnvloed door de concentratie van het antibacterieel middel. In het algemeen wordt verondersteld dat er een selectievenster bestaat voor resistentieselectie = 'mutant selection window' (MSW) (Baquero and Negri, 1997). Bijgevolg is het zaak om er voor te zorgen dat de concentratie van het toegediende antibioticum zoveel als mogelijk buiten dit selectievenster valt.

Dit concept is in het bijzonder van toepassing op resistentiemechanismen die het gevolg zijn van mutaties (vb. onder invloed van fluoroquinolones) waarbij wordt gesproken van de 'mutant prevention concentration' (MPC). Dit is de laagste concentratie van een antibacterieel middel die onder welbepaalde in vitro condities de selectie van resistente stammen (door middel van éénstapsmutaties) voorkomt. De meeste selecties van gemuteerde genen gebeuren bij antibioticumconcentraties die zich tussen de MSC en de MPC bevinden. Gedurende een bepaalde tijd kan de plasmaconcentratie van het antibioticum zich binnen het MSW bevinden zodat de groei van de resistente bacteriële populatie mogelijk wordt. Tussen twee doseringen of na het stopzetten van de behandeling kunnen de concentraties zich opnieuw binnen het MSW bevinden (Folia Veterinaria, 2012).

Voor andere type antibiotica (beta-lactam, macroliden, aminoglycosiden) of voor Gram-negatieve bacteriën is het concept van MSW minder toepasbaar aangezien het resistentiemechanisme berust op horizontale gentransfer eerder dan op enkelvoudige mutaties (Courvalin P., 2008 en DeRyke et al., 2006). Er zijn evenwel aanwijzingen dat het gebruik van hoge doseringen ook een vermindering van horizontale gentransfer kan veroorzaken (Page en Gautier, 2012).

Lage doseringen (ver onder de MIC) daarentegen kunnen ook tot resistentieselectie leiden (van der Horst et al., 2011).

Het is van belang aan te geven dat de gebruikte doseringen en verwachte concentraties van een specifiek antibacterieel middel bepaald zijn in functie van de behandeling tegen een specifieke pathogeen in een bepaald doelorgaan. Bij een behandeling zullen er echter ook steeds heel veel andere bacteriële species (commensalen) die zich ophouden op verschillende locaties waar de weefselconcentraties sterk verschillend kunnen zijn, mee behandeld worden. Het is dus heel waarschijnlijk dat de optimale dosering ter preventie van resistentie bij een specifieke pathogeen helemaal niet optimaal is voor vele andere in het dier aanwezige bacteriën. Bijgevolg zal iedere behandeling, zowel met een correcte dosis als met onder of overdosering, tot resistentieselectie leiden bij pathogenen of commensalen.

De toegediende dosering (dosis en behandelingsinterval) van het antibacterieel middel beïnvloedt de weefselconcentraties en bijgevolg de mate van resistentieselectie, zowel bij de pathogenen waarvoor de behandeling werd opgestart, als bij de commensale bacteriële species. De in de bijsluiters aanbevolen dosissen zijn zeer variabel en bepaald in functie van de klinische genezing na behandeling en niet in functie van het voorkomen van resistentieselectie. Gezien de grote variatie aan aanwezige bacteriën en weefsels in een dier zal iedere behandeling, onafhankelijk van de dosis, steeds tot resistentieselectie leiden bij pathogenen of commensalen.

2.3. Biocidegebruik en resistentie tegen antibacteriële middelen

Net als antibiotica zijn biociden van grote waarde. Het gebruik van biociden speelt een belangrijke rol voor de hygiëne in de dierlijke productie en is bijgevolg van belang in de dierenziektepreventie.

De kennis over de rol van biociden met betrekking tot de opkomende resistentie bij bacteriën is beperkt. Uit onderzoek blijkt dat sommige biociden en antimicrobiële agentia gelijkaardige werkingsmechanismen hanteren bij de selectie van resistentie (verstoring van de werking van effluxpompen, verandering van de celpermeabiliteit, biofilmvorming,...) (McMurry et al., 1998). De best bestudeerde biociden zijn triclosan en de quaternaire ammoniumverbindingen. Zij kunnen een selectieve druk uitoefenen op de bacteriën in het voordeel van specifieke resistentiegenen die kunnen gelegen zijn op mobiele genetische elementen. Biociden kunnen ook de expressie induceren van specifieke genen die betrokken zijn bij de resistentie van bacteriën tegen antibacteriële middelen (Davin-Regli A. en Pagès J, 2012). Wanneer bacteriën onder laboratoriumomstandigheden worden blootgesteld aan biociden kan resistentieselectie en kruisresistentie met bepaalde antibiotica geïnduceerd worden (Randall et al., 2007).

In de veehouderij werden tot hiertoe slechts een beperkt aantal studies uitgevoerd met betrekking tot het verband tussen biocidegebruik en resistentie. Gradel et al., (2005) vonden geen verband tussen 5 verschillende commerciële biociden die regelmatig worden gebruikt in pluimveebedrijven en de MIC waarden in de *Salmonella* isolaten geïsoleerd op bedrijven waar de biociden werden toegepast.

In een studie in pluimveeslachthuizen werd geen toename in biocide en antibioticumresistentie waargenomen in *Campylobacter jejuni* en *Escherichia coli* voor en na reiniging en desinfectie (Peyrat et al. 2008). In twee andere studies werd dan weer aangetoond dat *Salmonella* die werden blootgesteld aan biociden lage maar significante niveaus van resistentie ontwikkelden met een verlaagde gevoeligheid voor ciprofloxacin en tetracycline tot gevolg (Karatzas et al. 2007; Karatzas et al. 2008).

Gebaseerd op bovenstaande bevindingen concludeerde het SCENIHR (2009) dat er een mogelijkheid bestaat dat onaangepast gebruik van biociden in de dierlijke

productie kan leiden tot resistentieselectie maar dat dit vooralsnog nog niet ondersteund wordt door veldgegevens.

Sommige biociden kunnen volgens gelijkaardige werkingsmechanismen als antibiotica de selectie van resistentie tegen antibacteriële middelen in de hand werken en kunnen bijgevolg bijdragen tot de ontwikkeling van antibioticumresistentie. Het belang hiervan in het veld is echter nog onduidelijk.

3. Groepsbehandeling met antibacteriële middelen

Groepsbehandelingen met antibacteriële middelen zijn behandelingen waarbij een volledige groep dieren gezamenlijk wordt behandeld dit in tegenstelling tot individuele behandelingen waarbij de dieren individueel antibiotica krijgen toegediend. Zoals eerder reeds vermeld zullen bij groepsbehandelingen steeds meer dieren blootgesteld worden aan een resistentieselectiedruk dan bij individuele behandelingen. Onderstaande wordt een beschrijving gegeven van het gebruik van groepsbehandelingen bij dieren. Deze beschrijving heeft als doel de praktijk zo goed mogelijk weer te geven en houdt geen beoordeling (goed of afkeuring) in. Het oordeel over de verschillende vormen van groepsbehandelingen wordt verder in het document gegeven bij de rubriek '4. Advies'.

In de praktijk worden groepsbehandelingen (met antibacteriële middelen) frequent toegepast bij voedselproducerende dieren zoals varkens, pluimvee en rundvee. Bij varkens worden ze vooral toegepast bij vleesvarkens (Timmerman et al., 2006, Callens et al., 2012), bij pluimvee vooral bij braadkuikens (Persoons et al., 2012) en bij rundvee voornamelijk bij vleeskalveren (Pardon et al., 2012).

De intra-mammaire droogzettherapie, die veralgemeend gebruikt wordt bij melkvee, is geen groepsbehandeling in de strikte zin van het woord aangezien de dieren niet samen in één groep medicatie krijgen toegediend. Wel ondergaan alle dieren op een bepaald moment in de productiecycclus een gelijkaardige behandeling. De gebruikte middelen zijn veelal breedspectrumantibiotica met een langere werkingsduur (meerdere weken) die lokaal (intra-mammair) toegediend worden.

3.1. Toepassingsgebieden van groepsbehandeling met antibacteriële middelen

In de veehouderij worden groepsbehandelingen vaak oraal toegediend (voeder of drinkwater) maar soms ook parenteraal (injectie). Aangezien groepsbehandelingen voornamelijk oraal worden toegediend is er soms verwarring tussen de begrippen "groepsbehandeling" en "orale behandeling" die soms als synoniem worden gebruikt terwijl ze dit niet zijn.

Antibacteriële groepsbehandelingen kunnen worden uitgevoerd:

1. **uit therapeutisch oogpunt:** hieronder wordt verstaan de behandeling van geïnfecteerde en klinisch zieke dieren. Dit is eerder zeldzaam voor groepsbehandelingen omdat het uitzonderlijk is dat alle dieren van een groep tegelijkertijd geïnfecteerd zijn en klinische symptomen vertonen.

2. **uit metafylactisch oogpunt:** dit is het behandelen van een groep dieren waarin een deel van de dieren geïnfecteerd en klinisch ziek is en dit ter behandeling van de geïnfecteerde dieren (al dan niet klinisch ziek) en tegelijkertijd ter preventie van de verspreiding van de infectie naar de nog niet geïnfecteerde dieren binnen dezelfde groep. Dit is een vaak voorkomende indicatie voor groepsbehandelingen.

Verscheidende studies hebben aangetoond dat bij de behandeling van ademhalingsinfecties bij runderen, metafylactische behandelingen significante voordelen hebben bij het reduceren van de impact van ademhalingsstoornissen (Nickel en White, 2010; Taylor et al., 2010). Metafylactische behandelingen zouden bij de onderzochte pathogenen minder resistentieselectie in de hand werken. Canton en Morosine (2011) menen dat dit kan verklaard worden omdat in de beginstadia van infectieziekte de pathogene bacteriële populatie kleiner is en dus ook de kans dat resistentie mutanten aanwezig zijn in deze bacteriële populatie. Deze redenering gaat op voor resistentieselectie ten gevolge van mutaties (bv bij flouroquinolone resistentie) maar is niet noodzakelijk waar voor resistentiemechanismen die gebaseerd zijn op de aanwezigheid van specifieke resistentiegenen. De verwerving van resistentiegenen is een vaak voorkomend mechanisme, ook bij de commensale kiemen. Het effect van metafylactische behandelingen op de resistentieselectie bij commensale kiemen is minder goed beschreven.

3. **uit profylactisch oogpunt:** dit is het behandelen van een groep dieren op strategische momenten in de productiecycclus (bv. biggen na spenen, kalveren bij opzet) met het oog op het voorkomen van een infectie die zou kunnen resulteren in zieke dieren en/of productiedalingen. Deze profylactische of preventieve behandelingen worden vaak toegepast onder de vorm van groepsbehandelingen.

Het doel van een profylactische behandeling bestaat er in de hoeveelheid circulerende pathogenen te reduceren en soms zelf totaal te eradiceren om zodoende te resulteren in een lagere infectiedruk. Verscheidende studies hebben aangetoond dat deze preventieve behandelingen resulteren in gunstige klinische resultaten bijvoorbeeld bij necrotische enteritis bij vleeskuikens (Brennan et al., 2001; Lanckriet et al., 2010) en ademhalingsziekten bij runderen (Rérat et al., 2012). Ook de droogzettherapie bij melkvee kan worden aanzien als een profylactische behandeling. De gevolgen van deze profylactische behandelingen in termen van resistentieselectie daarentegen zijn heel aanzienlijk temeer daar profylactische behandelingen vaak evolueren naar gewoontebehandeling wat resulteert in het behandelen op momenten dat de onderliggende oorzakelijke ziektekiemen geen gezondheidsproblemen meer veroorzaken. In verscheidende studies werd aangetoond dat op bedrijven waar veelvuldig antibacteriële groepsbehandelingen worden toegediend ook meer resistentie aanwezig is (Dewulf et al., 2006; Berge et al., 2006; Da Costa et al., 2008; Persoons et al., 2010).

Het Wetenschappelijk Comité wijst er op dat in de ‘Samenvattingen van de Productkenmerken’ (voorheen Wetenschappelijke Bijsluiter) het preventief gebruik van antibacteriële middelen slechts zeer uitzonderlijk wordt aanbevolen (bijvoorbeeld bij toepassing van pleuromutilines in eradicatieprogramma’s van varkensdysenterie – Folia veterinaria 2013). Over het algemeen wordt het preventief gebruik van antibacteriële middelen afgeraden.

Het gebruik van antibacteriële middelen als groeibevorderaar is sinds 2006 niet meer toegestaan in de EU.

3.2. Behandelingsvormen – Welke vormen van groepsbehandelingen worden toegepast?

3.2.1. Lokale groepsbehandeling

Er bestaan veel verschillende vormen van lokale behandelingen maar slechts een heel beperkt aantal die ook in groepsbehandelingen worden toegediend. De voornaamste lokale groepsbehandeling is de intra-mammaire droogzettherapie bij melkvee. Deze behandeling is een bijzonder vorm van groepsbehandeling aangezien niet alle dieren gelijktijdig behandeld worden maar wel in functie van de evolutie van de lactatieperiode. Maar aangezien in de loop van een jaar zo goed als alle melkkoeien deze behandeling ondergaan kan er wel van groepsbehandeling worden gesproken.

Een intra-mammaire droogzettherapie wordt als lokale therapie omschreven aangezien er enkel een lokale werking van de toegediende antibacteriële middelen wordt beoogd zonder dat een systemische circulatie optreedt. Het voordeel van de niet systemische circulatie is dat er ook geen selectiedruk zal optreden in andere orgaanstelsels waardoor er kan van uitgegaan worden dat er minder resistentieselectie bij de commensalen zal optreden.

Bij het droogzetten wordt gebruik gemaakt van langwerkende antibiotica (3-6 weken) met als doel subklinische infecties gedurende de droogstand te behandelen en nieuwe infecties te voorkomen.

Kenmerken van lokale groepsbehandeling

- Wordt enkel gebruikt in het kader van droogzettherapie.
- Ieder dier krijgt een gelijkaardige dosis.
- Er wordt enkel een lokale werking beoogd.
- Antibiotica worden via het tepelkanaal ingebracht.

3.2.2. Parenterale groepsbehandeling

In principe kan iedere parenterale behandeling (overwegend intra-musculaire injectie bij varkens en runderen maar soms ook subcutane en intra-veneuze injectie bij

runderen) gebruikt worden om een volledige groep dieren te behandelen. Dit wordt, gezien het arbeidsintensief karakter, relatief weinig toegepast bij conventioneel rundvee, maar wel bij vleeskalveren en biggen. Bovendien moet deze behandeling vaak een aantal dagen na mekaar uitgevoerd worden. De noodzaak tot manipulatie van ieder individueel dier en het daaruit volgende vele werk en de tijd die er aan moeten besteed worden zijn drempelverhogend voor antibioticumgebruik in het algemeen en voor groepstherapie in het bijzonder via de parenterale toedieningsweg.

Echter wanneer een groepsbehandeling moet uitgevoerd worden bij dieren die nog weinig of geen vast voedsel of leidingwater opnemen (vb. zogende biggen), is de parenterale toedieningsweg de enige mogelijkheid voor een groepsbehandeling. Vandaar dat in de varkenshouderij en meer specifiek bij de zogende biggen, frequent parenterale groepsbehandelingen omwille van metafylactische of profylactische doeleinden worden uitgevoerd. Bij deze groep dieren worden de parenterale groepsbehandelingen vaak in combinatie met andere handelingen (bvb castreren, tandjes knippen, ijzerinjectie,...) toegediend omdat men op dat moment de biggen toch individueel moet manipuleren. Vaak ook worden hier combinatietherapieën gegeven van bv., antibacteriële middelen opgelost in het ijzerpreparaat, ondanks het feit dat dit niet in overeenstemming is met de goede veterinaire praktijk. Ook in de kalverhouderij worden soms parenterale groepsbehandelingen toegediend, onder meer als opzettingtherapie (groepsbehandeling bij aanvang van de productieronde). Mede om de arbeidsdruk te verlagen wordt hier eveneens vaak gebruik gemaakt van langwerkende formulaties (vb. langwerkende macroliden) die een therapeutische spiegel nastreven van meer dan 24 u.

Vanuit farmacologisch standpunt heeft een parenterale behandeling veel voordelen. Ten eerste is er geen verschil in het geïnjecteerde volume tussen zieke en gezonde dieren waardoor men er zeker van dat alle behandelde dieren de gewenste dosis toegediend krijgen (als de injectie secundum artem werd toegediend en er geen terugvloeit uit de injectieplaats optreedt). Daarnaast is er, bij de meeste formulaties, ook minder verlies van product via het spijsverteringsstelsel ten opzichte van de orale toedieningsvorm. Ook zijn de bloed- en weefselspiegels meer uniform in vergelijking met oraal toegediende producten omdat de variatie ten gevolge van de absorptie ter hoogte van het maag-darmstelsel niet van toepassing is. Deze laatste kan sterk variëren tussen dieren die oraal worden behandeld. Een nadeel van de parenterale behandelingen is dat deze steeds gepaard gaan met een injectie en bijgevolg een zeker risico op iatrogene overdracht van een aanwezige pathogeen met zich meebrengt. Eveneens bestaat het risico op de aanwezigheid van spuitplekken wat economische verliezen tot gevolg heeft en een verlengde aanwezigheid van het product kan teweegbrengen met het risico op het overschrijden van de maximale residu limiet (MRL) op het moment van slachten. Ook is dit vanuit het oogpunt van dierenwelzijn minder aangewezen.

Kenmerken van parenterale behandeling:

- Wordt voornamelijk gebruikt voor de individuele behandeling van dieren.

- Wordt enkel voor groepsbehandelingen ingezet bij zogende biggen en vleeskalveren.
- Bij ieder behandeld dier is men zeker van de toegediende dosis en van de biologische beschikbaarheid.
- Wanneer meerdere dieren worden behandeld krijgt ieder dier een gelijkaardige dosering.
- Gezien de goede biologische beschikbaarheid is de hoeveelheid noodzakelijk product beperkter dan bij orale toediening.
- Flexibele en snelle opstart van de behandeling is mogelijk.
- Flexibele en snelle stopzetting van de behandeling is mogelijk (tenzij voor lang werkende formuleringen).
- Arbeidsintensief karakter van de behandeling werkt drempelverhogend voor antibioticum gebruik.
- Risico op iatrogene ziekte overdracht wanneer meerdere dieren worden behandeld met zelfde injectiemateriaal.
- Risico op residuen ter hoogte van de spuitplekken.
- Minder diervriendelijk dan orale medicatie.
- Hogere kostprijs dan orale medicatie.

Behalve voor zuigende biggen en kalveren worden parenterale groepsbehandelingen relatief weinig toegepast bij nutsdieren omwille van het arbeidsintensief karakter. Anderzijds laten ze toe de dosis en behandelingsduur beter te beheersen en werkt deze manier van toediening drempelverhogend voor het gebruik van antibiotica.

3.2.3. Orale groepsbehandeling

De grote meerderheid van groepsbehandelingen wordt via het voeder of het drinkwater toegediend. De antibacteriële producten oefenen in de eerste plaats hun werking uit op de bacteriële flora in het spijsverteringsstelsel en worden in variërende mate opgenomen in de bloedbaan. De mate van biologische beschikbaarheid wordt sterk bepaald door het type molecule en de formulering en kan variëren van zo goed als geen absorptie tot relatief hoge absorptiepercentages. Er bestaat eveneens grote individuele variatie in absorptie tussen dieren voor dezelfde molecule.

3.2.3.1. Via het voeder

Antibacteriële middelen kunnen op verschillende plaatsen in het productie- en distributieproces in het voeder ingemengd worden. Dit kan reeds bij de productie in een mengvoederbedrijf gebeuren. De antibacteriële middelen kunnen eveneens op het moment van lossen van de vrachtwagen en vullen van de silo toegevoegd worden via een fijndoseertoestel (mengstelsel dat op de vrachtwagen wordt gemonteerd en waarbij de medicijnen ingemengd worden op het moment van lossen van de vrachtwagen) of rechtstreeks via een doseertoestel dat geïnstalleerd wordt op de voederlijn. Tenslotte kunnen de antibacteriële middelen ook toegediend worden

in de voederbak op het voeder (topdressing). Elk van de verschillende plaatsen van inmengen van het voeder hebben voor- en nadelen.

Op dit moment wordt de meerderheid van de gemedicineerde voeders in België aangemaakt in het erkende mengvoederbedrijf. Dit heeft als voordeel dat het antibacterieel middel goed homogeen vermengd kan worden met het voeder en de hoeveelheid noodzakelijk product juist afgewogen kan worden in functie van het volume van het voeder. Het heeft anderzijds heel wat nadelen waaronder het risico op ontmenging van het antibacterieel middel (zie kader) omdat het voeder nog heel wat stappen moet ondergaan alvorens het geconsumeerd wordt waardoor de homogeniteit van het mengsel vermindert.

Daarnaast bestaat er een risico op versleping van antibacteriële producten waarbij kleine hoeveelheden antibacteriële middelen achterblijven op de productielijn, bij opslag en transport. Dit geeft onder meer aanleiding tot het ontstaan van spoelvoer (voer met resten antibiotica). Dit risico wordt echter aanzienlijk beperkt indien de gemedicineerde voeders in de mengvoederfirma via een bijmenger worden geproduceerd. Dit is een systeem waar een aparte mengtrommel wordt voorzien op het eind van de voederproductielijn waarin enkel gemedicineerd voeder wordt geproduceerd.

Daarnaast bestaat er ook een risico van neerslag van antibacteriële middelen in de voederlijn op het landbouwbedrijf wat kan zorgen voor langdurig vrijkomen van lage dosissen antibacterieel middel.

Nog een groot nadeel is dat de groep van te behandelen dieren pas gemedicineerd voeder kan krijgen op moment dat de nieuwe lading voeder is geleverd en de vorige lading voeder aanwezig in de silo opgebruikt is. De duur van de medicatie is afhankelijk van de duur van het opeten van de hoeveelheid beschikbaar gemedicineerd voeder en kan niet voortijdig gestopt worden.

De duur van de behandeling wordt bijgevolg niet steeds bepaald door de gewenste duur vanuit therapeutisch oogpunt maar wel door de duur van het consumeren van een volledige voorraad (silo) voeder. Als de voedersilo met gemedicineerd voeder niet helemaal leegkomt alvorens er nieuw niet-gemedicineerd voeder wordt gebracht, treedt er vermenging van beide voeders op wat leidt tot onjuiste doseringen (onderdosering) en verlengde behandelingsduur gedurende de volgende dagen.

Tevens zijn meestal een grote groep dieren op één en dezelfde voederlijn aangesloten waardoor het medicineren van kleinere groepen dieren (bvb specifiek compartiment) niet mogelijk is en vaak ook een aantal dieren gemedicineerd wordt waarvoor het niet strikt noodzakelijk is. Dit laatste nadeel is ook aanwezig wanneer het antibacterieel middel ingemengd wordt op het moment van het vullen van de silo.

Voeder opgeslagen in een silo kan ook (zeker in de zomer) blootgesteld worden aan hoge temperaturen. Verschillende antibacteriële producten zijn hittegevoelig. Zo worden penicillines reeds onstabiel bij een temperatuur boven de 40°C. Wanneer de toediening gebeurt via (mobiele) doseerapparaten die op de voederlijn kunnen

worden geplaatst is er meer flexibiliteit in tijdstip en duur van toediening en de keuze van de te behandelen groep. Bovendien is het risico op ontmenging bij gebruik van mobiele doseerapparaten op de voederlijn minder groot. Het nadeel van deze systemen is dan weer dat ze niet zo nauwkeurig doseren en de homogeniteit van het mengsel vermoedelijk variabel is. Dat zelfde geldt ook voor de topdressing. Bij toepassing van voermedicatie via mobiele doseerapparaten op de voederlijn bij varkens wordt vanuit de praktijk melding gemaakt van zeer variabele uitdosering in de voerbakken (van Krimpen, 2005) .

Ontmenging

Ontmenging tussen voeder en additieven (met antibacteriële activiteit) is een gevolg van verschillende fysico-chemische eigenschappen van de uiteenlopende voedercomponenten. Dit kan te maken hebben met de fysico-chemische eigenschappen van de partikels, elektrostatische aantrekking, ...

In het distributieproces van voeders kan ontmenging optreden gedurende:

- a) Tijdens het transport in de vrachtwagen als gevolg van de trillingen gedurende het transport.
- b) Tijdens het vullen van de silo ten gevolge van de variatie in de fysico-chemische eigenschappen van de partikels.
- c) Tijdens de stockage in de silo. Sommige componenten zakken uit, andere componenten blijven makkelijker kleven aan de wanden van de silo.
- d) Tijdens het transport doorheen de voederlijnen. Hier zullen kleinere partikels minder ver in de voederlijn getransporteerd worden en sneller uitzakken terwijl grotere partikels verder getransporteerd worden.
- e) Bij het vullen van de voederbakken waar hetzelfde effect zoals beschreven in de silo kan optreden.

Om er voor te zorgen dat de dieren een correcte dosis antibiotica krijgen is het van belang bij iedere behandeling de dosering aan te passen aan de ratio voederopname / gewicht van de te behandelende groep dieren. Bij het gebruik van gemedicineerd voeder is het eveneens van belang dat dit niet vochtig wordt (probleem bij brijvoeding) omdat de biologische beschikbaarheid van de antibacteriële middelen kan veranderen in functie van de vochtigheidsgraad.

Groepsbehandelingen via het voeder hebben als bijkomend belangrijk nadeel dat er geen zekerheid is of zieke dieren voldoende gemedicineerd voeder opnemen. Bij ziekte neemt namelijk de eetlust snel af en ontstaat soms anorexie. In dergelijke gevallen is de opname van antibacteriële middelen onvoldoende. Dit geldt vooral bij therapeutische en in mindere mate bij metafylactische behandelingen. Dit geldt per definitie niet bij profylactische behandelingen. Daarnaast is er ook steeds een variabele opname van voeder tussen de dieren waardoor ook de toegediende hoeveelheid antibiotica zal variëren.

In een varkensstal is een groot deel van het aanwezig stalstof afkomstig van het voeder. Wanneer gemedicineerd voeder wordt gebruikt kunnen hiervan ook sporen teruggevonden worden in het stalstof. In de studie van Hamscher et al. (2003) werden tylosine, verschillende tetracyclines, sulfamethazine, en chloramfenicol, in totale concentraties tot 12.5 mg/kg stof gemeten. In de studie van Murphy et al. (2007) werd tylosine teruggevonden in 93% van de stofmonsters en lincomycine in 9% van de stofmonsters. De gemiddelde concentraties van tylosine bedroegen 3, 18, en 49 ng/m³ in respectievelijk de fractie van het alveolair inhaleerbaar (deeltjes < 4µm bereiken de alveolen), inhaleerbaar (deeltjes <50-100 µm bereiken de bovenste luchtwegen) en in de niet-inhaleerbare fractie van het stof. Deze lage antibioticumconcentraties kunnen enerzijds een continue selectiedruk veroorzaken op bacteriën (vb *Escherichia coli*) die in de omgeving aanwezig zijn en zorgen anderzijds ook voor een continue blootstelling aan lage dosering van antibacteriële middelen voor personen die werken in de stal.

Groepsbehandelingen via het voeder, in het bijzonder wanneer gemedicineerd voeder geleverd wordt vanuit de mengvoederfirma, zijn vanuit arbeidstechnisch of logistiek oogpunt zeer makkelijk toepasbaar. Het volstaat dat er een voorschrift is van de bedrijfsdierenarts of de dierenarts verbonden aan de veevoederfirma en het antibacterieel middel kan in het voeder worden ingemengd. Als gevolg hiervan is de veehouder zelf vaak onvoldoende of zelfs niet op de hoogte van het feit dat een bepaalde groep dieren gemedicineerd voeder toegediend krijgt op een bepaald moment. Deze zeer praktische manier van toedienen zorgt ervoor dat er weinig praktische belemmeringen zijn voor de veehouder om het middel toe te dienen. De drempel om gemedicineerd voeder te gebruiken is bijgevolg bijzonder laag in dit geval.

Op basis van alle bovengenoemde karakteristieken van het gebruik van gemedicineerd voeder komt duidelijk naar voor dat deze vorm van medicatie laagdrempelig is voor gebruik als gevolg van het toedieningsgemak en zich in het bijzonder leent voor profylactische behandelingen en veel minder praktisch bruikbaar is voor metafylactische of therapeutische behandelingen.

Het dient vermeld te worden dat bovenstaande geldt voor droogvoerders. Bij brijvoerders (met o.a. afvalstromen uit de voedingsindustrie) zijn sommige zaken niet van toepassing.

Kenmerken van orale behandeling via voeder:

- Voornamelijk gebruikt voor groepsbehandelingen van grote groepen dieren en voor langere duur. Meestal wordt gemedicineerd voeder bij de mengvoederfabrikant gemaakt en worden alle dieren die voeder krijgen van dezelfde voederlijn behandeld.
- De dosis opgenomen door het dier varieert in functie van de voederopname. De voederopname daalt over het algemeen bij zieke dieren.
- De absorptie uit het voeder is variabel en is molecule-specifiek. Verschillende voederadditieven kunnen de absorptie positief of negatief beïnvloeden.

- Flexibele en snelle opstart van de behandeling is niet mogelijk aangezien men afhankelijk is van de beschikbaarheid van een lege silo.
- Flexibele en snelle stopzetting van de behandeling is niet mogelijk aangezien men afhankelijk is van de tijd nodig om de silo te ledigen.
- Op verschillende stappen in het productie- en distributieproces is er kans op ontmenging waardoor, op het vlak van de concentratie aan antibacteriële middelen, heterogene voedersamenstellingen zullen worden toegediend.
- De niet geabsorbeerde en of niet-gemetaboliseerde fractie wordt via feces uitgescheiden en kan blijvende selectiedruk uitoefenen.
- Het risico op versleping van residuen tussen verschillende voederproducties is voornamelijk van belang bij inmenging op het veevoederbedrijf maar is sterk beperkt indien de bij-menger wordt gebruikt.
- Het systeem leent zich tot preventieve en langdurige behandelingen.
- De arbeidsintensiteit van de behandeling is uiterst laag wat drempelverlagend werkt op het gebruik van antibiotica.
- Residuen van antibiotica kunnen in stofdeeltjes in de stal aanwezig zijn.
- Vermorsen van (gemedicineerd) voeder komt frequent voor (mestput).

Wanneer medicatie aan het voeder wordt toegediend op het bedrijf zelf via (mobiele) doseersystemen, zijn de eigenschappen en beperkingen/aandachtspunten zoals beschreven voor drinkwater (zei verder) van toepassing.

Toediening van antibacteriële middelen via het voeder is vanuit arbeidstechnisch, logistiek en therapeutisch oogpunt een zeer eenvoudige manier van groepsbehandeling van nutsdieren die evenwel verschillende praktische nadelen heeft (weinig betrouwbare effectieve dosering bij zieke dieren, problematiek van versleping en ontmenging, neiging tot overconsumptie van antibiotica omwille van het laagdrempelig karakter van de toedieningswijze en het overschrijden van de strikt noodzakelijke therapieduur, ...) waardoor resistentieselectie in de hand wordt gewerkt.

3.2.3.2. Via het drinkwater of de kunstmelk

Groepsbehandelingen via het drinkwater worden toegediend door het antibacterieel middel in het drinkwater in te mengen. Dit kan door het product te mengen in een watervat of via het plaatsen van (mobiele) doseringssystemen op de drinkwaterleiding die, in functie van het debiet van het water, de noodzakelijke concentratie aan opgelost antibacterieel middel toedienen.

Het toe te dienen antibacterieel middel kan eveneens in een melkrantsoen worden ingemengd. Dit wordt vaak toegepast in de kalverhouderij. In de praktijk is het de kalverhouder die de nodige hoeveelheid antibioticumpoeder afweegt en in de melk mengt. Dit inmengen gebeurt in de melkbereidingsketel in het laatste stadium van de bereiding als de melk al afgekoeld is tot drinktemperatuur (40-42°C).

Voor een efficiënte toediening van medicatie via het drinkwater is het noodzakelijk om rekening te houden met een aantal factoren zoals: gemiddelde waterconsumptie, waterkwaliteit (pH, hardheid,..), wateroplosbaarheid van het antibioticum, waterflow in de stal, ...

In tegenstelling tot behandelingen via het voeder blijven dieren die ziek zijn over het algemeen langer drinken dan dat ze blijven eten. Hierdoor zullen zieke dieren in vergelijking tot voedermedicatie langer blootgesteld zijn aan het antibacterieel middel dat hen wordt toegediend. Anderzijds is het wel zo dat de drinkwateropname van de dieren sterk kan beïnvloed worden door allerlei factoren (leeftijd, temperatuur,..) waardoor het aangeraden wordt om steeds het dagelijks waterverbruik van de te behandelen groep vooraf te meten zodat een goede inschatting kan gemaakt worden van de effectieve opname van het geneesmiddel. Dit geldt voor een groot deel ook voor voederopname (zie 3.2.3.1.).

Er dient vermeld te worden dat de duur van medicatie via het voeder doorgaans langer is dan via het drinkwater.

Groepsbehandelingen via drinkwater en melk hebben als praktisch voordeel dat ze flexibel inzetbaar zijn en ook toepasbaar zijn voor kleinere groepen dieren. Er zijn weinig bedrijven die 3 weken via het drinkwater medicineren, maar er zijn er wel die 3 weken via het voeder medicineren. Daar waar bij behandeling via het voeder steeds alle dieren die op een voederlijn zijn aangesloten worden behandeld, is het via mobiele drinkwater doseringssystemen makkelijker om een kleinere groep dieren te behandelen. Deze systemen kunnen relatief makkelijk tussen een bestaande drinkwaterleiding worden geplaatst waardoor specifieke hokken of compartimenten kunnen behandeld worden. Ook de duur van de behandeling is makkelijk regelbaar aangezien op ieder moment kan beslist worden om de behandeling stop te zetten.

De toediening van antibacteriële middelen via drinkwater heeft echter ook een aantal beperkingen. Zo zijn niet alle middelen oplosbaar in water en is ook de kwaliteit van het water niet steeds gelijk waardoor de oplosbaarheid en de stabiliteit van het product negatief kunnen beïnvloed worden. Ook het neerslaan van antibacteriële middelen in de drinkwaterleidingen of het reageren van de producten met bv. de wand van metalen leidingen kan een probleem vormen. Het is daarom van groot belang te beschikken over kwalitatieve drinkwatersystemen die kunnen gereinigd worden. Dit geldt eveneens, en misschien nog in grotere mate, bij medicatie via de kunstmelk.

Uit de studie van De Lathouwers et al. (2009) is gebleken dat er in de biggenbatterijen grote verschillen in de concentraties van amoxicilline en doxycycline werden gevonden ter hoogte van de verschillende drinkpunten. Dit betekent dat de dieren binnen een afdeling verschillende hoeveelheden antibioticum per liter drinkwater opnemen. Het is dan ook van belang dat de doseersystemen juist afgesteld zijn en blijven. Het regelmatig iken van deze systemen is dan ook noodzakelijk.

Uit recent onderzoek van van der Horst et al. (2011) blijkt dat de feitelijke inname van met antibacteriële middelen gemedicineerd drinkwater door kippen, lager is dan beoogd.

In het algemeen wordt aangegeven dat de snelheid van absorptie van een oplossing (drinkwater- of brijvoermedicatie) beter is dan van een poeder (medicatie via voeder) (Bos, 1994). Dit is niet noodzakelijk waar voor de totale geabsorbeerde hoeveelheid. Hierdoor zal bij drinkwatermedicatie het effect sneller intreden en de biologische beschikbaarheid het grootst zijn (wat een gunstige bijdrage levert aan het therapeutisch effect). Van Krimpen et al. (2005) ondersteunen deze opvatting en vermelden tevens dat er slechts een (zeer) beperkt aantal wetenschappelijke publicaties beschikbaar is over dit onderwerp.

Kenmerken van orale behandeling via het drinkwater.

- Voornamelijk gebruikt voor groepsbehandelingen van kleine tot grote groepen dieren. Mobiele doseersystemen maken het mogelijk een beperkt aantal dieren (bvb compartiment) te behandelen.
- Opname door het dier varieert in functie van de hoeveelheid drinkwater dat wordt opgenomen. Zieke dieren drinken over het algemeen langer dan dat ze eten.
- Absorptie uit drinkwater is variabel en moleculspecifiek maar gebeurt over het algemeen sneller dan uit het voeder.
- Flexibele en snelle opstart van de behandeling is mogelijk.
- Flexibele en snelle stopzetting van de behandeling is mogelijk.
- De oplosbaarheid in water is molecule specifiek en wordt bovendien beïnvloed door de waterkwaliteit en het type leiding.
- Er dient aandacht besteed te worden aan het in suspensie houden van het mengsel en de correcte werking van het doseersysteem.
- De niet geabsorbeerde en niet-gemetaboliseerde fractie wordt via feces uitgescheiden en kan blijvende selectiedruk uitoefenen in de omgeving.
- De arbeidsintensiteit van de orale behandeling via het drinkwater is minder groot dan bij parenterale behandeling maar is groter dan bij behandeling via het voeder.

Kenmerken van orale behandeling via kunstmelk:

- Wordt uitsluitend gebruikt voor groepsbehandelingen bij vleeskalveren.
- Theoretisch mogelijkheid tot gerichte behandeling van deelgroepen. In praktijkomstandigheden zijn de bedrijven hier (nog) niet voor aangepast.
- Opname door het dier varieert in functie van de hoeveelheid kunstmelk die opgenomen wordt. Dieren worden ingedeeld op drinksnelheid om gelijkmatige opname van melk te bekomen. Zieke dieren drinken minder.
- Absorptie uit melk is variabel en moleculspecifiek.
- Flexibele en snelle opstart van de behandeling mogelijk.
- Flexibele en snelle stopzetting van de behandeling is mogelijk.

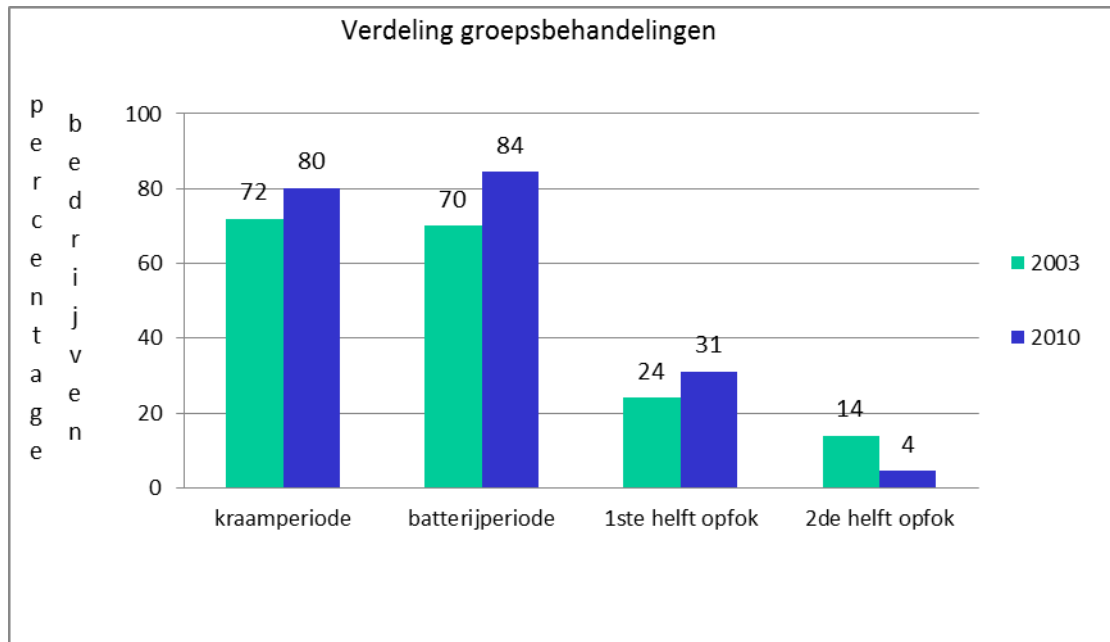
- De oplosbaarheid in melk is moleculspecifiek en wordt beïnvloed door de waterkwaliteit, melkpoedersamenstelling, type leiding en hygiënische toestand van de leidingen.
 - Het hoge calciumgehalte van melk kan zorgen voor complexvorming tussen calcium en moleculen zoals flumequine, oxytetracycline en amoxicilline. Complexvorming met ijzer is van geen praktisch belang aangezien er systematisch ijzer-arm water gebruikt wordt.
 - De pH van de kunstmelk kan een belangrijke invloed hebben op de oplosbaarheid en stabiliteit van diverse antibacteriële middelen, in het bijzonder sulfonamiden-trimethoprim, beta-lactam antibiotica en tetracyclines.
 - Er blijft meer organisch materiaal van de melk achter in de leidingen dan in het geval van drinkwater wat bacteriële groei, biofilmformatie en mogelijks ook verhoogde gehalten aan residuen van antibacteriële middelen in de melk en melkleidingen in de hand werkt.
- Dosering gebeurt door het ingieten van het antibioticumpoeder in de melkketel na aanmaak van de melk. Er worden geen doseersystemen gebruikt met uitzondering van manuele afweging.
- De niet geabsorbeerde en niet-gemetaboliseerde fractie wordt via feces uitgescheiden en kan blijvende selectiedruk uitoefenen in de omgeving.
- De arbeidsintensiteit van de orale behandeling via het kunstmelk is minder groot dan bij parenterale behandeling maar is groter dan bij behandeling via het voeder.

Groepsbehandeling via drinkwater of kunstmelk laat een flexibele manier van toediening van antibacteriële middelen toe aan selectieve groepen van dieren gedurende een zelf te bepalen duur. Het toepassen van een correcte dosering vereist een degelijke kennis van de oplosbaarheid van de antibacteriële middelen, van de drinkwateropname door de dieren, een geschikte waterkwaliteit en een goede technische instelling van de doseersystemen (en controle hierop) en van de drinkwatertoevoer naar de dieren.

3.3. Toepassing van groepsbehandeling bij de verschillende diersoorten

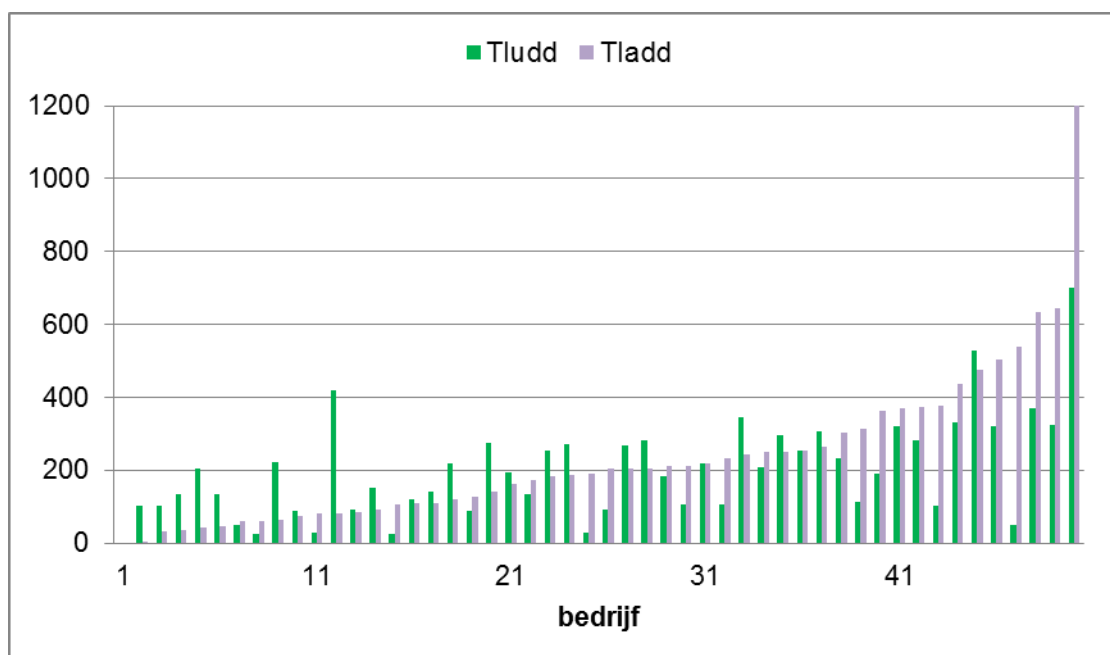
3.3.1. Bij varkens

Bij varkens worden groepsbehandelingen vooral toegepast langs parenterale weg bij zuigende biggen en langs het voeder of het drinkwater bij biggen na het spenen. Uit studies van Timmerman et al., (2006) en Callens et al., (2012) blijkt dat de meerderheid van de groepsbehandelingen bij varkens wordt toegediend in de kraamperiode en de batterijperiode (Figuur 4)



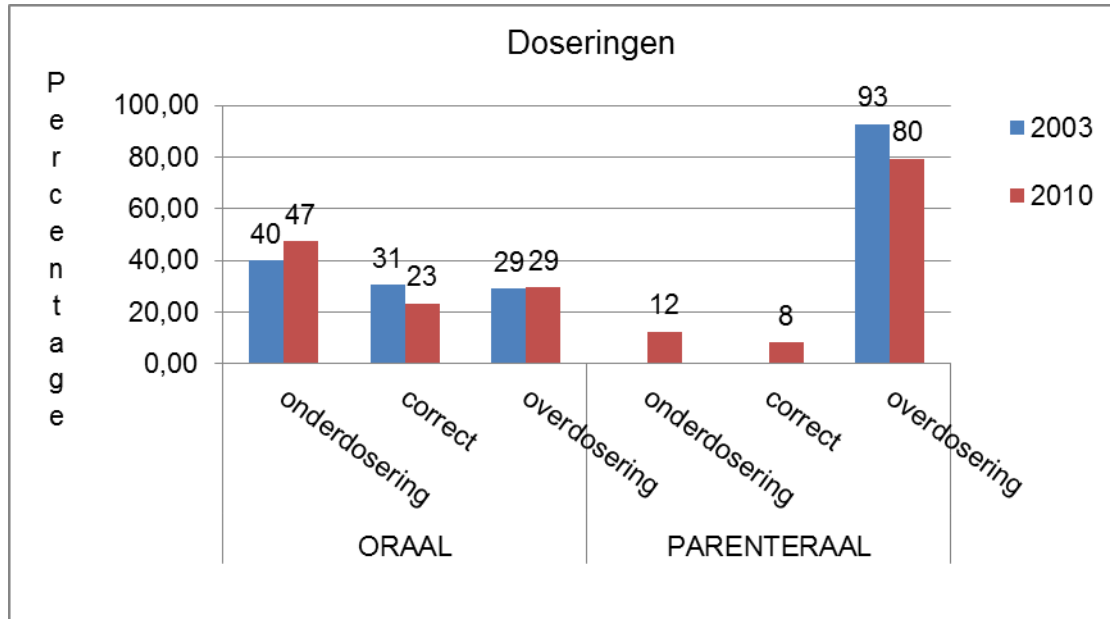
Figuur 4: Verdeling van de groepsbehandelingen met antibacteriële middelen bij vleesvarkens in 2003 (Timmerman et al., 2005) en in 2010 (Callens et al., 2012).

In de meest recente studie over groepsbehandelingen uitgevoerd in 2010 op 50 willekeurig geselecteerde varkensbedrijven in Vlaanderen (Callens et al., 2012) blijkt dat op basis van de werkelijk toegediende hoeveelheid antibiotica (Behandelingsincidentie op basis van de Used Daily Dose = BI_{DD}) er dagelijks gemiddeld 200 van de 1000 aanwezige dieren behandeld worden met één dosis antibioticum. In een vergelijkbare studie in België in 2003 was dit 170 per 1000 wat wijst op een stijging van bijna 18%. Daarnaast valt een heel grote variatie op in de behandelingsincidentie tussen de verschillende bedrijven (figuur 5) met een aantal bedrijven met een relatief beperkt gebruik aan antibiotica en een aantal bedrijven met een exuberant hoog gebruik aan antibiotica.



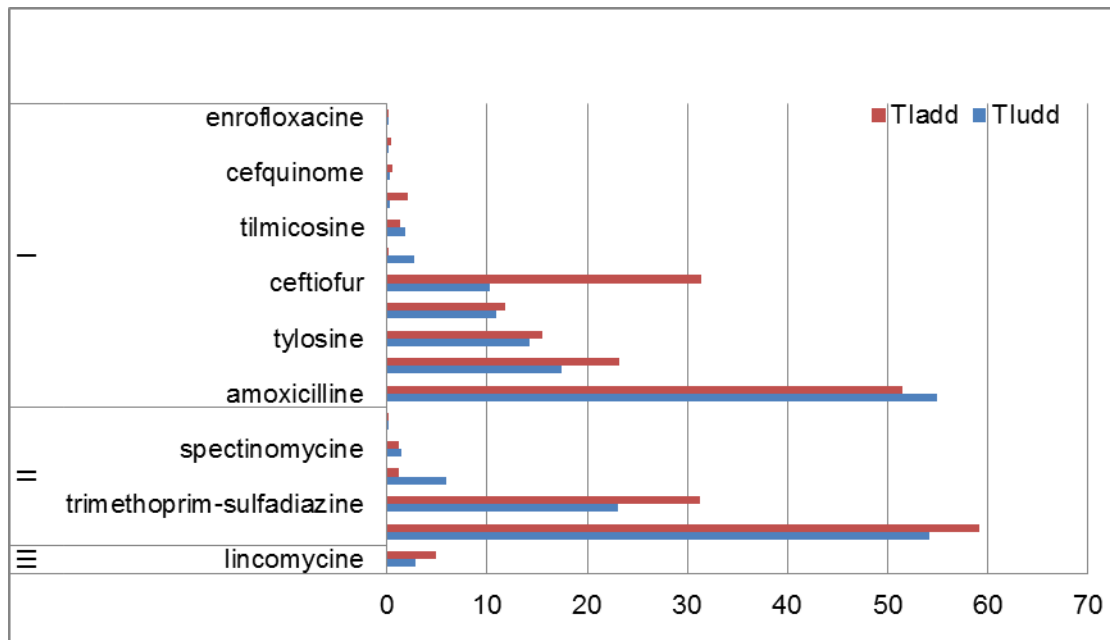
Figuur 5: Behandelingssincidentie bij 50 varkensbedrijven (Callens et al., 2012).

Wanneer de doseringsregimes worden nagegaan, blijkt dat zowel in de studie uitgevoerd in 2003 als in de studie uitgevoerd in 2010 er heel vaak foutieve doseringen worden gebruikt (figuur 6). Deze foute dosering is allicht het gevolg van het gebruik van een standaarddosis (afroonden van gewichtsklassen), gebrek aan veterinaire advies of door het verkeerd interpreteren van de bijsluiter. Ook de duur van de behandeling varieert ontzettend van één dag tot meerdere weken.



Figuur 6: Overzicht van de orale en parenterale doseringsregimes op varkensbedrijven (Callens et al., 2012).

De voornaamste redenen voor het gebruik van antibiotica zijn spijsverteringsstoornissen en streptokokken-infecties bij biggen, en ademhalingsproblemen vanaf de tweede helft van de batterijperiode. In figuur 7 worden de verschillende gebruikte moleculen opgelijst en dit volgens de onderverdeling van de wereldgezondheidsorganisatie (WHO, 2011) volgens hun belang voor de humane geneeskunde (I = critically important, II = highly important, III = important).

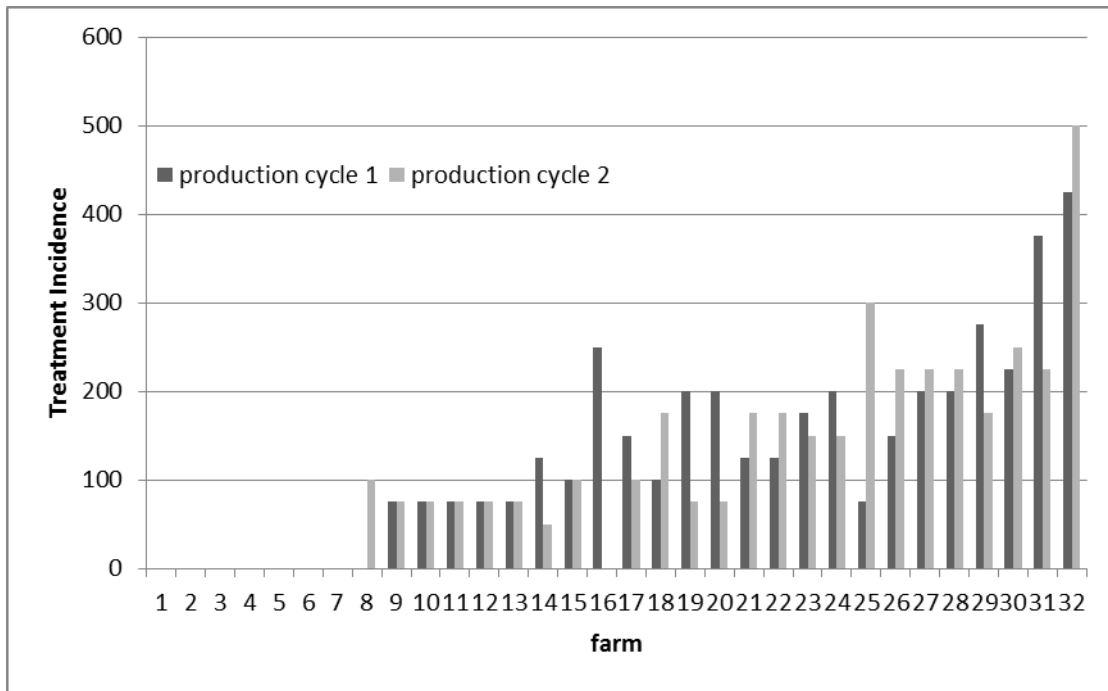


Figuur 7: Overzicht van de gebruikte antibiotica op varkensbedrijven (Callens et al., 2012)

3.3.2. Bij pluimvee

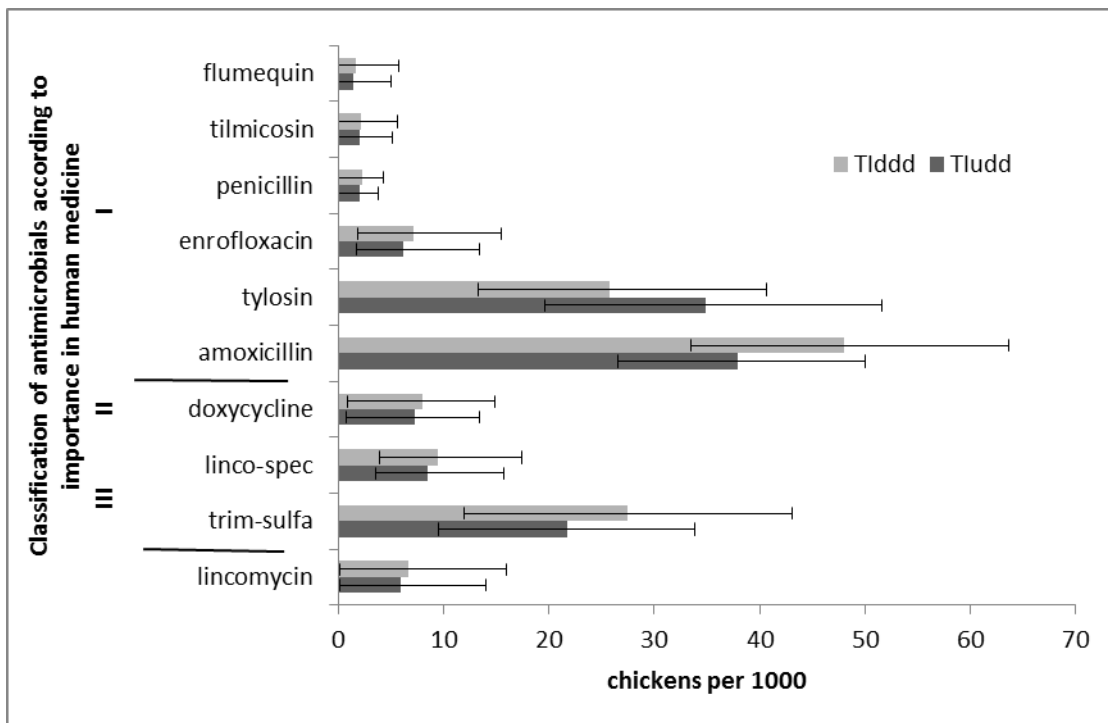
Bij pluimvee worden antibiotica vrijwel uitsluitend via groepsbehandelingen aangewend en dit zo goed als steeds via het drinkwater. Individuele behandelingen zijn immers moeilijk praktisch uitvoerbaar. De voornaamste indicaties voor antibioticumgebruik bij braadkippen zijn: necrotische enteritis en dysbacteriose, voetzool letsels, coccidiose en ademhalingsstoornissen.

Uit een recent onderzoek van Persoons et al., (2012) in 32 willekeurig geselecteerde braadkippenbedrijven in België, blijkt dat de gemiddelde dagelijkse behandelingsincidentie op basis van de werkelijk toegediende doseringen (BI_{UDD}) neerkomt op 121 dieren per 1000 aanwezige dieren. Opnieuw werd hier een bijzonder grote variatie vastgesteld tussen de bedrijven waarbij er enerzijds bedrijven zijn waar er helemaal geen antibacteriële behandelingen worden toegediend en anderzijds bedrijven waar er heel veel antibacteriële middelen worden gebruikt.



Figuur 8: Behandelingsincidentie op 32 braadkippen bedrijven (Persoons et al., 2012)

De meest frequent gebruikte middelen staan opgelijst in figuur 9.

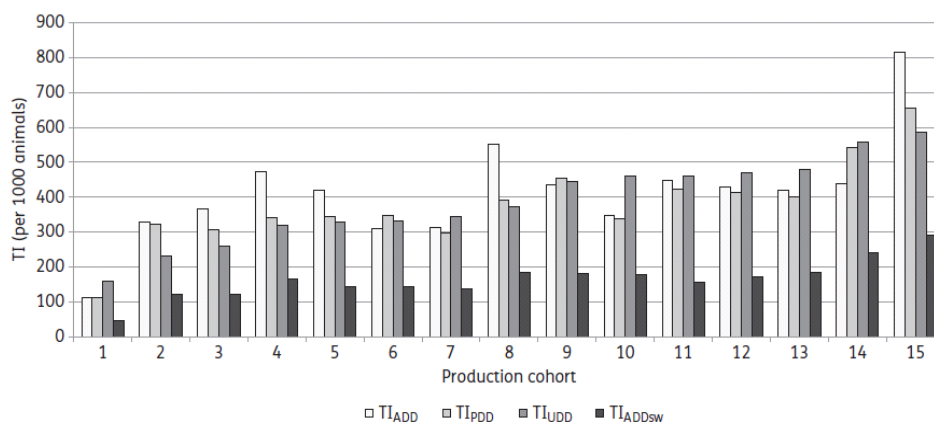


Figuur 9: Overzicht van de gebruikte antibiotica bij braadkippen (Persoons et al., 2012)

Opnieuw valt op dat er heel wat antibacteriële middelen worden gebruikt (figuur 9) die van groot kritisch belang zijn voor de volksgezondheid gebaseerd op de lijst van de wereldgezondheidsorganisatie.

3.3.3. Bij kalveren

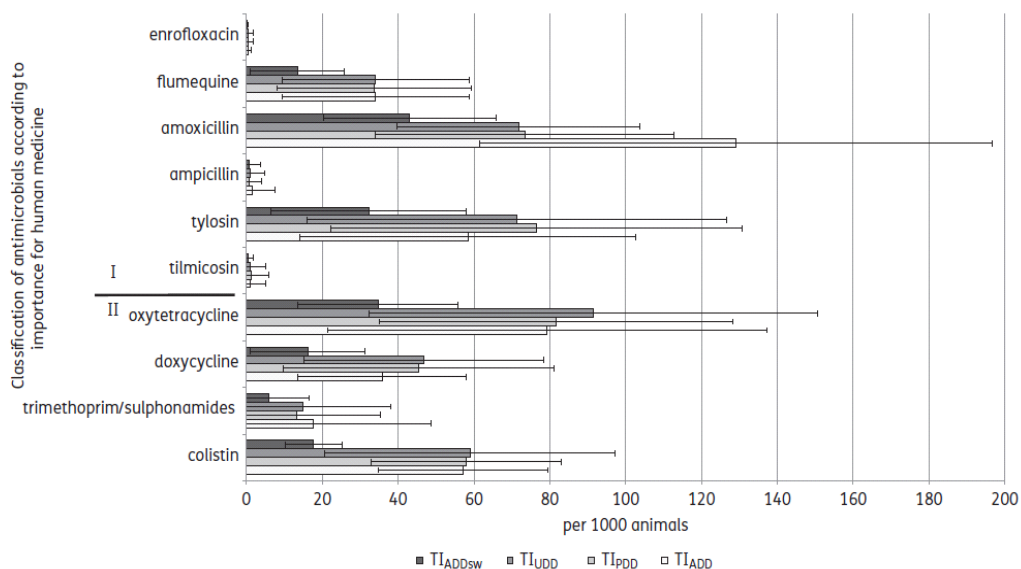
Uit een recente studie van Pardon et al., (2012) op 15 witvlees producerende kalverbedrijven blijkt dat de gemiddelde behandelingsincidentie, op basis van de werkelijk toegediende behandelingen, neerkomt op 379 dieren die dagelijks worden behandeld met een dosis antibacteriële middelen op de 1000 aanwezige dieren. Ook hier werd een relatief grote variatie tussen de bedrijven waargenomen al is die wel kleiner dan de variatie die op varkens en pluimveebedrijven wordt vastgesteld (figuur 10).



Figuur 10: Behandelingsincidentie op vleeskalverbedrijven (Pardon et al., 2012)

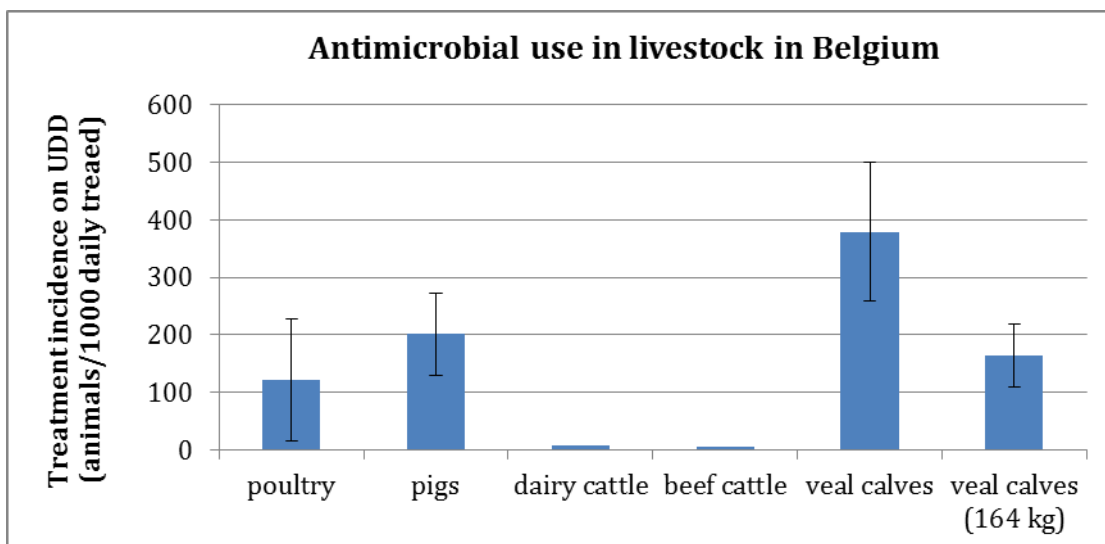
Uit deze studie blijkt eveneens dat de overgrote meerderheid van de behandelingen orale groepsbehandelingen zijn (95,8%) waarvan 12% om profylactische doeleinden en 88% om metafylactische doeleinden. De voornaamste indicaties voor groepsbehandelingen waren ademhalingsaandoeningen. Andere belangrijke indicaties zijn preventieve opzettingtherapie, diarree en dysbacteriose. De meest frequent gebruikte antibiotica zijn oxytetracycline (23,7%), amoxicilline (18,5%), tylosine (17,2%) en colistine (15,2%).

Ook hier weer worden veel β -lactam antibiotica en macroliden gebruikt die als kritisch belangrijk worden gecatalogeerd voor de volksgezondheid (figuur 11).



Figuur 11: Overzicht van de gebruikte antibiotica op vleeskalverbedrijven (Pardon et al., 2012)

Wanneer de behandelingsincidentie van de bovengenoemde diersoorten wordt vergeleken, blijkt duidelijk dat de hoogste behandelingsincidentie met antibacteriële middelen wordt waargenomen bij vleeskalveren, gevolgd door de vleesvarkens en de braadkippen (figuur 12) Pardon et al., 2012.



Figuur 12: Overzicht van het antibioticumgebruik bij nutsdieren in België (Pardon B., 2012)

3.3.4. Bij konijnen

Er zijn weinig gegevens beschikbaar over antibioticumverbruik bij konijnen in België. De voornaamste indicaties voor antibioticumgebruik bij konijnen zijn spijsverterings- en ademhalingsstoornissen.

Uit een rapport van ANSES (2012) blijkt dat in Frankrijk het antibioticumverbruik in de konijnensector aanvankelijk is gestegen tussen 1999 en 2004 en sindsdien terug verminderd is tot gelijkaardige niveaus van 1999. De meerderheid van de behandelingen gebeuren op basis van toediening van gemedicineerd voeder. In 2011 werden de konijnen hoofdzakelijk behandeld met tetracyclines en in mindere mate met aminoglycosiden, sulfamiden en trimethoprim, tiamuline en polypeptiden (colistine en bacitracine). Daar waar in 1999 de gemiddelde duurtijd van de behandeling 19,7 dagen in beslag nam is dit in 2011 gezakt tot 11,2 dagen. Dit heeft voornamelijk te maken met een overschakeling van groepsbehandeling met gemedicineerd voeder naar toediening van antibiotica via het drinkwater.

Ook bij kiemen geïsoleerd bij konijnen wordt resistentie frequent vastgesteld. Poeta et al. (2010) vonden bij 22 enteropathogene *Escherichia coli* (EPEC) stammen afkomstig van konijnen met diarree vooral resistentie tegen ampicilline en tetracycline maar ook tegen nalidixinezuur, streptomycine, trimethoprim-sulphamethoxazole, cefoxitine, gentamycine and ciprofloxacin. In intensieve konijnenhouderijen in Spanje werden 17,2% methicilline resistente *Staphylococcus aureus* geïsoleerd en werd hoge niveaus van resistentie aangetroffen tegen quinolones en sommige penicillines (Ortega et al., 2009).

3.3.5. Bij vissen

In ons land wordt aquacultuur slechts op een geringe schaal uitgevoerd en is vooral georiënteerd op de productie van zoetwatervissen. Op wereldvlak is aquacultuur evenwel een belangrijke exponentieel groeiende agro-industriële activiteit waarvan de productie in 2011 62,7 miljoen ton bedroeg (FAO, 2013).

Deze wijdverspreide en sterke groei van de aquacultuur gaat vergezeld met een stijging van het gebruik van antibacteriële agentia (Cabello et al., 2013). Het beschikken over precieze cijfers over het gebruik van antibacteriële agentia in de aquacultuur wordt bemoeilijkt door verschillende factoren waaronder de sterke uitgebreidheid van deze industrie, de grote variëteit aan kweeksystemen en de meer dan 200 betrokken aquatische soorten. Desondanks heeft men kunnen vaststellen dat het gebruik van antibacteriële agentia sterk varieert van land tot land (Caballo et al., 2013). Schattingen vermelden cijfers gaande van 0,8 tot 2 gram antibiotica per geproduceerde ton vis in Noorwegen en Zweden tot 700 gram in Vietnam (NVWA 2009, Smith, 2008) en 1,4 kg in Chili (Caballo et al., 2013). Gezien het feit dat aquacultuurproducten op wereldschaal worden verhandeld dienen producenten rekening te houden met de internationale wetgeving die betrekking heeft op aanwezigheid van residuen.

Door het groeiend besef dat antibacteriële agentia met de nodige voorzichtigheid moeten worden aangewend, is er een trend merkbaar naar een striktere wetgeving omtrent hun gebruik in de aquacultuur. In welbepaalde landen (vooral Europa, Noord-Amerika en Japan) vigeert er een strenge wetgeving over het toedienen van

antibacteriële agentia waarbij er slechts een paar zijn toegelaten (Defoirdt et al., 2011). In andere landen blijft evenwel de noodzaak voor bijsturing omtrent het gebruik van antibacteriële agentia in de aquacultuur bestaan. In België is geen enkel therapeutisch middel geregistreerd voor gebruik in de vis-, schaal- en schelpdierenteelt. Door toepassing van het cascadesysteem kunnen onder bepaalde omstandigheden toch antibacteriële middelen (die geregistreerd zijn in het buitenland) worden gebruikt. Oxytetracycline, florfenicol, sulfa/trimethoprim en quinolones worden wereldwijd meestal gebruikt voor de behandeling van bacteriële ziekten bij vissen. In een aantal landen zoals Chili kunnen ook amoxicilline, erythromycine en andere antibacteriële agentia worden aangewend (Caballo et al., 2013). Het in het verleden frequente gebruik van antibacteriële agentia in de aquacultuur heeft bijgedragen tot de verspreiding van resistentie bij aquacultuurpathogenen tegenover tetracyclines, maar ook penicillines, macroliden, quinolones, sulfonamiden, nitrofuranen, chloramfenicol en florfenicol (Defoirdt et al., 2011, Bushmann et al. 2012).

Verschillende types van aquacultuursystemen zijn in gebruik. Een belangrijk onderscheid tussen deze systemen bestaat uit het type van waterflow en bijgevolg of men te maken heeft met een open dan wel met een gesloten systeem, hetgeen in belangrijke mate de productiedensiteit, ziekteprevalentie en bijgevolg het gebruik van antibacteriële middelen zal bepalen en de gevolgen hiervan op het ecosysteem (Park et al., 2012).

Antibacteriële agentia worden in de aquacultuur meestal via het voer toegediend. Wanneer het antibacterieel agens niet in het voer wordt ingesloten vooraleer het mixen plaatsvindt en wanneer bijgevolg enkel het oppervlak van het voedsel gecoat wordt, kan zich het probleem stellen van een gebrek aan homogene verdeling van de medicatie. Dit kan aanleiding geven tot onderdosering. Bij behandeling via het voer van zieke en bijgevolg anorectische vissen, kan het gebeuren dat tot 30% van het toegediend gemedicineerd voedsel niet wordt opgenomen en in het sediment belandt nabij aquacultuursites (Caballo et al., 2013) en op enige afstand hiervan door waterstromen. De feces van de behandelde vissen die niet-geabsorbeerde antibacteriële agentia en gesecreteerde metabolieten bevatten komen eveneens op de bodem terecht (Buschmann et al., 2012). De op deze manier in het sediment aanwezige antibacteriële agentia creëren een selectiedruk voor resistentie op de bacteriën in het sediment en de bovenliggende waterkolom. De verspreiding van de resistentie naar de mens kan gebeuren via directe opname van resistente zoönotische pathogenen zoals *Salmonella* en *Vibrio* waarmee de mens in contact komt via de voeding of de besmette wateren of indirect via overdracht van resistentiegenen tussen bacteriën onderling (Park et al., 2012).

Het tegengaan van de verspreiding van resistentie naar het milieu (Bushman et al., 2012) en naar de mens is dan ook, net zoals voor de terrestrische dierproductiesystemen een belangrijk aandachtspunt voor de duurzame ontwikkeling van de aquacultuur. In dit kader is het cruciaal dat zoveel mogelijk preventief wordt gewerkt door het hanteren van goede management- en hygiënepraktijken, het optimaliseren van het welzijn en het reduceren van stress bij de dieren en het op punt stellen van alternatieve behandelingsmethodes zoals vaccins, pre- en

probiotica. Teseamen met het rationeel gebruik van antibacteriële agentia zal dit bijdragen tot het verder uitbouwen van een duurzame aquacultuur.

4. Advies

Vraag 1:

Uitgaande van het feit dat bij groepsbehandeling (van varkens, kalveren, pluimvee, konijnen of vissen) met antibacteriële middelen een doeltreffende bestrijding van infectieuze ziekten wordt nagestreefd, wat is dan de impact op resistentieselectie? Hierbij worden alle toedieningswijzen van antibacteriële middelen bij groepsbehandeling in beschouwing genomen.

Er is een overweldigende hoeveelheid bewijs dat het gebruik van antibacteriële middelen een krachtige selectiedruk uitoefent op het ontstaan van resistente bacteriën en dit zowel op het niveau van het individuele dier als op populatieniveau. De uitzonderlijke adaptieve capaciteiten van bacteriën zorgen er voor dat resistente bacteriën snel kunnen ontwikkelen en verspreiden.

Iedere behandeling met antibacteriële middelen zorgt voor een selectiedruk op de resistentiegenen van pathogene en / of commensale bacteriën. Bij groepsbehandelingen is dit fenomeen nog meer uitgesproken dan bij individuele behandelingen omdat de antibacteriële selectiedruk op alle dieren gelijktijdig wordt uitgeoefend waardoor mag verwacht worden dat dit zich vertaalt in een meer uitgebreide resistentieselectie. Er is evenwel nood aan meer onderzoek hieromtrent om deze hypothese ook in het veld aan te tonen.

Wat betreft de toedieningsweg is het moeilijk te bepalen welke te verkiezen is in functie van de minste resistentieselectie. Bijna alle studies die hierover beschikbaar zijn, beschrijven een combinatie van verschillende toedieningswegen en individuele (parenterale) behandeling versus groep (orale) behandeling. Deze studies bieden bijgevolg onvoldoende houvast om algemene en solide conclusies te trekken met betrekking tot de te verkiezen toedieningsweg. Wel kan geconcludeerd worden dat beide toedieningswegen (orale behandeling versus parenterale behandeling) een resistentieselectiedruk uitoefenen die proportioneel is aan het aantal dieren dat blootgesteld is en die bovendien lange tijd kan aanhouden in het dier en in het milieu.

Op basis van bovenstaande kan worden geconcludeerd dat geen enkele antibacteriële groepsbehandeling kan worden toegediend zonder dat er een resistentieselectiedruk optreedt. Bijgevolg is de beste manier om de resistentieselectie tegen te gaan de mate van blootstelling aan de antibacteriële middelen te doen dalen. Gezien bij groepsbehandelingen (al dan niet profylactisch) steeds meerdere dieren tegelijk een resistentieselectiedruk ondervinden, moeten deze in het bijzonder zoveel als mogelijk worden vermeden.

Vraag 2:

Met welke risicofactoren voor resistentieselectie moet rekening worden gehouden bij groepsbehandeling met antibacteriële middelen?

Geen enkele antibacteriële groepsbehandeling kan worden toegediend zonder dat er een resistentieselectiedruk optreedt. Hoe meer dieren blootgesteld worden aan de resistentieselectiedruk, hoe meer resistentie wordt waargenomen. De beste manier om de resistentieselectie tegen te gaan is bijgevolg er voor te zorgen dat zo een beperkt mogelijke groep dieren (enkel deze die de behandeling echt nodig hebben) wordt blootgesteld aan het antibacterieel middel en dit enkel gedurende de periode dat de behandeling noodzakelijk is. Dit houdt bijgevolg in dat het van groot belang is de dieren op een flexibele manier (zowel in groeps grootte als in duur van de behandeling) te kunnen behandelen wanneer noodzakelijk. Dit houdt eveneens in dat het ten zeerste afgeraden is systematisch (profylactische) groepsbehandeling toe te passen waarbij grote groepen dieren gedurende lange tijd onder selectiedruk met antibacteriële middelen worden geplaatst.

Bijgevolg zijn de risicofactoren voor resistentieselectie die werden geïdentificeerd voornamelijk gerelateerd aan de keuze van het antibacterieel middel en de daaruit volgende farmacologische eigenschappen van de verschillende toedieningsvormen en aan de geringe arbeidsintensiteit en flexibiliteit die gepaard gaat met bepaalde toedieningswegen.

Voor wat de keuze van het te gebruiken antibacterieel middel betreft wordt verwezen naar de gidsen zoals o.a. opgesteld door het AMCRA met betrekking tot de te gebruiken antibacteriële middelen bij specifieke infectieuze aandoeningen bij specifieke diersoorten dit ter vermijding van resistentieselectie.

Wanneer we de verschillende vormen van groepsbehandelingen beschouwen dan kan een rangschikking gemaakt worden met betrekking tot het verwachte effect op de resistentieselectie gaande van de meest flexibele groepsbehandeling met de minste impact op de volledige microflora van het dier tot de minst flexibele toedieningsweg met de grootste impact op de microflora en het milieu.

De meest gerichte groepsbehandeling, namelijk de droogzettherapie bij melkvee, is een lokale behandeling waarbij de toegediende antibiotica geen systemische werking beogen en bijgevolg nauwelijks selectiedruk uitoefenen op de commensale flora. Bij deze behandeling wordt ieder dier individueel behandeld met een vooraf bepaalde dosis waarvan men zeker is dat ze volledig wordt toegediend. Ondanks het lokale karakter van de behandeling zal deze evenwel een selectiedruk uitoefenen op de bacteriën die in de uier aanwezig zijn en aldus ook resistentieselectie in de hand werken. Bijgevolg is het ook aangeraden deze vorm van groepsbehandeling enkel toe te passen indien absoluut noodzakelijk en na te gaan of geen alternatieven zoals selectief droogzetten zonder antibiotica mogelijk zijn.

Een tweede vorm van groepsbehandeling betreft de parenterale behandeling. Hierbij kan men op een flexibele manier bepalen welke dieren moeten behandeld worden en

hoe lang de behandeling moet aangehouden worden in functie van de klinische genezing van de dieren (tenzij er langwerkende producten worden toegediend). Een parenterale behandeling beoogt een systemische werking en zal aldus ook een selectiedruk uitoefenen op de commensale bacteriën aanwezig in het dier. In vergelijking met orale behandelingen is de biologische beschikbaarheid evenwel meestal aanzienlijk hoger waardoor er minder antimicrobieel middel noodzakelijk is om hetzelfde effect te verkrijgen en de impact op de intestinale flora slechts indirect is. Een bijkomend voordeel van de parenterale behandeling (in vergelijking met de orale behandeling) is dat alle dieren de juiste dosis krijgen (ook de anorectische) en dat het arbeidsintensieve karakter ervan onnodig gebruik tegenwerkt. Nadeel is dan weer de mogelijkheid van iatrogene infectieoverdracht en mogelijke dierenwelzijnsaspecten. Het is bijgevolg van belang dat iedere injectie op een diervriendelijke en hygiënische manier wordt toegediend.

Op de derde plaats in de rangschikking staan de orale groepsbehandelingen. Hierbij kan een onderscheid gemaakt worden tussen orale behandelingen in drinkwater/melk of orale behandelingen via voeder al dan niet ingemengd in de mengvoederfirma (gemedicineerd voeder).

Alle orale behandelingen hebben als nadeel dat ze in sterke mate inwerken op de intestinale flora en aldus heel wat resistentieselectie kunnen veroorzaken bij de commensale kiemen in het spijsverteringsstelsel. Daarnaast is de absorptie en biologische beschikbaarheid vaak relatief laag en steeds variabel tussen de dieren waardoor enerzijds een grotere dosis dient toegediend te worden om voldoende werking te bekomen en anderzijds een aanzienlijk deel van de toegediende antibacteriële middelen niet geresorbeerd worden en via de feces in het milieu terecht komen.

Orale behandelingen via drinkwater en kunstmelk zullen over het algemeen sneller geresorbeerd worden en biologisch beschikbaar zijn dan wanneer ze via het voeder worden toegediend. Ze zijn relatief flexibel inzetbaar in de zin dat men makkelijker beperkte groepen dieren kan behandelen door de drinkwaterlijn te onderbreken en een doseersysteem tussen te plaatsten en men op ieder moment kan beslissen om de behandeling op te starten (eerste waarneming klinische symptomen) en weer te stoppen (bij genezing). Ze hebben bovendien als voordeel in vergelijking met voedermedicatie dat zieke dieren langer blijven drinken dan eten. Drinkwater- of kunstmelk medicatie vergt werk en aandacht van de veehouder wat een drempelverhogend effect heeft en onnodig gebruik afremt. Wel is het van het grootste belang bij drinkwatermedicatie aandacht te besteden aan de wateropname om op basis daarvan de juiste dosis te kunnen bepalen. Eveneens dient het doseersysteem goed afgesteld te zijn en moet de kwaliteit van het drinkwater en het drinkwatersysteem gecontroleerd worden (regelmatig reinigen) om neerslag en verstoppingen tegen te gaan.

Orale behandelingen via gemedicineerd voeder ingemengd op het bedrijf (via mobiele doseersystemen op de voederlijnen) hebben een vergelijkbare flexibiliteit als drinkwatermedicatie zoals hoger beschreven. Ook hier is het van belang de kwaliteit en reinheid van de voederleidingen na te gaan om ontmenging en neerslag van de

antibacteriële middelen tegen te gaan. Ook bij de mobiele doseersystemen moet de correctheid van dosering gecontroleerd worden en moeten de toegediende dosissen in overeenstemming zijn met de voederopnamen van de behandelde dieren.

Vanuit het oogpunt van het beperken van de resistentieselectie is de minst flexibele en minst efficiënte groepsbehandeling deze via gemedicineerde voeders die reeds in het mengvoederbedrijf worden ingemengd. Deze vorm van groepsbehandeling heeft, naast de eerder reeds aangehaalde beperkingen van orale medicatie met betrekking tot de biologische beschikbaarheid en de impact op de intestinale flora, bovendien ook nog eens de beperking van bijzonder rigide te zijn. Behandelingen kunnen enkel opgestart worden indien de aanwezige voedervoorraad eerst leeg is en dus niet in functie van het optreden van klinische symptomen. De behandeling kan ook niet gestopt worden wanneer er genezing is opgetreden maar zal doorgaan zolang de voorraad gemedicineerd voeder niet volledig opgebruikt is. Ook zullen steeds alle hokken die op dezelfde voederlijn zijn aangesloten behandeld worden en is het zo goed als uitgesloten om beperkte groepen dieren te behandelen.

Door de veelvuldige stappen (transport, lossen in de silo, opslag, transport op het bedrijf,...) zijn er heel wat kansen tot ontmenging wat de correctheid van dosering die in principe aanwezig is op het moment van productie in het gedrang kan brengen. Ook de stofvorming op basis van het gemedicineerd voeder houdt een risico in voor dier en mens.

Deze vorm van groepsbehandelingen wordt door zijn gebrek aan flexibiliteit vooral toegepast bij strategische profylactische groepsbehandelingen die steeds opnieuw terugkomen zonder dat voorafgaand een etiologische diagnose gesteld werd. Deze praktijk is in strijd met het 'voorzichtig gebruik' van antibacteriële middelen hetgeen een hoeksteen is ter beperking van de selectie van resistentie. De profylactische groepsbehandelingen zijn bij uitstek de groepsbehandelingen waarvan wordt geoordeeld dat zij zouden moeten vermeden worden en vervangen dienen te worden door preventief hygiënische en/of management maatregelen. De totale afwezigheid van arbeid voor de veehouder zorgt bovendien voor een zeer laagdrempelige instap wat onnodig behandelen en overconsumptie van antibacteriële middelen in de hand werkt.

5. Conclusies

Vanuit het oogpunt van het beperken van de antibioticumresistentieselectie dient in eerste instantie zoveel als mogelijk vermeden te worden dat groepsbehandelingen met antibacteriële middelen toegediend worden. In het bijzonder de profylactische of preventieve behandelingen en de langdurige behandelingen dienen vermeden te worden.

Voor wat betreft het effect van de verschillende behandelingsvormen op de resistentieselectie is er weinig specifieke wetenschappelijke informatie voorhanden die toelaat duidelijke conclusies te trekken over de te verkiezen behandelingsroute. Op basis van de beschikbare informatie gaat, wanneer men groepsbehandelingen toedient, de voorkeur uit naar lokale of parenterale behandeling boven orale behandeling.

Het grootste effect in de preventie van resistentieselectie kan verwacht worden door de blootstelling aan antibacteriële middelen te beperken. Vandaar is het van belang te kiezen voor deze vormen van medicatie die op een gerichte en flexibele manier kunnen ingezet worden zodat enkel en alleen de groep dieren die de behandeling effectief nodig heeft, wordt behandeld en zo weinig mogelijk gezonde dieren mee behandeld worden.

Op basis van deze argumentatie werd een rangschikking opgesteld in de mogelijke vormen van groepsbehandeling waarbij verwacht wordt dat de lokale groepsbehandeling de minste nadelige effecten met zich meebrengt, gevolgd door de parenterale groepsbehandeling. De orale groepsbehandelingen worden bij voorkeur vermeden maar indien ze alsnog dienen toegepast te worden, wordt de voorkeur gegeven aan orale medicatie via drinkwater of kunstmelk of orale medicatie via voeder ingemengd op het landbouwbedrijf zelf.

Gezien de vele nadelen van orale groepsbehandeling via het voeder en de grote inflexibiliteit en laagdrempeligheid van het gebruik van gemedicineerde voeders aangemaakt in het mengvoederbedrijf is het Wetenschappelijk Comité van oordeel dat deze vorm van groepsbehandeling bij voorkeur niet meer wordt toegepast.

6. Aanbevelingen

Het Wetenschappelijk Comité beveelt als algemene regel om zoveel mogelijk groepsbehandeling te vermijden en in te zetten op dierenziektepreventie.

Indien groepsbehandelingen toch worden toegepast dan is dit de volgorde van wenselijkheid:

- Lokale behandeling (indien mogelijk)
- Parenterale behandeling
- Orale behandeling via drinkwater of kunstmelk
- Orale behandeling via voeder op het bedrijf zelf ingemengd.

Gezien de vele nadelen van orale voedermedicatie en de grote inflexibiliteit en laagdrempeligheid van het gebruik van gemedicineerde voeders (aangemaakt in het mengvoederbedrijf) is het Wetenschappelijk Comité van oordeel dat deze vorm van groepsbehandeling bij voorkeur niet meer wordt toegepast.

Daarnaast beveelt het Wetenschappelijk Comité aan dat meer onderzoek zou worden verricht naar:

- de relatie tussen de verschillende toedieningswegen en de resistentieselectie zonder interferentie met individuele en groepsbehandelingen
- alternatieven voor antibioticumgebruik ter preventie en bestrijding van infectieziekten bij nutsdieren,
- het risico van biocidegebruik in veehouderijen op antibacteriële resistentieselectie.

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Em. Dr. Pharm. C. Van Peteghem
Brussel, 25/09/2013 (Get.)

Referenties

- Acar J.F., Moulin G. Antimicrobial resistance: a complex issue. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 2012, 31,1, 21-31.
- AMCRA 2012. Het gebruik van zinkoxide (ZnO) bij gespeende biggen in België ter preventie van speendiarrée.
<http://www.amcra.be/sites/default/files/bestanden/advies%20ZnO%20gespeende%20biggen%20-%20finaal%20-%20NL.pdf>
- Andersson D.I., Hughes D. Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations. Fems. Microbiol. Rev., 2011, 35, 5, 901-911.
- ANSES 2012 – Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2011. Pages 27-29.
- ANSES 2013 – Avis relatif à l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques.
- Baquero F. and Negri M. 1997, Strategies to minimize the development of antibiotic resistance. J. Chemother, 9, 3, 29-37.
- Beaber, J.W, Hochhut, B., Waldor, MK. 2004. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes, Nature, 427, p 72-74.
- Berge A., Epperson W., Pritchard R., 2005. Assessing the effect of a single dose florfenicol treatment in feedlot cattle on the antimicrobial resistance patterns in faecal *Escherichia coli*. Vet. Res.36:723–734.
- Berge A., Moore D., Sicho W. 2006. Field trial evaluating the influence of prophylactic and therapeutic antimicrobial administration on antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* in dairy calves. Appl. Environ. Microbiol., 72, 3872–3878.
- Brennan J., Bagg, R., Barnum, D., Wilson J., Dick P. 2001. Efficacy of narasin in the prevention of necrotic enteritis in broiler chickens. Avian Dis, 45, 1, 210-214.
- Bos, C.E., Verwerking van diergeneesmiddelen in drinkwater en voeding. 1994, A.U.V.
- Boyen F., Pasmans F., Butaye P., Haesebrouck F. 2012. Antimicrobial resistance: a multifaceted phenomenon. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 81, 266-273.
- Bushmann H., Tomova A., Lopez A., Maldonado M., Henriquez L., Ivanova L., Moy F., Godfrey H., Cabello F. Salmon aquaculture and antimicrobial resistance in the marine environment. Plos One, 2012, 7, e42724.
- Butaye, P; Devriese, LA; Goossens, H; Leven, M., Haesebrouck, F. 1999. Enterococci with acquired vancomycin resistance in pigs and chickens of different age groups. Antimicrobial agents and chemotherapy, Vol. 43, P 365-366.
- Cabello F., Godfrey H., Tomova A., Ivanova L., Dölz H., Millanao A., Bushmann A. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. Environmental Microbiology 2013, doi:10.1111/1462-2920.12134
- 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.

Callens B., Haesebrouck F., Maes D., Butaye P., Dewulf J., Boyen F. Clinical resistance and decreased susceptibility in *Streptococcus suis* isolates from clinically healthy fattening pigs. *Microb. Drug Resist.* 2013, 19 (2), 146-151.

Cantón R., Morosini M. 2011. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiol Rev.*, 35 (5), 977-991.

Casteleyn, C., Dewulf, J., Catry, B., de Kruif, A., Maes, D., 2006, Antibioticumresistentie in *Escherichia Coli* bij landbouwhuisdieren, Hazen, septisch materiaal en oppervlaktewater in Vlaanderen. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 75, 23-30.

Catry, B., Dewulf, J., Goffin, T., Decostere, A., Haesebrouck, F., de Kruif, A., 2007 Antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* through the digestive tract of veal calves. *Microbial drug resistance epidemiology and disease*, 13, p147-150.

Chantziaras, I, Boyen, F., Callens, B., Dewulf, J., 2013. Linking antimicrobial use and antimicrobial resistance in veterinary medicine at national level: is there a measurable correlation? Report on 7 European countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, provisionally accepted.

Checkley L., Campbell J., Chirino-Trejo M., Janzen E., Waldner C. 2010. Associations between antimicrobial use and the prevalence of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from feedlot cattle in western Canada. *Can. Vet. J.*, 51, 853-861.

CloECKAERT A. and ChASLUS-DANCLA E. Mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella*. *Vet Res.* 2001, 32, 291-300.

Council of the European Union. Council conclusions on the impact of antimicrobial resistance in the human health sector and in the veterinary sector – a “One Health” perspective. 3177th EMPLOYMENT, SOCIAL POLICY, HEALTH and CONSUMER AFFAIRS Council meeting, Luxembourg, 22 June 2012

Courvalin P. 2008. Can pharmacokinetic-pharmacodynamic parameters provide dosing regimens that are less vulnerable to resistance? *Clin. Microbiol. Infect.*, 14, 11, 989-994.

Da Costa P., Bernardo F. 2008 Effects of antimicrobial treatment on selection of resistant *Escherichia coli* in broiler fecal flora. *Micro Drug Resist.* 14(4):299-306.

Davin-Regli A., Pagès J.-M. Cross-resistance between biocides and antimicrobials : an emerging question. *Rev.sci.tech. Off. Int. Epiz.*, 2012, 31 (1), 89-104.

D'Costa V., King C., Kalan L., Morar M., Sung W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G., Poinar H., Wright G. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011, 477(7365):457-61. doi: 10.1038/nature10388.

Defoirdt T., Sorgeloos P., Bossier P. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Current Opinion in Microbiology* 2011, 14:251–258

De Lathouwers C., Okerman L., De Zutter L. Detectie van antibiotica in gemedicineerd drinkwater: validatie en praktische toepassing van een aangepaste microbiologische inhibitietest. *VI. Diergeneeskundig T.*, 2009, 78, 249-255.

DeRyke C.A., Lee S.Y., Kuti J.L., Nicolau D.P. 2006. Optimising dosing strategies of antibacterials utilising pharmacodynamic principles: impact on the development of resistance. *Drugs*, 66, 1, 1-14.

Dewulf, J., Catry, B., Timmerman, T., Opsomer, G., de Kruif, A., Maes, D. 2007. Tetracycline-resistance in lactose-positive enteric coliforms originating from Belgian fattening pigs: degree of resistance, multiple resistance and risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 78. 339-351.

- Dunlop R.H., McEwen S.A., Meek A.H., Clarke R.C., Black W.D., Friendship R.M. 1998. Associations among antimicrobial drug treatments and antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* of swine on 34 farrow-to-finish farms in Ontario, Canada. *Prev Vet Med.*, 34 (4), 283-305.
- Feld, L., Schjorring, S., Hammer, K., Licht, TR., Danielsen, M., Krogfelt, K., Wilcks, A., 2008 Selective pressure affects transfer and establishment of a *Lactobacillus plantarum* resistance plasmid in the gastrointestinal environment. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 61, 845-852.
- FAO Fisheries and Aquaculture Department, 2013. Global Aquaculture Production Statistics for the year 2011 [online].
<ftp://ftp.fao.org/FI/news/GlobalAquacultureProductionStatistics2011.pdf>
- Folia Veterinaria, 2002, 3. Beïnvloeden resistenties tegen antibacteriële substanties de therapiekeuze in het bijzonder bij respiratoire aandoeningen bij het varken?
- Folia Veterinaria, 2012, 2, 1-5. "Snel, krachtig en lang", een oude raad die nog steeds geldt volgens de nieuwe wetenschappelijke inzichten in de antibacteriële therapie. <http://www.cbip-vet.be/nl/nlinfos/nlfolia/12FVN2a.php>
- Folia Veterinaria, 2013, 1. Aanbevelingen voor het gebruik van pleuromutilines in de diergeneeskunde.
- Gradel K., Randall L., Sayens A., Davies R. Possible associations between *Salmonella* persistence in poultry houses and resistance to commonly used disinfectants and a putative role of mar. *Vet. Microbiol.*, 2005, 107, (1-2): 127-138.
- Gronvold A., Mao Y., L'Abée-Lund T., Sorum H., Sivertsen T., Yannarell A., Mackie R. Fecal microbiota of calves in the clinicla setting : effect of penicillin treatment. *Vet. Microbiol.*, 2011, 153 (3-4) : 354-360.
- Guggenbichler J., Kofler J., Allerberger F. The influence of third-generation cephalosporins on the aerobic intestinal flora. *Infection*, 1985, 13, Suppl. 1:S 137-139.
- Gulberg E., Cao S., Bert O.G., Ilbäck C., Sandegrem L., Hughes D., Andersson D.I. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *Plos. Pathog*, 2011, 7 (7), e 1002158.
- Hamscher G., Pawelzick H., Sczesny S., Nau H., Hartung J. Antibiotics in dust originating from a pig-fattening farm: a new source of health hazard for farmers? *Environ Health Perspect.* 2003, 111 (13): 1590–1594.
- Inglis GD, McAllister TA, Busz HW, Yanke L.J., Morck D., Olson M., Read R. Effects of subtherapeutic administration of antimicrobial agents to beef cattle on the prevalence of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter hyointestinalis*. *Appl Environ Microbiol* 2005, 71, 3872–3881.
- Karatzas KA, Webber MA, Jorgensen F, Woodward MJ, Piddock LJ, Humphrey TJ. Prolonged treatment of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with commercial disinfectants selects for multiple antibiotic resistance, increased efflux and reduced invasiveness. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:947-55.
- Karatzas KA, Randall LP, Webber M, Piddock LJ, Humphrey TJ, Woodward MJ, et al. Phenotypic and proteomic characterization of multiply antibiotic-resistant variants of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium selected following exposure to disinfectants. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74:1508-16.

Khachatryan A., Besser T., Hancock D., Call D. Use of nonmedicated dietary supplement correlates with increased prevalence of streptomycin-sulfa-tetracyclin-resistant *Escherichia coli* on a dairy farm. *Applied Environmental Microbiology* 2006, 72, 7, 4583-4588.

Koningstein M., Simonsen J., Helms M., Molbak K. The interaction between prior antimicrobial drug exposure and resistance in human *Salmonella* infections. *J. Antimicrob Chemother.* 2010, 65 (8): 1819-1825.

Lanckriet A., Timbermont L., De Gussem M., Marien M., Vancraeynest D., Haesebrouck F., Ducatelle R., Van Immerseel F. 2010. The effect of commonly used anticoccidials and antibiotics in a subclinical necrotic enteritis model. *Avian Pathol*, 39, 1, 63-68.

McMurry L., Oethinger M., Levy S. Triclosan targets lipid synthesis. *Nature* 1998, 394, 531-532.

Miao V. in Keen P. and Montforts M. *Antimicrobial resistance in the environment*. 2012. Ed. Wiley Blackwell

Murphy M.W., Sanderson W.T., Vargo J.D. 2007. Airborne antibiotic concentrations in a swine feeding operation. *J Agric Saf Health.*,13 (4), 357-366.

Muylaert A. and Mainil J. Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.*, 2013, 156, 109-123.

Nickel J., White B., Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. *Vet. Clin. N. Am. (Food Anim Pract)*, 2010, 26, 2, 285-301.

OIE 2007 – List of antimicrobials of veterinary importance

Olofsson S. and Cars O. Optimizing drug exposure to minimize selection of antibiotic resistance. *Clin. Infect. Dis.* 2007, 45, Suppl 2, S129-136.

Ortega C., Simn M., Alonso J., Mateo A. Characterisation and public health risks of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* in intensive rabbit breeding. *Rev. Sci. Tech.* 2009, 28, 1119-1128.

Page S.W., Gautier. 2012. Use of antimicrobial agents in livestock. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 31, 1, 145-188.

Pardon B., Catry B., Dewulf J., Persoons D., Hostens M., De Bleecker K., Deprez P. 2012. Prospective study on quantitative and qualitative antimicrobial and anti-inflammatory drug use in white veal calves. *J. Antimicrob Chemother.*, 67, 1027-1038.

Park YH, Hwang SY, Hong MK, Kwon KH. Use of antimicrobial agents in aquaculture. *Rev Sci Tech. Off. Int. Epiz.*, 2012, 31(1):189-97.

Persoons, D., Dewulf, J., Smet A., Herman L., Heyndrickx M., Martel A., Catry, B., Butaye P., Haesebrouck F., 2010, Prevalence and Persistence of Antimicrobial Resistance in Broiler Indicator Bacteria. *Microbial Drug Resistance*, Vol 16, p 67-74.

Persoons D., Dewulf J., Smet A., Herman L., Heyndrickx M., Martel A., Catry B., Butaye P., Haesebrouck F. 2012. Antimicrobial use in Belgian broiler production. *Prev. Vet. Med.*, 105, 320-325.

Peyrat MB, Soumet C, Maris P, Sanders P. Phenotypes and genotypes of campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses. *Vet Microbiol* 2008; 128:313-26.

Poeta P., Radhouani H., Gonçalves A., Figuerido N., Carvalho C., Rodrigues J. Igrejas G. Genetic characterization of antibiotic resistance in enteropathogenic *Escherichia coli* carrying

extended-spectrum beta-lactamases recovered from diarrhoeic rabbits. *Zoonoses and Public Health* 2010, 57, 3, 162-170.

Rérat M., Albin S., Jaquier V, Hüsey D. 2012. Bovine respiratory disease : efficacy of different prophylactic treatments in veal calves and antimicrobial resistance of isolated Pasteurellaceae. *Prev. vet. Med.* 103,4, 265-273.

Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) 2009. – Opinion on the antibiotic resistance effect of biocides. Adopted by the SCENIHR on 19 January 2009. Directorate-General for Health and Consumers, European Commission, Brussels.

Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) 2010. – Opinion on: triclosan antimicrobial resistance. Adopted by the SCCs on 22 June 2010. Directorate-General for Health and Consumers, European Commission, Brussels.

Stamey T., Bragonje J. Resistance to nalidixic acid. A misconception due to underdosage. *JAMA* 1976, 236 (16): 1857-1860.

Taylor J., Fulton R., Lehenbauer T., Step D., Confer A. 2010. The epidemiology of bovine respiratory disease. What is the evidence for preventive measures? *Can. Vet. J.*, 51, 12, 1351-1359.

Timmerman, T., Dewulf, J., Catry, B., Feyen, B., Opsomer, G., de Kruif, A., Maes, D. 2006. Quantification and evaluation of antimicrobial-drug use in group treatments for fattening pigs in Belgium. *Preventive Veterinary Medicine*, 74, 251-263.

Smith P. Antimicrobial resistance in aquaculture. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, 2008, 27, 243-264.

van der Horst M., Schuurmans J., Smid M., Koenders B., ter Kuile B. De novo acquisition of resistance to three antibiotics by *Escherichia coli*. *Microbial. Drug Resistance*, 2011, Vol 17, 2, 141-150.

van Krimpen, M.M., *Vergelijking medicijndoseersystemen voor koppels varkens*. 2005, Animal Sciences Group, Wageningen UR.

WHO, 2011. Critical important antimicrobials for human medicine.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77376/1/9789241504485_eng.pdf

Wiuff C. Lykkesfeldt J., Aarestrup F., Svendsen O. Distribution of enrofloxacin in intestinal tissue and contents of healthy pigs after oral and intramuscular administration. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2002, 25 (5), 335-342.

Wiuff C., Lykkesfeldt L., Svendsen O., Aarestrup F. The effects of oral and intramuscular administration and dose escalation of enrofloxacin on the selection of quinolone resistance among *Salmonella* and coliforms in pigs. *Res. Vet. Science* 2003, 75, 185-193

Wooldridge M. Evidence for the circulation of antimicrobial resistant strains and genes in nature and especially between humans and animals. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 2012, 31 (1), 231-247.

Wright, G.D. 2010. Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it? *BMC Biology*, 8, 123.

Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden:

D. Berkvens, A. Clinquart, G. Daube, P. Delahaut, B. De Meulenaer, L. De Zutter, J. Dewulf, P. Gustin, L. Herman, P. Hoet, H. Imberechts, A. Legrève, C. Matthys, C. Saegerman, M.-L. Scippo, M. Sindic, N. Speybroeck, W. Steurbaut, E. Thiry, M. Uyttendaele, T. van den Berg, C. Van Peteghem

Belangenconflict

Er werden geen belangenconflicten vastgesteld.

Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt de Stafdirectie voor risicobeoordeling en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerp advies. De werkgroep was samengesteld uit:

Leden Wetenschappelijk Comité	J. Dewulf (verslaggever), H. Imberechts, P. Gustin
-------------------------------	--

Externe experts	D. Maes (UGent), B. Pardon (UGent), A. Martel (UGent), F. Boyen (UGent), P. Bossier (UGent), P. De Backer (UGent), J. Mainil (Ulg), L. Laurier (FAGG), P. Butaye (CODA), A. Decostere (UGent)
-----------------	---

Wettelijk kader van het advies

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8;

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen;

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 09 juni 2011.

Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.