



Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2013 – 2014

ANTIBIOTICAREDUCTIE BIJ GESPEENDE BIGGEN DOOR ZUREN

**Cederic Sucaet**

Promotor: Prof. dr. ir. Dirk Fremaut

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van  
Master of Science in de biowetenschappen: land- en tuinbouwkunde





Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2013 – 2014

ANTIBIOTICAREDUCTIE BIJ GESPEENDE BIGGEN DOOR ZUREN

**Cederic Sucaet**

Promotor: Prof. dr. ir. Dirk Fremaut

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van  
Master of Science in de biowetenschappen: land- en tuinbouwkunde

## **Auteursrechtelijke bescherming**

De masterproef wordt auteursrechtelijk beschermd. Dit houdt in dat elk gebruik omtrent het aanhalen van resultaten van de masterproef enkel kan gebruikt worden mits uitdrukkelijke bronvermelding.

“De auteur en de promotor geven de toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen van de scriptie te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron uitdrukkelijk te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze scriptie.”

“The author and the promoter give the permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subject to the copyright laws, more specifically the source must be extensively specified when using the results from this thesis”.

6 juni 2014

# VOORWOORD

Het maken van een masterproef is een langdurig proces dat bloed, zweet en tranen kost. Het is een proces dat moet worden doorlopen. Alles begint bij het samenzitten en het nadenken over de proefopzet. Hoe men het onderwerp zal uitwerken en uiteindelijk de uitwerking zal uitvoeren. Omdat dit een project is van lange duur waar veel inspanning wordt voor geleverd wil ik graag iedereen bedanken die aan de realisatie van deze masterproef heeft bijgedragen.

In de eerste plaats zou ik daarom graag mijn promotor Prof. dr. ir. D. Fremaut bedanken voor de begeleiding tijdens deze masterproef.

Daarnaast zou ik graag Steven Haerinck bedanken die het als verkoper van Selko pH heeft mogelijk gemaakt deze proef uit te voeren. Ook wil ik hem bedanken wat betreft de informatie die ik heb ontvangen voor de literatuurstudie en de begeleiding bij de proef. Selko wil ik in het bijzonder danken voor het ter beschikking stellen van hun product.

Een bijzonder woord van dank aan mijn neef Wim Aelvoet voor het ter beschikking stellen van zijn bedrijf. Daarnaast wil ik hem zeker bedanken voor de hulp en het meedenken bij het praktisch gedeelte van de proef. Het was een aangename samenwerking waar ik praktisch veel heb bijgeleerd over de varkenshouderij in het algemeen.

Ook dr. ir. K. Audenaert en Prof. dr. ir. D. Fremaut voor de hulp bij de statistische verwerking van de resultaten.

Een groot woord van dank gaat hierbij zeker uit naar mijn ouders, die mij de mogelijkheid hebben gegeven deze studies aan te vatten. Tevens wil ik mijn zus bedanken die mij steeds een positieve stimulans gaf door het uitvoeren van dezelfde studies.

Ook wil ik mijn klasgenoten bedanken voor de fijne tijd aan de Hogeschool en Universiteit Gent. Als laatste, maar niet in het minst, wil ik mijn vriendin Katinka bedanken voor het vele geduld bij het uitvoeren van mijn studies en de onvoorwaardelijke steun. Goede vriend Jasper wil ik bedanken voor het blijven geloven in het slagen van deze studies.

## ABSTRACT

Het preventief gebruik van antibiotica in de Belgische varkenshouderij is hoog. Antibiotica zijn in trek omwille van het eenvoudig gebruik en de goede resultaten die ze opleveren, het is een zekerheid voor landbouwers. Het is echter belangrijk om te beseffen dat het preventief gebruik van antibiotica de oorzaak is van resistentie bij bacteriën. Dit zowel bij de dieren, varkenshouders en de mensen rondom hen. Naar aanleiding van de eerste WHO – publicatie over resistentieproblematiek is het duidelijk dat er actie ondernomen moet worden. Dit om niet in situaties terecht te komen waar eenvoudige ziektes omwille van een tekort aan effectieve antibiotica dodelijke gevolgen kunnen hebben. Het is dus duidelijk dat een reductie van antibioticagebruik een noodzaak is. Met deze gedachte in het achterhoofd is men tot het onderwerp gekomen: “Reductie van antibioticagebruik door het gebruik van zuren”. Er werden twee herhalende proeven uitgevoerd waarbij telkens een zuurgroep werd vergeleken met een antibioticagroep. De gegevens werden verzameld om een gemiddelde waarde te bekomen. De proeven leverden resultaten op die positiever zijn dan men aanvankelijk had verwacht. Bij de antibioticagroep werden voor de dagelijkse gewichtstoename, dagelijkse voederopname en voederconversie in de eerste twee fasen betere resultaten verkregen. In de derde fase ziet men voor diezelfde parameters betere resultaten voor de zuurgroep. Dit leidt uiteindelijk tot zo goed als gelijke zoötechnische resultaten. Deze resultaten worden behaald met een aanzienlijke antibioticareductie van maar liefst 97,1 % en een sterfte voor de zuurgroep die 1,11 % hoger was dan de antibioticagroep. Men kon tevens uit de resultaten van de eerste proef afleiden dat bij de zuurgroep de groei minder afhankelijk is van het begingewicht in vergelijking met de antibioticagroep. Dit is een belangrijk gegeven voor de toekomst aangezien de tomen steeds groter zullen worden en de speengewichten dus lager zullen zijn. De economische berekening resulteerde in een meeropbrengst van 0,703 EUR/big voor de zuurgroep.

Trefwoorden: antibiotica, zuren, reductie, dagelijkse gewichtstoename, dagelijkse voederopname, voederconversie, sterfte.

## ABSTRACT

The preventive use of antibiotics in the pig industry is high. Antibiotics are popular because it's easy to use and gives a good result, it's a certainty for the farmers. It's important to realize that the preventive use of antibiotics is the reason of the resistance to antibiotics, both in terms of animals, the farmers and the people around them. With reference to the first WHO-publication of the resistance problems it's a necessity to take action. This in order not the end up in situations where simple diseases can have deadly consequences. It's clear that a reduction of antibiotics is a necessity. With this in mind they came to the subject of reduction on antibiotics by the use of acids. Two experiment has been done. In both trials an acid group was compared to an antibiotic group. All these data were collected to get a mean value. The results of the experiments were more positive than they expected. For the daily weight gain, daily feed intake and the feed conversion in the first two phases they got better results for the antibiotic group. In the third phase they see for the same parameters better results for the acid group. This leads eventually to the same zoo technical results. These results are obtained with a considerable reduction of 97,1 % antibiotic and a mortality for the acid group that's 1,11 % higher compared with the antibiotic group. They could also derive from the results of the first experiment that the growth at the acid group is less dependent of the initial weight compared with the antibiotic group. This is an important factor for the future, because the litters will be bigger and the weights at weaning therefore will be lower. The economic calculation resulted in a surplus of 0,703 EUR/piglet for the acid group.

# INHOUDSTAFEL

Voorwoord

Abstract

Inhoudstafel

Lijst met figuren en tabellen

Inleiding

<b>Hoofdstuk 1:Literatuurstudie .....</b>	<b>10</b>
<b>1.Speenproblematiek .....</b>	<b>11</b>
1.1. Inleiding.....	11
1.2. Financiële gevolgen .....	13
1.3. Ontstaan speendiarree .....	13
1.3.1 Inleiding.....	13
1.3.2 Fysiologische en metabole veranderingen van het maagdarmkanaal rond spenen ....	14
1.3.2.1 De pH van de maag.....	14
1.3.2.2 De dunne darm .....	15
1.3.2.3 Dikke darm .....	17
1.3.3 Wegvallen van biestmelk.....	18
1.3.4 Ontwikkeling van de inwendige microflora na de geboorte .....	19
1.3.5 <i>E.coli</i> en speendiarree.....	20
1.3.6 Vertering bij biggen .....	21
1.3.6.1 Enzymontwikkeling .....	21
1.3.6.2 Invloed pH van de maag .....	25
1.3.6.3 Vast voeder in de kraamstal.....	25
1.3.6.4 Invloed van bron en hoeveelheid eiwit op speendiarree.....	29
1.3.7 Verandering in de omgeving van de biggen.....	30
<b>2. Gebruik van zuren in de zeugenhouderij.....</b>	<b>31</b>
2.1. Inleiding.....	31
2.2. Zuren via het water of via het voer .....	32
2.3. Werkingsmechanismen .....	33
2.3.1 Antimicrobieel effect.....	33
2.3.2 Lagere pH in de maag.....	41
2.3.3 Energiebron.....	44
2.3.4 Minerale benutting.....	44
2.3.5 Verbeterde vertering aminozuren .....	46



2.3.6 Hogere secretie van pancreasenzymen en verbeterde darmkwaliteit .....	46
2.3.7 Invloed op de darmmorfologie .....	47
2.3.8 Invloed op de smaak van het voeder .....	47
2.4. Melkzuur .....	48
2.5. Propionzuur.....	50
2.6. Mierenzuur .....	51
2.7. Fumaarzuur.....	52
2.8. Citroenzuur.....	53
2.9. Benzoëzuur .....	53
2.10. Azijnzuur .....	54
2.11. Kalium zouten .....	54
2.12. Calcium zouten .....	55
2.13. Natrium zouten.....	56
2.14. Ammoniumformiaat .....	57
2.15. Combinatie van zuren .....	57
2.16. Nieuwste ontwikkelingen .....	60
2.16.1 Essentiële oliën.....	60
2.16.2 Monoglyceriden.....	62
<b>3. Gebruik van antibiotica .....</b>	<b>63</b>
3.1. Inleiding.....	63
3.2. Gebruik van antibiotica in de varkenssector .....	63
3.3. Groeibevorderende effecten .....	66
3.4. Werking van antibiotica .....	70
3.4.1 Inleiding.....	70
3.4.2 Metabolische effecten .....	70
3.4.3 Nutritionele effecten .....	71
3.4.4 Ziekte beperkende effecten .....	71
3.5. Risico's.....	72
3.5.1 Antibiotica resistentie .....	72
3.5.1.1 Resistente <i>E.coli</i> .....	75
3.5.1.2 Resistente Enterococcen .....	76
3.5.2 Residuen.....	77
3.6. Invloed van de omgeving op het gebruik van antibiotica.....	77

<b>4. ZINK.....</b>	<b>79</b>
4.1. Inleiding.....	79
4.2. Fysiologische zink behoeften.....	79
4.3. Wetgeving.....	80
4.4. Werking.....	80
4.5. Wisselwerking met micronutriënten en geneesmiddelen .....	81
4.6. Milieubelasting .....	81
4.7. Effect van het gebruik van zinkoxide op resistentie – selectie.....	82
4.8. Mogelijke effecten .....	82
<b>Hoofdstuk 2:Proefopzet .....</b>	<b>86</b>
<b>1. Materiaal en methoden.....</b>	<b>87</b>
1.1. Inleiding.....	87
1.2. Huisvesting.....	87
1.2.1 Algemeen.....	87
1.2.2 Proef 1 .....	88
1.2.3 Proef 2 .....	89
1.3. Voeder en water.....	90
<b>2. Zoötechnische resultaten .....</b>	<b>91</b>
2.1. Proef 1 .....	91
2.1.1 Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename .....	92
2.1.2 Kleinste kwadratenmethode dagelijkse gewichtstoename .....	92
2.1.3 Technische resultaten .....	92
2.1.4 Verschil groei zeugen en baren .....	95
2.1.5 De invloed van begingewicht.....	96
2.2. Proef 2 .....	96
2.2.1 Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename .....	97
2.2.2 Kleinste kwadratenmethode dagelijkse gewichtstoename .....	97
2.2.3 Technische resultaten .....	98
2.3. Algemeen overzicht.....	100
2.3.1 Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename .....	101
2.3.2 Kleinste kwadratenmethode dagelijkse gewichtstoename .....	101
2.3.3 Technische prestaties .....	101
<b>3. Antibioticagebruik.....</b>	<b>104</b>

3.1. Proef 1 .....	104
3.2. Proef 2 .....	105
3.3. Overzicht.....	106
<b>4. Zuur en waterverbruik.....</b>	<b>108</b>
<b>5. Sterfte.....</b>	<b>109</b>
<b>6. Economische benadering .....</b>	<b>110</b>
<b>7. Discussie . .....</b>	<b>112</b>
<b>8. Besluit .....</b>	<b>115</b>
<b>9. Bijlagen ....</b>	<b>119</b>

# LIJST MET FIGUREN EN TABELLEN

## Tabellenlijst

### Hoofdstuk 1

Tabel 1: Verlies door Coli – diarree .....	13
Tabel 2: Morfologische veranderingen in de dunne darm rond spenen .....	16
Tabel 3: Gehalten aan immunoglobulinen (mg/ml) in biest en melk van zeugen .....	18
Tabel 4: Effect van de leeftijd op de activiteit van lipase, amylase, chymotrypsine en trypsine .....	23
Tabel 5: Effect van toevoegen van ZnO en CuSO <sub>4</sub> op de enzymactiviteit in de pancreas (U/gram weefsel) .....	24
Tabel 6: Invloed van IS (Intermittent Suckling) .....	28
Tabel 7: Wateropname en pH in verband met gebruik van organische zuren .....	33
Tabel 8: Chemische karakteristieken van bepaalde organische zuren .....	35
Tabel 9: Invloed van subletale dosissen op ontwikkeling bacteriën .....	36
Tabel 10: Bacteriële groei en groei van melkzuurbacteriën bij een pH = 4,5 met verschillende zuren .....	37
Tabel 11: Voorkomen van diarree bij de verschillende zuren en linospectine .....	39
Tabel 12: Gasvolume van natrium butyraat .....	40
Tabel 13: Invloed van pH van het drinkwater op de uitscheiding van <i>E.coli</i> .....	41
Tabel 14: Zuurbindend/bufferend vermogen (ABC, BUF) van enkele organische zuren .....	43
Tabel 15: pH in voeder gesupplementeerd met melkzuur en azijnzuur .....	44
Tabel 16: Effect van verschillende zuren of hun zouten op de totale schijnbare verteerbaarheid van calcium, magnesium en fosfor .....	45
Tabel 17: Uitval van gespeende biggen die een controlevoeder, speenvoeder aangezuurd met melkzuur of drinkwater aangezuurd met melkzuur verstrekt kregen .....	49

### Hoofdstuk 2

Tabel 18: Analyse van het water .....	90
Tabel 19: Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 1 .....	92
Tabel 20: Gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 1 .....	92
Tabel 21: Overzicht technische resultaten proef 1 .....	92
Tabel 22: Gemiddelde groei zeugen en baren proef 1 .....	95
Tabel 23: Verklaring groei door begingewicht proef 1 .....	96
Tabel 24: Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 2 .....	97
Tabel 25: Gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 2 .....	97
Tabel 26: Overzicht technische resultaten proef 2 .....	98
Tabel 27: Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht algemeen overzicht .....	101
Tabel 28: Gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht algemeen overzicht .....	101
Tabel 29: Overzicht technische resultaten algemeen overzicht .....	101
Tabel 30: Overzicht antibioticagebruik .....	106
Tabel 31: Overzicht antibioticagebruik, voederopname en groei .....	106
Tabel 32: Zuur en waterverbruik proef 2 .....	108
Tabel 33: Economische benadering .....	110
Tabel 34: Gemiddelde resultaten .....	115

## **Figurenlijst**

### **Hoofdstuk 1**

Figuur 1: Totaal aantal bacteriën en percentage coliformen bij biggen tot 90 dagen na geboorte.....	19
Figuur 2: Enkel de niet gedissocieerde vorm kan de microbiële cel binnendringen.....	34
Figuur 3: H <sup>+</sup> -ATPase pompsysteem .....	36
Figuur 4: Rechtsdraaiend en linksdraaiend melkzuur.....	48
Figuur 5: Grondplan proef 1.....	88
Figuur 6: Grondplan proef 2.....	89

## Grafiekenlijst

### Hoofdstuk 1

Grafiek 1: Voorkomen van pathogenen bij speendiarree .....	11
Grafiek 2: Ontwikkeling van de passieve en actieve immuniteit bij biggen.....	12
Grafiek 3: Absorptie bij gecontroleerde of geïnfecteerde biggen en bij gespeende en niet gespeende biggen .....	17
Grafiek 4: Lactase en amylase activiteit bij jonge biggen.....	21
Grafiek 5: Effect van leeftijd op de activiteit van enkele pancreas – enzymen .....	22
Grafiek 6: Verloop enzymproductie in functie van de leeftijd.....	23
Grafiek 7: Variatie opname vast voeder in kraamstal in en tussen tomen .....	26
Grafiek 8: Aantal biggen met diarree in relatie met voederopname in kraamstal en gewichtstoename na spenen .....	27
Grafiek 9: % biggen dat nog niet had gegeten in functie van de tijd voor de verschillende diëten.....	28
Grafiek 10: Effect van het toedienen van zuren bij verschillende pH's op het voorkomen van <i>E.coli</i> .....	35
Grafiek 11: Minimum hoeveelheid zuur nodig om bacteriële groei te remmen .....	38
Grafiek 12: Gasvolume van verschillende zuren .....	40
Grafiek 13: Gasvolume van sorbinezuur en benzoëzuur bij lagere hoeveelheden .....	41
Grafiek 14: Effect van verschillende zuren of combinaties van zuren op de voederconversie van biggen op een speenleeftijd van 26 of 36 dagen.....	58
Grafiek 15: Synergistisch effect essentiële oliën en organische zuren .....	60
Grafiek 16: Synergistisch effect organische zuren en essentiële oliën op de gewichtstoename per kg voeder ....	61
Grafiek 17: Gebruik van antibiotica in de varkenssector .....	64
Grafiek 18: Gebruik van soorten antibiotica .....	65
Grafiek 19: Gebruik antimicrobiële groeibevorderaars tegen speendiarree .....	65
Grafiek 20: Verhouding van de hoeveelheid toegediende antimicrobiële groeibevorderaar.....	66
Grafiek 21: Invloed van antibiotica op gewichtstoename en voederefficiëntie .....	68
Grafiek 22: Effect van AB, Cu en Zn op de het gewicht van biggen .....	83
Grafiek 23: Effect van AB, Cu en Zn op het gewicht van biggen .....	84

### Hoofdstuk 2

Grafiek 24: Titratiecurve Selko pH.....	90
Grafiek 25: Vergelijking van de technische resultaten uit de eerste fase van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 1) .....	93
Grafiek 26: Vergelijking van de technische resultaten uit de tweede fase van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 2) .....	93
Grafiek 27: Vergelijking van de technische resultaten uit de derde fase van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 3) .....	93
Grafiek 28: Vergelijking van de technische resultaten uit het overzicht van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR T) .....	94
Grafiek 29: Vergelijking van de technische resultaten uit de eerste fase van proef 2 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 1) .....	98
Grafiek 30: Vergelijking van de technische resultaten uit de tweede fase van proef 2 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 2) .....	98
Grafiek 31: Vergelijking van de technische resultaten uit de derde fase van proef 2 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 3) .....	99
Grafiek 32: Vergelijking van de technische resultaten voor de volledige periode van proef 2 ten opzichte van de antibioticagroep (= 100 %) (Gecorrigeerde waarden voor GR T) .....	99
Grafiek 33: Vergelijking van de technische resultaten uit de eerste fase van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 1).....	102
Grafiek 34: Vergelijking van de technische resultaten uit de tweede fase van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 2).....	102

Grafiek 35: Vergelijking van de technische resultaten uit de derde fase van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 3).....	102
Grafiek 36: Vergelijking van de technische resultaten van de volledige periode van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR T).....	103
Grafiek 37: Gemiddelde reductie antibioticagebruik .....	106
Grafiek 38: Verdeling gemiddeld antibioticagebruik.....	107

## INLEIDING

Het veelvuldig preventief gebruik van antibiotica in de varkenshouderij resulteert in een te hoog antibioticagebruik in de Belgische varkenshouderij. Het is belangrijk om te beseffen dat deze problemen niet alleen in België voorkomen. Uit het rapport van het WHO, getiteld 'Antimicrobial resistance: global report on surveillance' blijkt dat de problematiek van resistentie geografisch wijdverspreid is. Uit datzelfde onderzoek blijkt dat voor een aantal bacteriën die frequent voorkomen nog slechts één werkzaam antibioticum bestaat. Dit moet iedereen aanzetten tot nadenken, maar landbouwers grijpen vaak naar het gebruik van antibiotica omdat dit een zekerheid is op goede resultaten. Hierbij moet de vraag gesteld worden of het met minder antibiotica ook niet mogelijk is. Het is voor iedereen, zowel de consument als de landbouwer, belangrijk om te beseffen dat het overmatig gebruik van antibiotica leidt tot resistentie van bacteriën. Ook het AMCRA heeft dit beseft en heeft zich achter deze problematiek geschaard. Zij hebben een 10 – puntenplan ontwikkeld dat moet zorgen voor het ontstaan van een rationeel antibioticumbeleid. Het streefdoel is het bereiken van een halvering van het algemeen gebruik van antibiotica en 75 % lager gebruik van de meest kritische antibiotica in 2020. Het drastisch reduceren is dus een noodzaak geworden om tot een duurzame intensieve varkenshouderij te komen. Het volledig weren van antibiotica is niet mogelijk. Een dier individueel behandelen ter bestrijding van een bacteriële aantasting bijvoorbeeld is onoverkomelijk. Het is echter wel mogelijk om de preventieve behandelingen met antibiotica achterwege te laten. Er zal voor een reductie van antibioticagebruik bij landbouwers op vlak van management een hele aanpassing nodig zijn, men zal bijvoorbeeld meer controle moeten uitvoeren en zo hygiënisch mogelijk alles laten verlopen.

Op basis van bovenstaande feiten werd gekozen om te bekijken wat de reductie van antibioticagebruik is door het gebruik van zuren. Zodoende werd deze masterproef in twee delen verdeelt. Als eerste is er een literatuurstudie die is opgebouwd uit vier delen. Hier komt eerst en vooral de speenproblematiek aan bod omdat dit de grootste reden is van antibioticagebruik in de varkenshouderij. Daarna wordt de werking van zuren besproken en worden de voornaamste zuren individueel toegelicht. Als derde onderdeel wordt de werking van antibiotica aangehaald en de gevaren voor resistentie. Het laatste hoofdstuk gaat over zink omdat dit aanwezig is in beide voeders en een antimicrobiële werking heeft. Het tweede gedeelte is het proefgedeelte. Hierin wordt eerst een vergelijking gemaakt tussen de dagelijkse gewichtstoename, de dagelijkse voederopname, de voederconversie en de invloed van het begingewicht op de groei van de biggen bij de zuurgroep en de antibioticagroep. Daarnaast wordt in het proefgedeelte aandacht besteed aan de vergelijking van antibioticagebruik bij beide groepen. Er wordt tevens een economisch overzicht weergegeven.



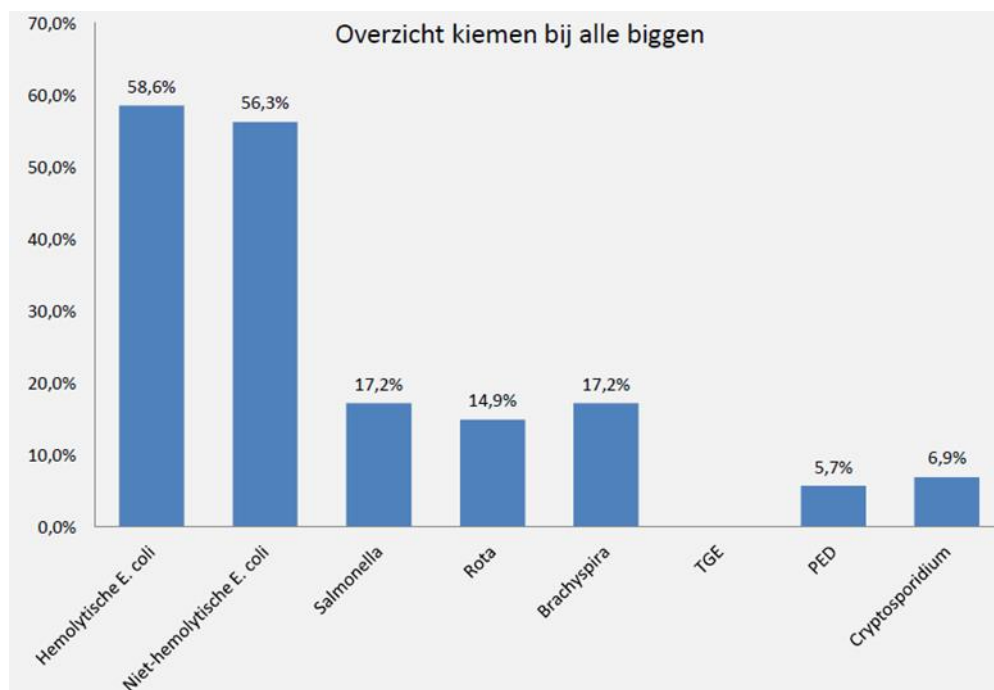
# **Hoofdstuk 1: Literatuurstudie**

# 1. SPEENPROBLEMATIEK

## 1.1. Inleiding

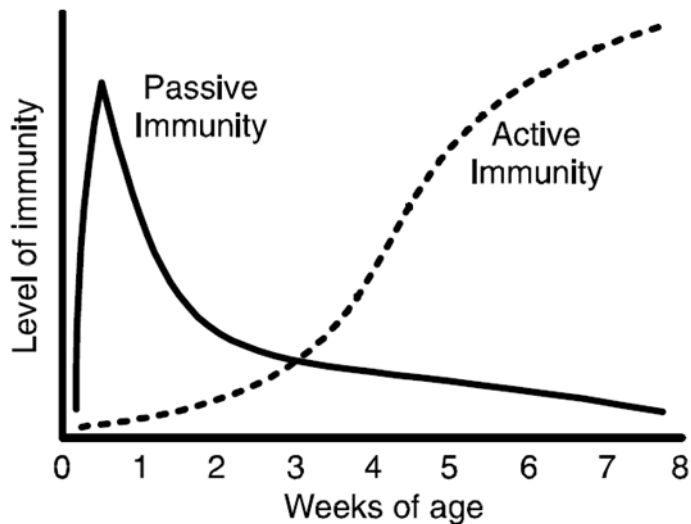
De speenproblematiek is nog steeds één van de grootste verliezen in de zeugenhouderij. Er zijn vele factoren die resulteren in speendiarree (Brooks et al., 2001).

Bij speendiarree kunnen verschillende pathogenen waaronder bacteriën, virussen en parasieten een belangrijke rol spelen. Wat het meest wordt aangetroffen bij biggen met speendiarree zijn hemolytische *Escherichia coli* (ETEC), niet – hemolytische *Escherichia coli*, *salmonella*, *rotavirus*, *brachyspira*, *TGE*, *PED* en *cryptosporidium*. (Onderzoek naar pathogenen betrokken bij speendiarree bij biggen in Vlaanderen, DGZ Vlaanderen, 2012). Dit wordt grafisch weergegeven in grafiek 1.



**Grafiek 1: Voorkomen van pathogenen bij speendiarree (DGZ Vlaanderen, 2012)**

Voor het ontstaan van de speenproblematiek moet men even terug in de geschiedenis. In de jaren '50 had men de gewoonte om te spenen op 8 à 12 weken (Keesecker, 2004). Op die leeftijd werd de big gevoed met zeugmelk en was men reeds gewoon aan vast voeder. Ook de passieve en actieve immuniteit spelen hierin een rol. In grafiek 2 ziet men eerst de sterke opbouw van de passieve immuniteit via de biest en later via de melk van de zeugen. De passieve immuniteit daalt geleidelijk tot week 8. De actieve immuniteit begint zich pas vanaf week 2 te ontwikkelen en bereikt het hoogtepunt rond week 8. Ook hieruit kan men dus afleiden dat de speenproblematiek vroeger (bij het spenen op 8 à 12 weken) geen probleem was, aangezien de actieve immuniteit volledig was opgebouwd. Tegenwoordig speent men op 3 à 4 weken. Wanneer men dan terug de grafiek bekijkt ziet men dat de big in deze periode zeer gevoelig is aangezien de actieve immuniteit nog op gang moet komen.



**Grafiek 2: Ontwikkeling van de passieve en actieve immuniteit bij biggen**

Later in de jaren '60 begon men met spenen op 6 weken, vervolgens op 4 weken in de jaren '70 (Keesecker, 2004). In de volgende jaren is men onderzoek blijven uitvoeren naar het steeds vroeger spenen van biggen.

De reden waarom zeugenhouders steeds vroeger spenen is omdat men streeft naar een maximale opbrengst. Het verlagen van de speenleeftijd is een parameter die hierin een belangrijke invloed speelt. Door het vroeger spenen bekomt men een hogere worpindex. Bij spenen op 8 weken is maximaal een worpindex mogelijk van 2, wanneer men de speenleeftijd verlaagt tot 3 à 4 weken is een worpindex mogelijk van 2,2 – 2,5 (Fremaut, 2003). De hogere worpindex resulteert in een hoger aantal gespeende biggen per jaar. Toch zijn er een aantal nadelen aan het vroeger spenen van de biggen. Als eerste kan men een lager speengewicht vermelden. Daarnaast zorgt vroeg spenen ervoor dat men de zuigbehoefte en moedermelk van de big gaat onthouden waardoor deze dieren enigszins geforceerd aan vast voer moeten beginnen. Ook de onvoldoende ontwikkeling van het maagarmkanaal is een belangrijk aandachtspunt. Deze plotselinge wijzigingen van voeding en omgeving zorgen voor het veranderen van de morfologische structuren van onder andere de dunne darm. Dit is de oorzaak van de verminderde verteerbaarheid en absorptiecapaciteit, waardoor speendiarrée ontstaat.

## 1.2. Financiële gevolgen

Uit Deense (Svensmark et al, 1989b) en Zwitserse (Wegman, 1990) onderzoeken werd een sterfte van 1 % ten gevolge van een coli – diarree aangetoond.

Tabel 1: Verlies door Coli – diarree

<b>Aantal zeugen (FOD Economie, landbouwstatistieken)</b>	430.032
<b>Aantal gespeende biggen per zeug per jaar</b>	24,8
<b>Totaal aantal gespeende biggen per jaar</b>	10.664.794
<b>Aantal biggen verlies</b>	106.648
<b>Verlies in euro</b>	3.199.440

In tabel 1 wordt het verlies geschetst ten gevolge van sterfte door een coli – diarree. De cijfers zijn uit 2012 en afkomstig van diergezondheidszorg Vlaanderen. Wanneer men uitgaat van 430.032 zeugen (FOD Economie, landbouwstatistieken) met een gemiddelde van 24,8 gespeende biggen per jaar bekomt men op jaarbasis 10.664.794 gespeende biggen. Gerekend met een sterfte van 1 % (zie hierboven) betekent dit een verlies van 106.648 biggen per jaar. Gerekend aan een gemiddelde prijs van 30 EUR/big is dit een verlies van 3.199.440 EUR. Verder zorgt speendiarree voor een vertraagde groei waardoor het aantal groeidagen in de batterij toeneemt. De dagelijkse groei in de periode van 6 kg tot 25 kg kan worden verlaagd van 430 gram tot 410 gram. Dit verschil van 20 gram kan zorgen voor een langer verblijf van 2 dagen in de batterij. Dit komt overeen met een verlies van 133.033,00 EUR (*Onderzoek naar pathogenen betrokken bij speendiarree bij biggen in Vlaanderen, DGZ Vlaanderen, 2012*). Hierbij gaat men ook uit van 10.664.794 gespeende biggen per jaar (zie tabel 1). Ook een verhoogd geneesmiddelenverbruik (antibiotica) is een gevolg van speendiarree. In totaal bekomt men hier een financieel verlies van 7.133.405,00 EUR (*Onderzoek naar pathogenen betrokken bij speendiarree bij biggen in vlaanderen, DGZ Vlaanderen, 2012*).

Belangrijke opmerking bij het gebruik van antibiotica is dat er steeds meer alarmerende berichten (DGZ Vlaanderen) ontstaan over resistentie van *E.coli* tegenover zeer veel antibiotica. Vermits antibiotica in de loop van de volgende jaren sterk zal worden teruggedrongen moet men op zoek naar alternatieve mogelijkheden (zie verder).

## 1.3. Ontstaan speendiarree

### 1.3.1 Inleiding

Speendiarree ontstaat altijd in de eerste week na spenen (Heo et al., 2013). Spenen zorgt voor enorme stress bij de biggen, dit gaat gepaard met psychologische, microbiologische en immunologische veranderingen in het maagdarmkanaal (Pluske et al., 1997; Brooks et al., 2001). Door deze veranderingen wordt de periode na spenen gekenmerkt door stoornissen

in het maagdarmkanaal, wat resulteert in diarree en een lagere groei van de biggen (Heo et al., 2013).

De verminderde groeiprestaties die ontstaan bij spenen zijn het resultaat van vier stressfactoren: omgevingsfactoren, voedingsfactoren, psychologische factoren en sociale factoren (Williams, 2003; Lalles et al., 2004). Bij spenen krijgen de biggen te maken met de abrupte onderbreking van de sociale interactie met de zeug en de andere biggen. Daarnaast ondervinden ze ook last van de nieuwe omgeving (Lalles et al., 2007a). Bovendien krijgt de big te maken met het plotseling stopzetten van zeugenmelk, en moet het zich aanpassen aan minder verteerbaar, plantaardig droge voeding met complexe eiwitten en koolhydraten (Cranwell 1995, Lalles et al., 2007a). Vandaar dat biggen een scherpe daling hebben in de voederopname direct na spenen (Heo et al., 2013). Onderzoek van Brooks et al., (2001) toonde aan dat ongeveer 50 % van de biggen hun eerste voeder opnemen binnen de 24 uur na spenen, terwijl dit voor 10 % van de biggen nog niet binnen de eerste 48 uur was.

Speنديarree wordt gewoonlijk in verband gebracht met de proliferatie van één of meer enterotoxigene *Escherichia coli* (ETEC) in het maagdarmkanaal (Fairbrother et al., 2005; Nagy & Fekete, 2005).

### **1.3.2 Fysiologische en metabole veranderingen van het maagdarmkanaal rond spenen**

#### **1.3.2.1 De pH van de maag**

De functie van de maag is driedelig: mengen van het voeder, een gedeeltelijke vertering en het vormen van een barrière tegen de externe omgeving (Zhang & Xu, 2003). De maag bevat zuur secreterende cellen die zorgen voor de lage pH in de maag (Yen, 2000). De lage pH is nodig voor de omzetting van zymogenen in actieve enzymen (Khan et al., 1999). De optimale pH voor de eiwitvertering in de maag is 3 (Heo et al., 2013).

Uit de literatuur kan men besluiten dat het effect van spenen op de activiteit van enzymen in de maag dubbelzinnig is. Hedemann et al., (2004) melden bijvoorbeeld een dalende pepsine activiteit in de maag bij spenen, terwijl dat de lipase activiteit niet wijzigde. Jensen et al., (1997) daarentegen noteerden een hogere pepsine en lipase activiteit in de maag na spenen.

De lage pH waarden kunnen bacteriedodend zijn voor vele pathogene bacteriën, waaronder *E.coli* (Yen, 2000). Een lage pH is dus niet alleen noodzakelijk voor een goede vertering, maar ook voor een gezonde darm. De lage pH zorgt voor een reductie van de passage van pathogene bacteriën uit de maag in de dunne darm (Heo et al., 2013).

Gespeende biggen hebben een hogere pH dan biggen die bij de zeug blijven. Hiervoor zijn een aantal oorzaken. Een lagere HCl secretie is één van de oorzaken, daarnaast zijn ook een overgang van voeder en een te hoge voederopname na een periode van vasten oorzaken. Verder speelt ook de hoeveelheid eiwit in het voeder een belangrijke rol vanwege de bufferende capaciteit van eiwitten (Heo et al., 2013). De elektrolytenbalans heeft ook een invloed op de pH van de maag na spenen. De hoeveelheid lactose in het voeder is verder

ook belangrijk (Pierce et al., 2005). Deze hogere pH – waarde na spenen kan bijdragen tot de hogere gevoeligheid van biggen op infecties op dat moment, een zure maaginhoud is immers de eerste barrière tegen ongewenste bacteriën (Heo et al., 2013).

Spenen zorgt ook voor een verminderde motiliteit in de maag. Snoeck et al., (2004a) stelden een reductie vast in de maaglediging op dag 3 en dag 14 na spenen in vergelijking met zuigende biggen. De lagere motiliteit zorgt volgens Martinez et al., (2004) en Moeser et al., (2007) voor de opwekking van een stress – gen in het jejunum van gespeende biggen.

### **1.3.2.2 De dunne darm**

#### **Morfologie van de dunne darm**

In de literatuur is het duidelijk dat spenen veranderingen veroorzaakt in de dunne darm (Heo et al., 2013). De dunne darm bevat villi die de oppervlakte vergroten wat optimaal is voor de vertering en absorptie van nutriënten (Zhang & Xu, 2003). De mucosale oppervlakte van de dunne darm bevat buisachtige klieren die uitmonden aan de basis van de villi, eerder gekend als crypten (Heo et al., 2013). De crypten bevatten epitheliale stamcellen die nodig zijn voor de aanmaak van nieuwe epitheliale cellen (Zhang & Xu, 2003; Llyod & Gabe, 2008).

Voor een optimale werking van de dunne darm zijn lange villi wenselijk (Heo et al., 2013). Na spenen is er nochtans een kortstondige periode waarin de villi verkleinen en de crypten vergroten. De lagere voederopname na spenen is volgens onderzoek de voornaamste reden voor deze veranderingen in de dunne darm. Tevens is de energieopname na spenen positief gecorreleerd met de opbouw van de dunne darm (Heo et al., 2013). Naast de lage voederopname na spenen zijn er ook andere factoren die verantwoordelijk zijn voor de kleinere villi en grotere crypten. Dit werd vastgesteld door Kelly et al., (1991b) die een reductie vaststelden van de villi en een stijging van de crypten bij biggen die continu gevoed werden met een maagsonde. Hieruit kon men besluiten dat niet alleen de lage voederopname van invloed is op de grootte van de villi en crypten. Hoewel geen onderliggende mechanismen voor deze veranderingen zijn vastgelegd, worden de veranderingen geassocieerd met speenstress (Heo et al., 2013). Tabel 2 geeft een overzicht van oudere en nieuwe literatuur betreffende veranderingen van de villihoogte en cryptediepte bij gespeende biggen. Alle onderzoeken zijn het eens wat betreft de villihoogte. In elk onderzoek werd een daling van de villihoogte vastgesteld, en dit voor 2 of 3 dagen. Ook voor de cryptediepte zijn de resultaten duidelijk. In elk onderzoek, behalve in dat van McCracken et al., (1999) werd een stijging waargenomen van de cryptediepte. Het aantal dagen van een gestegen cryptediepte varieert van 3 tot 5 dagen.

**Tabel 2: Morfologische veranderingen in de dunne darm rond spenen (Heo et al., 2013)**

Weaning	Results	Intestinal section	References
29 days	Decreased VH 3 days PW Increased CD 3 days PW	Small intestine	van Beers-Schreurs et al. (1998)
21 days	Decreased VH 3 days PW Increased CD 3 days PW Decreased VH:CD 3 days PW	Duodenum, Jejunum and Ileum	Tang et al. (1999)
21 days	Decreased VH 2 days PW Decreased CD 2 days PW	Jejunum	McCracken et al. (1999)
29 days	Decreased VH 3 days PW Increased CD 5 days PW	10% of small intestine	Hedemann et al. (2003)
21 days	Decreased VH 2 days PW Increased CD 5 days PW	Jejunum	Boudry et al. (2004b)
26 days	Decreased VH 3 days PW Increased CD 3 days PW	Proximal and mid-small intestine	Verdonk et al. (2007)

VH, villous height; CD, crypt depth; PW, post-weaning.

### Verteringsfunctie van de dunne darm

Enterocyten aanwezig in het brush – border oppervlak van de dunne darm zorgen voor de laatste stap in de vertering van voedselbestanddelen. Deze zijn verantwoordelijk voor het vrijgeven van spijsverteringsenzymen. Enterocyten zijn goed voor respectievelijk 90 % en 95 % van de epitheliale cellen in de crypten en villi (Heo et al., 2013). Deze enzymen werken vooral in de brush – border oppervlakte van enterocyten en zijn dus gemakkelijk te onderscheiden van pancreas enzymen die vooral handelen in het lumenale deel van de dunne darm (Adeola & King, 2006).

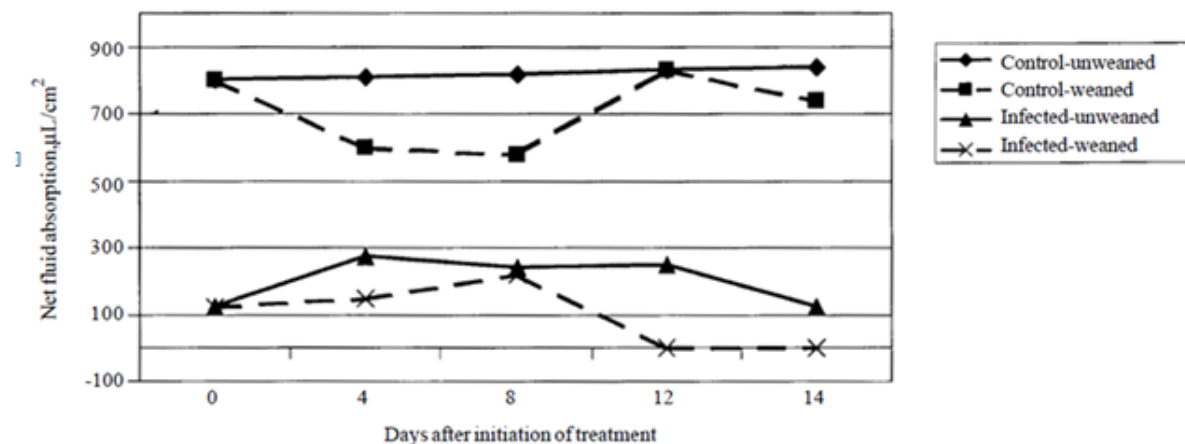
Men stelt vaak een reductie vast van de lactase activiteit na spenen (Tang et al., 1999; Pluske et al., 2003; Boudry et al., 2004b; Marion et al., 2005). De activiteit van sucrase stijgt, dit bewijst onderzoek van Hedemann et al., (2003) en Marion et al., (2005). Voor maltase vonden Pluske et al., (2003) en Marion et al., (2005) een verhoogde activiteit, terwijl bij Boudry et al., (2004b) geen effect werd vastgesteld. In het onderzoek van Hedemann et al., (2003) werd geen invloed vastgesteld van spenen op de werking van tripeptidases. Voor de activiteit van aminopeptidase zijn de resultaten niet gelijklopend, Fan et al., (2002) en Marion et al., (2005) melden een hogere activiteit, terwijl Hedemann et al., (2003) een lagere activiteit vaststelden. Daling in de activiteit van de brush – border enzymen wordt vaak waargenomen tussen dag drie en vijf na spenen, om daarna geleidelijk opnieuw te stijgen (Heo et al., 2013). De stijging na 5 dagen is waarschijnlijk te wijten aan de hogere voederopname (Pluske et al., 1997).

## De secretie en absorptie functie van de dunne darm

Secretie van vloeistoffen en elektrolyten uit de crypte cellen en absorptie van nutriënten zijn primaire functies van de dunne darm (Pàcha, 2000; Xu, 2003). Een hogere instroom van vloeistoffen en elektrolyten in de dunne darm dan afvoer in het bloed is een belangrijke factor in het ontstaan van diarree (Wapnir & Teichberg, 2002). Spenen resulteert in een reductie van de netto absorptie van vloeistoffen en elektrolyten, en een onvolledige absorptie van nutriënten in de dunne darm (Miller & Skadhauge, 1997).

Verandering in de secretie – en absorptiefunctie van de dunne darm na spenen is afhankelijk van het deel van de dunne darm. Boudry et al., (2004a) stelden een stijging vast van de Na<sup>+</sup> afhankelijke glucose absorptie in het jejunum van gespeende biggen, in het ileum stelde men een daling vast. De lage ileale absorptiecapaciteit kort na spenen kan leiden tot osmotische diarree bij biggen door een stijgende hoeveelheid voedingsstoffen in de dikke darm (Heo et al., 2013).

Grafiek 3 toont wat het effect is in absorptievermogen bij een controle behandeling (niet geïnfecteerd met *E.coli*) en een behandeling met *E.coli* geïnfecteerde biggen. Men kan uit deze grafiek duidelijk zien dat de absorptie duidelijk lager is wanneer de biggen geïnfecteerd zijn met *E.coli* (dit is zowel het geval bij niet – gespeende als gespeende biggen). Wat wel opvalt in grafiek 3 is de hogere absorptie voor niet – gespeende biggen in vergelijking met gespeende biggen. Dit zowel voor de controle behandeling als voor de behandeling met *E.coli*. De verschillen hiertussen zijn minder sterk uitgesproken dan de verschillen tussen de controle behandeling en de geïnfecteerde behandeling.



Grafiek 3: Absorptie bij gecontroleerde of geïnfecteerde biggen en bij gespeende en niet gespeende biggen (Miller et al., 2001)

### 1.3.2.3 Dikke darm

De functies van de dikke darm omvatten: absorptie van vloeistoffen en elektrolyten en de voorziening van een barrière tegen een microbiële invasie (Williams et al., 2001; Zhang & Xu, 2003). Wijzigingen in deze functies spelen daarom een rol in de pathogenese van spendiarrée. De mucosa van de dikke darm bevat crypten, maar bevat in tegenstelling tot de dunne darm geen villi. Spenen zorgt voor een verlaagde cryptediepte (Castillo et al., 2007).



Het is reeds aangetoond dat veel vloeistofverlies in de dunne darm alleen tot speendiarree zal leiden wanneer de absorptiecapaciteit van de dikke darm is overschreden (Heo et al., 2013). De precieze rol van de dikke darm in de ontwikkeling van diarree bij gespeende biggen is echter nog niet duidelijk. Volgens Hopwood & Hampson (2003) is het een combinatie van wijzigingen in de structuur en absorptiefunctie van de dikke darm die bijdraagt aan de toename van speendiarree.

### 1.3.3 Wegvallen van biestmelk

Reeds enkele uren na de geboorte begint de big met het opnemen van biestmelk. De productie van biestmelk door de zeug duurt ongeveer 24 uur en gaat dan over in de productie van zeugenmelk met een normale samenstelling. Biestmelk is in vergelijking met zeugenmelk rijk aan vetten en immunoglobulines.

In tabel 3 ziet men de gehalten aan immunoglobulinen aanwezig in biestmelk en zeugenmelk. Daaruit kan men opmerken dat na 24 uur de biest verandert in gewone zeugenmelk. De sterke aanwezigheid van IgG in de biestmelk is opvallend. Aangezien de darmwand de eerste uren na de geboorte permeabel is voor macromoleculen zijn IgG van belang omdat ze de darmwand van pasgeboren dieren kunnen passeren. Verder is het opmerkelijk hoe snel het gehalte aan antistoffen daalt gedurende de lactatie.

Biestmelk draagt bij aan de mucosale afweer bij biggen. Het is deze afweer die de biggen beschermt tegen de kolonisatie van *E.coli* bacteriën in de darmen. Bij het spenen vallen de beschermende antistoffen uit de melk weg, waardoor de *E.coli* kan groeien. Op deze manier is het wegvallen van biestmelk van invloed op speendiarree.

**Tabel 3: Gehalten aan immunoglobulinen (mg/ml) in biest en melk van zeugen (Anonymus, 1993)**

	Tijdstip	IgG	IgA	IgM
Biest	0 uur p.p*	61,8	9,66	3,19
Melk	24 uur p.p	11,83	3,76	1,79
Melk	48 uur p.p	8,16	2,72	1,81
Melk	3-7 dgn p.p	1,91	3,41	1,17
Melk	8-35 dgn p.p	1,37	3,04	0,89

p.p post partus

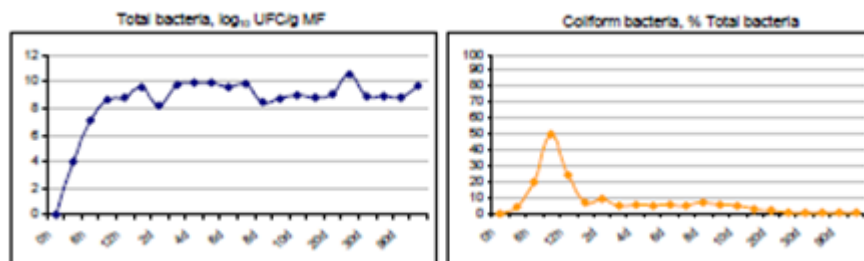
### 1.3.4 Ontwikkeling van de inwendige microflora na de geboorte

Bij de geboorte van de biggen is het maagdarmkanaal nog steriel. Twee à drie uur later worden echter bacteriën waargenomen van onder andere de drie volgende groepen: *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, en *Heliobacter spp* (Heo et al., 2013). De opbouw van de darmflora is het gevolg van verschillende factoren zoals: pH in de dunne darm, beschikbaarheid van substraat, mucussecretie en de verblijftijd in het maagdarmkanaal. Na kolonisatie blijft de darmflora min of meer stabiel tot spenen. De belangrijkste factor die een invloed heeft op de totale populatie en diversiteit van de darmflora is de samenstelling van het voeder (Castillo et al., 2007; Metzler et al., 2009). Jeurond et al., (2008) konden onder andere vaststellen dat het aantal *Clostridia spp.* in de dikke darm laag was bij biggen die werden gevoederd met fermenteerbare koolhydraten, terwijl dit hoger was in voeders met veel fermenteerbare eiwitten.

Onmiddellijk na spenen ondergaat de microbiële darmflora een wijziging, de bacteriën met als substraat melk zoals *lactobacilli* verminderen drastisch, terwijl andere pathogene bacteriën zoals coliformen aanzienlijk toenemen. Dit impliceert dat biggen bij spenen vatbaarder zijn om overgroeid te worden door pathogene bacteriën zoals *ETEC* (Yin en Zheng, 2005).

Biggen kunnen besmet worden door kort contact met de vagina van de zeug, door contact met de tepels van de zeug maar als belangrijkste factor door de mest van de zeug (Conway, 1997). In de vroege ontwikkeling van de big lijkt de microflora van de big heel sterk op de microflora van de zeug, dit is gedemonstreerd door Katouli en medewerkers in 1997. De zeug is daarom dus de eerste bron van microflora voor de biggen. Na een paar dagen wijzigt de samenstelling van de microflora van de big aanzienlijk en verschilt die van de zeug. De diversiteit van de microflora stijgt met de toenemende leeftijd van de biggen (Favier et al., 2002; Inoue et al., 2005).

In figuur 1 wordt het verloop van het totaal aantal bacteriën in de mest van de biggen weergegeven, met daarnaast een grafiek van het aantal coliformen. Het aantal coliformen wordt uitgedrukt ten opzichte van het totaal aantal bacteriën. Hieruit kan men besluiten dat coliformen na de geboorte sterk aanwezig zijn en dan sterk dalen tot er zo goed als geen meer gevonden worden.



Figuur 1: Totaal aantal bacteriën en percentage coliformen bij biggen tot 90 dagen na geboorte (Swords et al., 1993)

Lactobacilli en streptococci zijn de meest dominante bacteriën in de eerste levensweek en deze blijven aanwezig gedurende de volledige zuigperiode (Jensen, 1998). Tijdens de zuigperiode ziet men de diversiteit van de anaerobe bacteriën verhogen, deze verdringen de aerobe bacteriën. De periode na spenen wordt gekarakteriseerd door het verdringen van de gram – positieve anaerobe bacteriën door de gram negatieve bacteriën.

Franklin et al., hebben in 2002 aangetoond dat het spenen zorgt voor een 100 – voudige daling van de lactobacilli in de dunne darm en een 50 – voudige toename van *Escherichia coli* in de dunne darm. Verder bewezen Hopwood en Hampson in 2003 dat biggen in de periode na spenen vatbaarder worden voor het overgroeien door pathogene bacteriën.

Uiteindelijk kan men besluiten dat de microflora tijdens de zoogperiode een stabiele samenstelling bereikt. De microflora, die zoals eerder vermeld vooral uit lactobacillen bestaat, zorgt voor resistentie tegen de kolonisatie van pathogenen. Door plotse veranderingen zoals het omschakelen van melkvoeding naar alleen vast voeder, stress door verhoeken bij het spenen verandert de microflora (zie eerder) (Vandenbussche K, 2002). Zo constadeerde Nabuurs in 1991 dat vooral na spenen een intensieve kolonisatie door *E.coli* stammen optreedt in de dunne en dikke darm.

### 1.3.5 *E.coli* en speendiarree

De oorzaak van speendiarree is meestal het resultaat van verschillende problemen. De precieze pathogenese is nog steeds onduidelijk, aangezien vele andere ziekten kunnen leiden tot dezelfde problemen (Heo et al., 2013)

Speendiarree wordt vaak geassocieerd met een grote fecale uitscheiding van  $\beta$  – hemolytische enterotoxigene *E.coli* serotypes. Ze koloniseren de dunne darm door hun fimbriae vast te hechten aan de glycoproteïne receptoren in de dunne darm (Heo et al., 2013). De precieze interactie tussen fimbriae en receptoren is nog niet teruggevonden (van den Broeck et al., 2000). Volgens Fairbrother et al., 2005 en Willey et al., 2009 is *E.coli* de belangrijkste pathogene bacterie die zorgt voor economische verliezen.

Speendiarree wordt zoals eerder vermeld vaak geassocieerd met het voorkomen van enterotoxine producerende *E.coli* stammen. *E.coli* bacteriën komen echter ook van nature voor in het maagdarmkanaal van varkens. Bij varkens zijn er 2 categorieën pathogene *E.coli* bacteriën bekend: de enterotoxische *E.coli* (ETEC) en de enterotoxemische *E.coli* (ETEEC). Beiden produceren toxines, de toxines van de ETEC bacteriën werken binnen het darmstelsel terwijl die van de ETEEC bacteriën in de bloedbaan terecht komen en zo zenuwverschijnselen veroorzaken (slingerziekte).

Er zijn 2 soorten toxines die worden geproduceerd: de warmte labiele toxines (LT) en de warmte stabiele toxines (ST, met 2 varianten STa en STb). De warmte labiele toxines verhogen de secretie van natrium, chloride en waterstofbicarbonaat in de dunne darm. De warmte stabiele toxines zorgen voor verminderde opname van vloeistof en zouten. Beide resulteren in een grote secretie van water en elektrolyten in de dunne darm, die de absorptiecapaciteit overschrijdt. Dit resulteert in diarree, dehydratie, verminderde voederopname, verstoorde groei en eventueel de dood (Heo et al., 2013).

Om diarree te kunnen veroorzaken zijn er  $10^8$  -  $10^9$  ETEC bacteriën vereist. Dergelijke hoeveelheden zijn niet aanwezig in de omgeving van de big wat wijst op een enorme celdeling in de darm van de big. Voor het spenen wordt deze celdeling niet waargenomen, dit is waarschijnlijk te wijten aan de melkvoorziening door de zeug (die de nodige antilichamen levert en zo de hechting van bepaalde antigenen via fimbriën voorkomt) en een effectieve mucosale verdediging van de big.

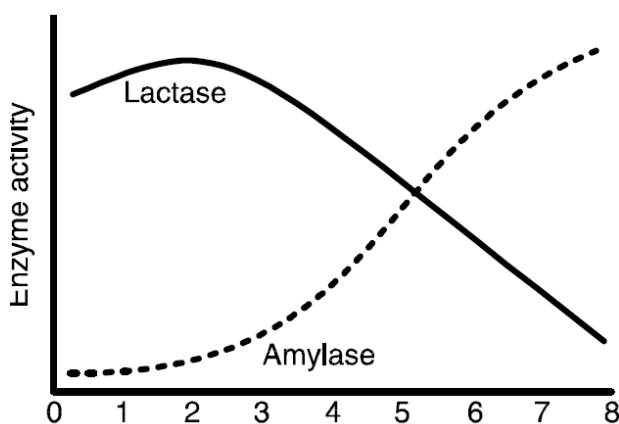
Na spenen kan er dus een enorme kolonisatie optreden van *E.coli* bacteriën. De biggen zuigen dan niet meer, waardoor de melkzuurbacteriën niet verder in stand worden gehouden. Hierdoor kunnen andere bacteriën, waaronder *E.coli* zich vasthechten aan het epithelium. De bacteriën voorkomen uitspoelen door hechting via fimbriën aan de darmmucoa.

### 1.3.6 Vertering bij biggen

Spenen zorgt voor een hele verandering in de vertering van de biggen. Tot op het moment van het spenen krijgen de biggen zeugenmelk. De zeugenmelk is zo samengesteld dat het door de biggen goed kan verteerd worden. Het bestaat uit 5,5 % ruw eiwit, 4,9 % lactose en 9,2 % ruw vet. Het bevat tevens, zoals eerder aangehaald, de nodige antistoffen. Na het spenen schakelt men over op vast voeder. Dit voeder is vaak minder goed verteerbaar en bevat soms anti – nutritionele factoren. Deze verandering in vertering zorgt voor de nodige problemen bij biggen.

#### 1.3.6.1 Enzymontwikkeling

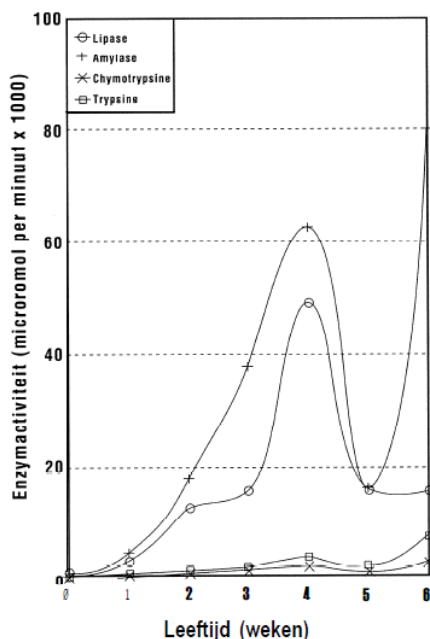
Reeds bij de geboorte produceert de big speeksellipase, lactase en chymosine. Deze enzymen zorgen respectievelijk voor de vertering van melkvet, melkeiwit en lactose.  $\alpha$  – amylase is bij de geboorte afwezig, maar stijgt met de leeftijd. Zoals men kan zien in grafiek 4 is de lactase activiteit het hoogst op een leeftijd van één week. De hoge lactase activiteit resulteert in een goede benutting van lactose aanwezig in melk gedurende de eerste levensweken.



Grafiek 4: Lactase en amylase activiteit bij jonge biggen

In de maag wordt lactose door lactobacillen gefermenteerd tot melkzuur (Makkink, 1993). Dit zorgt voor een verzuring van de maaginhoud waardoor het melkeiwit beter wordt verteerd (Vandenbussche K., 2003). Echter wordt volgens Barrow et al. pas een normale pH bereikt bij een leeftijd van 3 – 6 weken. Dit is te wijten aan de beperkte HCl productie bij jonge biggen. Het is belangrijk dat de pH zo snel mogelijk een lage waarde bereikt voor de activatie van pepsinogeen, dat verder wordt omgezet tot pepsine. Tevens is de lage pH noodzakelijk voor hydrolyse van eiwitten en koolhydraten. Een derde belangrijke functie van de lage pH is een bescherming tegen de passage van pathogene bacteriën naar de dunne darm (Fremaut, 2012). Hieruit kan men dus besluiten dat het speenvoeder voldoende lactose moet bevatten, anders zal de pH toenemen door een te geringe zuurproductie.

Een ander probleem bij de vertering is dat de secretie van proteolytische enzymen (proteasen, lipasen en amylasen) door de pancreas bij zuigende biggen nog niet volledig is ontwikkeld. Dit verklaart waarom de vertering van melkeiwitten door jonge biggen vooral in de maag plaatsvindt door het geproduceerde melkzuur en chymosine. Het nog niet volledig ontwikkeld zijn van bepaalde enzymen op een speenleeftijd van 3 of 4 weken is ook te zien in grafiek 5.



**Grafiek 5: Effect van leeftijd op de activiteit van enkele pancreas – enzymen (Lindeman et al., 1986)**

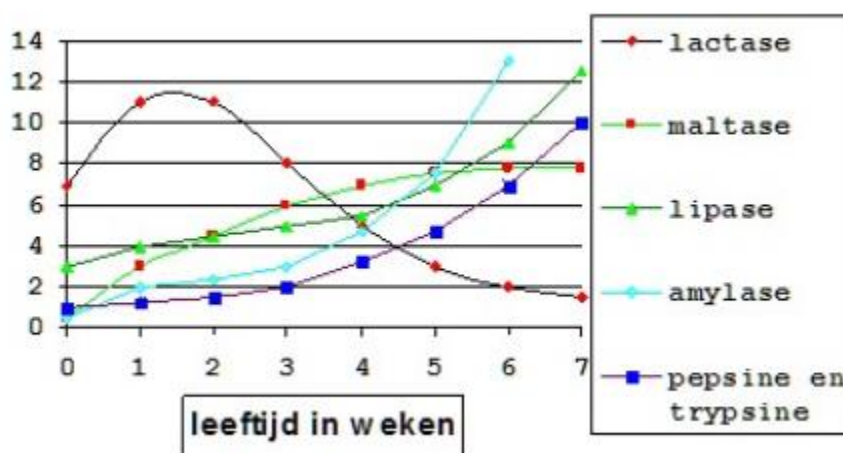
In tabel 4 ziet men een toename van de lipase activiteit tot op het moment van spenen (op 4 weken). Dit komt volgens Jensen (2004) omdat men uitgaat van een aanpassing van enzym niveaus aan de behoeften. Het vast voeder bevat namelijk minder vet dan er aanwezig is in zeugenmelk, waardoor een lagere lipase activiteit mogelijk is. De stijging van amylase is in relatie met de leeftijd van de biggen. Toch is de daling op het moment van spenen opvallend. Volgens Makkink (1993) is de reden een lagere voederopname na spenen want een week

later is de amylase activiteit opnieuw sterk toegenomen. De reden is waarschijnlijk het hoog zetmeelgehalte in het speenvoeder. Lindeman et al., hebben in 1986 reeds aangetoond dat het verschil in zetmeelgehalte leidt tot een verschil in amylase activiteit. Verder ziet men ook een stijging van chymotrypsine en trypsine volgens toename van de leeftijd. Hier vertonen beide ook een daling na spenen.

**Tabel 4: Effect van de leeftijd op de activiteit van lipase, amylase, chymotrypsine en trypsine (Lindeman et al., 1986)**

leeftijd (weken)	Lipase <sup>ae</sup> (N)	Amylase <sup>bf</sup> (N)	Chymotrypsine <sup>cf</sup> (N)	Trypsine <sup>dgh</sup> (N)
0	934 ± 199(3)	121 ± 70(3)	133 ± 28(3)	284 ± 83(3)
1	2.965 ± 743(5)	4.422 ± 1.070(6)	4 6 9 ± 84(6)	7 6 9 ± 170(6)
2	12.142 ± 5.813(5)	17.614 ± 2.908(6)	8 3 8 ± 15(6)	1.197 ± 52(6)
3	15.421 ± 2.079(6)	37.729 ± 5.550(6)	1.353 ± 134(6)	1.759 ± 219(6)
4	48.756 ± 15.043(6)	62.406 ± 9.325(5)	2.222 ± 318(5)	3.251 ± 374(6)
5	15.711 ± 3.532(6)	15.809 ± 3.829(6)	714 ± 158(6)	1.800 ± 605(6)
6	15.163 ± 3.922(4)	80.125 ± 16.832(4)	2.521 ± 465(3)	7.006 ± 2.356(4)

Het komt er dus op neer dat het voeder goed moet aangepast zijn aan de verteringscapaciteit van de biggen (Makkink, 1993). De lage productie van pancreas enzymen op het moment van spenen zorgen voor een toename van de hoeveelheid onverteerde voedselresten in de darm. De onverteerde voedselresten vormen een substraat voor een abnormale bacteriële ontwikkeling. De kans bestaat dat hier pathogenen inzitten, die kunnen de oorzaak zijn van diarree. Een voorbeeld hiervan is de productie van lactase die laag is na spenen, terwijl de big vanaf dan een dieet krijgt met veel lactose. De big krijgt nu een voeder dat bestaat uit plantaardige eiwitten en koolhydraten terwijl de productie van amylase, lipase, pepsine en trypsine zoals eerder aangehaald nog niet optimaal zijn zoals te zien is op grafiek 6. Het voeder wordt dus slechts gedeeltelijk verteerd en geabsorbeerd. Dit vormt een ideale omgeving voor de kolonisatie van *E.coli*.



**Grafiek 6: Verloop enzymproductie in functie van de leeftijd**

## Invloed van zink en koper op enzymontwikkeling

Omdat een goede ontwikkeling van de enzymproductie van groot belang is wordt er veel onderzoek gedaan naar mogelijke invloeden die de ontwikkeling van enzymen kunnen bevorderen.

Hedemann et al., deden in 2006 een onderzoek naar het effect van zinkoxide en kopersulfaat op de enzymactiviteit in de pancreas. Uit tabel 5 kan men afleiden dat het toevoegen van een hoge concentratie zink (2500 ppm) resulteert in een hogere activiteit van de pancreas voor 5 van de 7 gemeten enzymen. Bij het carboxypeptidase B ( $p = 0,36$ ) en carboxylester hydrolase ( $p=0,16$ ) werd geen verhoogde activiteit waargenomen. De amylase activiteit steeg sterk bij het toevoegen van 2500 ppm zink in vergelijking met 100 ppm zink. Ook voor carboxypeptidase A, chymotrypsine, trypsine en lipase kan men dergelijke stijging waarnemen. Amylase, chymotrypsine en lipase worden het sterkst gestimuleerd. Wat verder opvalt is dat koper geen invloed uitoefent op de enzymactiviteit van het pancreasweefsel. Tussen zink en koper werd er geen verband gevonden. Hieruit kan men besluiten dat alleen zink een positieve invloed uitoefent op de enzymactiviteiten in de pancreas (Hedemann et al., 2006).

Tabel 5: Effect van toevoegen van ZnO en CuSO<sub>4</sub> op de enzymactiviteit in de pancreas (U/gram weefsel)

Item	Zn: 100		2,500		P-value		
	Cu: 0	175	0	175	Zn	Cu	Zn × Cu
Amylase, thousands	3.2 (2.1 to 4.7)	2.8 (1.9 to 4.2)	7.4 (4.2 to 13.0)	6.6 (3.0 to 14.3)	0.001	0.52	0.99
CPA <sup>2</sup>	53.1 (6.1)	43.6 (4.0)	77.9 (13.9)	69.2 (5.8)	0.01	0.30	0.96
CPB <sup>3</sup>	49.7 (5.2)	46.0 (2.7)	54.4 (9.2)	52.5 (5.1)	0.36	0.64	0.88
Chymotrypsin	65 (47 to 90)	70 (50 to 98)	160 (90 to 285)	136 (71 to 258)	0.001	0.81	0.54
Trypsin	7.9 (6.2 to 10.0)	7.1 (5.6 to 9.0)	12.4 (8.0 to 19.4)	11.9 (8.0 to 17.7)	0.002	0.60	0.84
Lipase, thousands	2.4 (1.7 to 3.3)	2.1 (1.4 to 3.0)	5.7 (3.8 to 8.5)	4.4 (2.6 to 7.5)	0.001	0.24	0.73
CEH <sup>4</sup>	5.6 (3.8 to 8.1)	5.9 (3.9 to 8.9)	7.5 (3.9 to 14.2)	7.1 (4.6 to 10.9)	0.16	0.98	0.76

<sup>1</sup>Values are least squares means of 8 observations with the exception of the group fed 100 ppm of Zn and 0 ppm of Cu (n = 7). Values in parenthesis are 95% confidence intervals of the least squares means calculated on log-transformed data or the SE of the least squares means.

<sup>2</sup>Carboxypeptidase A.

<sup>3</sup>Carboxypeptidase B.

<sup>4</sup>Carboxylester hydrolase.

## Invloed van voederopname op enzymactiviteit van pancreas

De variatie in enzymactiviteit van de pancreas is gecorreleerd met de variatie in voederopname (Makkink et al., 1994; Marion et al., 2003).

Huguet et al., deden in 2006 onderzoek naar het niveau van voederopname in relatie met de activiteit van bepaalde enzymen. Daaruit kon hij concluderen dat een beperkte voederopname na spenen resulteerde in een daling van de specifieke lipase en amylase activiteit, maar een stijging van de trypsine activiteit. Verder deed Huguet et al., in 2006 ook een vergelijking bij biggen na spenen tussen een gewone voederopname en geen voederopname gedurende twee dagen na spenen. Uit deze proeven concludeerde hij dat zowel de activiteit van trypsine en lipase lager liggen bij geen voederopname gedurende de eerste twee dagen. Daartegenover is de activiteit van amylase hoger bij geen voederopname gedurende de eerste twee dagen.

Marion et al., deden in 2003 tevens een onderzoek naar het niveau van voederopname. Zij concludeerden dat de amylase activiteit 2,3 maal hoger was bij een hoge voederopname in vergelijking met een lage voederopname. Echter in tegenstrijdigheid met Huguet et al., concludeerden Marion et al., een lipase activiteit die 1,3 maal hoger lag bij een lagere voederopname in vergelijking met een hogere voederopname.

In een ander onderzoek van Owsley et al., in 1986 werd een vergelijking gemaakt tussen verschillende voeders. Er was een controlevoeder, een controlevoeder + 20 % wei en een controlevoeder + 5 % reuzel. Ook hieruit kan men verschillen afleiden. De trypsine activiteit in de darm was voor het voeder met 20 % extra wei het hoogst. Maar in de pancreas had het voeder met 20 % extra wei de laagste activiteit. Het voeder met 5 % extra reuzel had daar de grootste activiteit. De chymotrypsine activiteit was het hoogst bij het voeder met 20 % extra wei, maar per kg lichaamsgewicht ging dit voordeel verloren. Voor de amylase activiteit kon men duidelijk concluderen dat het voeder met 20 % extra wei de laagste activiteit had.

Deze 3 onderzoeken bewijzen dat er wel degelijk een invloed is van het niveau in voederopname en het soort voeder op de enzymactiviteit. Maar het is duidelijk dat er in de literatuur tot hiertoe geen duidelijk besluit kan worden getrokken.

### **1.3.6.2 Invloed pH van de maag**

Omdat pepsinogeen pas geactiveerd wordt tot pepsine in sterk zure omstandigheden is het belang van de pH in de maag niet te onderschatten. De optimale pH voor pepsine is 2 en 3,5. Wanneer de pH hoger wordt dan 6 dan gaat de eiwitsplitsende werking van het enzym verloren (Vandenbussche K, 2003). Bij een lagere eiwitvertering in de maag zullen er meer voedingseiwitten in de dunne darm terecht komen. Gevolg hiervan is een gereduceerde eiwitvertering en pancreassecretie (Partanen et al., 2001b). Daarnaast bepaalt de zuurtegraad van de digesta ook de snelheid waarmee de maag wordt geledigd. Zuurdere digesta betekent een tragere maaglediging en dus een langere vertering wat positief is.

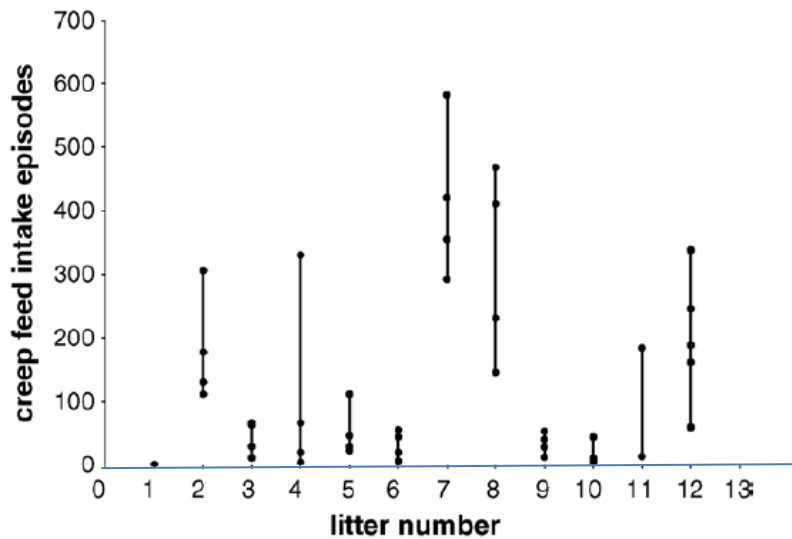
### **1.3.6.3 Vast voeder in de kraamstal**

In de literatuur bestaat er veel onduidelijkheid over het geven van vast voeder in de kraamstal in relatie met het voorkomen van diarree (Pluske et al., 2005). Voeder in de kraamstal kan resulteren in een gezondere big met betere groei (Skirrow et al., 1997), maar kan ook geen effecten vertonen (Barnett et al., 1997). Anderen vonden zelf een negatief effect van vast voeder op spendiarae (Mathew et al., 1994). Waar men het in de literatuur wel allemaal over eens is, is dat de voederopname in deze periode sowieso laag is.

Ook is het belangrijk om te weten dat er groot verschil mogelijk is in de voederopname binnen een toom of tussen tomen (Kuller et al., 2007). Dit werd reeds eerder aangetoond in een onderzoek van Carstensen et al., in 2005. In grafiek 7 is het verschil in voederopname in en tussen tomen door Carstensen et al., (2005) aangetoond. Wanneer men bijvoorbeeld kijkt naar toom 8, ziet men dat big één ongeveer 120 gram voeder opneemt en big vier 475 gram. Dit is een aanzienlijk verschil. Ook tussen tomen is er een groot verschil, dit is bijvoorbeeld goed te zien wanneer men toom 3 met toom 7 vergelijkt. Bij toom 3 is de hoogste

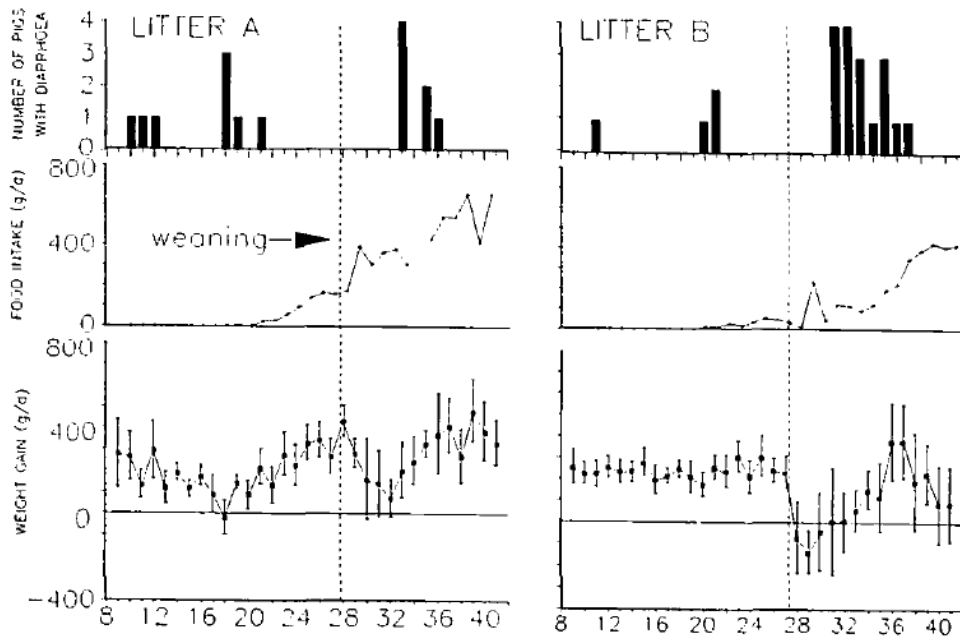


voederopname ongeveer 75 gram, terwijl in toom 7 de hoogste voederopname ongeveer 600 gram is.



**Grafiek 7: Variatie opname vast voeder in kraamstal in en tussen tomen (Carstensen et al., 2005)**

Onderzoek van Carstensen et al., in 2005 toonde ook aan dat het geven van vast voeder in de kraamstal geen significant effect had op het voorkomen van diarree. Er was wel een tendens naar minder diarree bij het geven van vast voeder in vergelijking met geen vast voeder, met respectievelijk 28 % en 41 %. Tevens had de hoeveelheid voeder een invloed op het voorkomen van diarree. Wanneer er geen voeder werd opgenomen in de kraamstal kwam diarree in 41 % van de gevallen voor. Bij een lage voederopname was dit slechts 13 %, terwijl dit bij een hoge voederopname 45 % was. Volgens Pajor et al., (1991) heeft de gewichtstoename na spenen ook een invloed op het voorkomen van diarree (zie grafiek 8). Uit onderzoek in 1991 is gebleken dat een lagere gewichtstoename na spenen resulteert in het meer voorkomen van diarree (zie litter B grafiek 8). Een lagere gewichtstoename na spenen is uit onderzoek van Pajor et al., (1991) waar te nemen bij biggen met een lage of geen voederopname in de kraamstal (zie litter B grafiek 8). Dus volgens Pajor et al., (1991) resulteert een hoge voederopname in de kraamstal in een vermindering van diarree. In een ander recent onderzoek van J.Callesen et al., in 2007 is er geen correlatie gevonden tussen het niveau van voederopname in de kraamstal en het voorkomen van diarree. Het is duidelijk dat men geen duidelijk besluit kan trekken rond het voorkomen van diarree in relatie met de voederopname in de kraamstal.



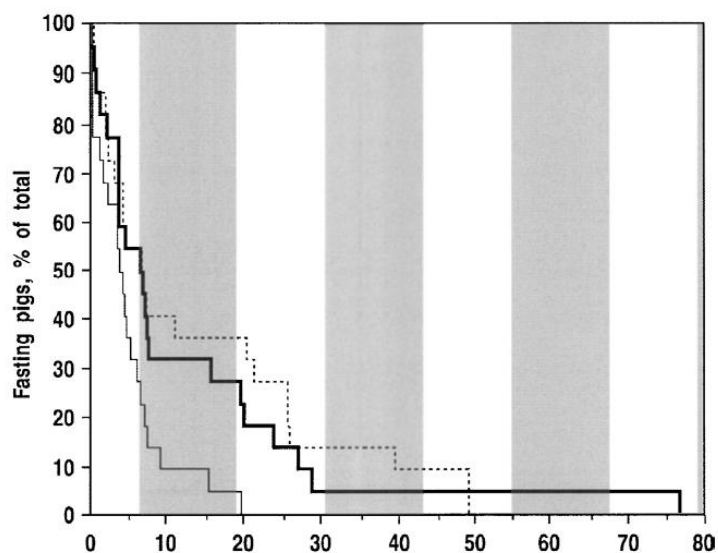
**Grafiek 8: Aantal biggen met diarree in relatie met voederopname in kraamstal en gewichtstoename na spenen (Pajor et al., 1991)**

Omdat onderzoekers het belang van vast voeder in de kraamstal toch niet onderschatten gaat men steeds op zoek naar methodes om de voederopname in de kraamstal te bevorderen. Dit om de enzymontwikkeling reeds vroeger te starten, zodat de overgang naar vast voeder in de batterijperiode geleidelijker verloopt. De biggen zijn dan meer aangepast om vast voeder te verteren waardoor minder onverteerde voedselresten in de dikke darm terecht komen. Hierdoor is er een lagere kans op het voorkomen van diarree. In het kader van een hogere voederopname in de kraamstal hebben Kuller et al., in 2007 onderzoek gedaan naar IS (intermittent suckling). Dit is een techniek waarbij biggen elke dag, gedurende een paar uur (meestal 12 uur) gescheiden worden van de zeug. Meestal wordt dit gedaan van 2 weken na geboorte tot aan het spenen. In tabel 6 kan men het effect hiervan waarnemen. Van dag 14 tot dag 20 had men in de controle proef 2 gram/big/dag opgenomen, terwijl dit voor IS 15 gram/big/dag is. Van dag 21 tot dag 24 was dit 12 gram/big/dag voor de controle en 31 gram/big/dag voor IS. Hieruit kan men afleiden dat IS een positieve invloed heeft op de voederopname in de kraamstal. Uit tabel 6 kan men verder afleiden dat het verschil in voederopname na spenen steeds kleiner wordt. Er is dus geen langdurig effect van IS (Kuller et al., 2007). Wat niet in de tabel is weergegeven maar wel een besluit is van het onderzoek van Kuller et al., is dat het gewicht van de biggen bij spenen bij IS lager is dan in de controle. Dit verschil is goedge maakt één week na het spenen (Henderson & Hughes, 1984; Kuller et al., 2004a).

Tabel 6: Invloed van IS (Intermittent Suckling) (Kuller et al., 2007)

Item	Treatment <sup>1,2</sup>			
	Control, n = 31	SE	IS, n = 31	SE
	ADFI, g·piglet <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>			
T7 to T13 <sup>3</sup>	6 <sup>a</sup>	1	4 <sup>b</sup>	1
T14 to T20	2 <sup>a</sup>	1	15 <sup>b</sup>	1
T21 to T24 (weaning)	12 <sup>a</sup>	5	31 <sup>b</sup>	5
T25 to T31	157 <sup>a</sup>	25	201 <sup>b</sup>	24
T32 to T38	570 <sup>a</sup>	35	667 <sup>b</sup>	33
T39 to T45	697	33	760	28
T46 to T52	891	35	919	32

Volgens een onderzoek van Bruininx et al., in 2002 heeft de hoeveelheid voeder in de kraamstal ook een invloed op het interval tussen spenen en de start van voederopname in de batterijperiode. Dit is te zien in grafiek 9. De dunne lijn vertegenwoordigt de biggen die in de gedurende de volledige kraamstalperiode vast voeder hebben opgenomen, de dikke lijn staat voor de biggen die niet altijd hebben gegeten in de kraamstal en de stippellijn voor de biggen die niets hebben gegeten in de kraamstal. Bij de biggen die gedurende de volledige kraamstalperiode vast voeder hebben opgenomen is na 20 uur iedere big begonnen met de opname van voeder in de batterijperiode, terwijl dit bij biggen die niet altijd hebben gegeten in de kraamstal pas na 80 uur is. De biggen die niets hebben gegeten in de kraamstal zitten daar middenin, deze hebben reeds na 50 uur al gegeten in de batterijstal. Hieruit kan men volgens Bruininx et al., (2002) duidelijk besluiten dat het geven van vast voeder in de kraamstal de voederopname na spenen stimuleert.



Grafiek 9: % biggen dat nog niet had gegeten in functie van de tijd voor de verschillende diëten (Bruininx et al., 2002)

#### **1.3.6.4 Invloed van bron en hoeveelheid eiwit op speendiarree**

##### **Bron van het eiwit**

Plantaardige eiwitten hebben een negatieve invloed op de groei en de gezondheid van biggen onmiddellijk na spenen (Heo et al., 2013). Er is een verminderde activiteit van de meeste enzymen in het darmkanaal en een verlaagde verteerbaarheid van energie en stikstof in vergelijking met voeders op basis van caseïne (Salgado et al., 2002).

Uit een studie is gebleken dat plantaardige eiwitten zorgen voor een lagere chymotrypsine activiteit en een verhoogde kans op diarree en ETEC bij biggen (Makkink et al., 1994). Terwijl andere auteurs geen verschil vonden in ETEC excretie en de gezondheid van de darm (Wellock et al., 2008b).

Het verwerken van plantaardige eiwitten, bijvoorbeeld microbieel gefermenteerde sojabonen, verbetert de nutritionele waarde voor de big. Er wordt een hogere groei vastgesteld, een stijging van het aantal lactobacilli, een daling van de enterobacteriën en een verhoogde verhouding van villushoogte/cryptediepte (Kim et al., 2006; Wang et al., 2007). Dierlijke eiwitten resulteren in betere groeiprestaties en een betere verteerbaarheid van nutriënten (Yun et al., 2005).

##### **Hoeveelheid eiwit**

Vele pathogenen zoals ETEC prefereren gefermenteerd eiwit. Aanpassing van de hoeveelheid eiwit is dus een belangrijke factor om de hoeveelheid diarree bij biggen te verminderen (Stein & Kill, 2006). Het geven van een speenvoeder met een hoog gehalte aan eiwitten veroorzaakt een slechte eiwitvertering (Högberg & Lindberg, 2004). Er komen meer onverteerde eiwitresten in de dikke darm terecht, die daar een bron zijn voor de bacteriën (Heo et al., 2013). Het voederen van een dieet met < 180 g/kg eiwit in de periode kort na spenen zorgt voor een lagere eiwit fermentatie in het maagdarmkanaal (Htoo et al., 2007) en verbetert de fecale consistentie (Nyachoti et al., 2006; Yue en Qiao., 2008). Daarnaast zou het voederen van een dieet met < 170 g/kg eiwit zorgen voor minder ontstekingsreacties (Opapeju et al., 2010) en een lager aantal ETEC bacteriën in de dunne en dikke darm (Opapeju et al., 2009). Door de lagere hoeveelheid eiwit in het voeder wordt de vraag gesteld of de groeiprestaties niet minder zijn in vergelijking met een hoge hoeveelheid eiwit in het voeder (Wellock et al., 2006a, 2008b; Yue en Qiao, 2008). Daarom werden proeven uitgevoerd waaruit men kan besluiten dat een lage hoeveelheid eiwit gecombineerd met een ideaal aminozuur gehalte (lysine, methionine, tryptofaan, threonine, valine en isoleucine) niet resulteerde in een mindere groei (Lordelo et al., 2008; Norgaard en Fernandez, 2009). Verder hebben Opapeju et al., (2009) aangetoond dat het lagere eiwitgehalte geen negatieve invloed heeft op de brush – border enzymen.

### **1.3.7 Verandering in de omgeving van de biggen**

Een andere omgeving voor de biggen resulteert in een lagere voederopname gedurende de eerste dagen, wat een mogelijke oorzaak kan zijn voor het ontstaan van speendiarree (zie eerder).

Ook het opnieuw instellen van de sociale rangorde kan er voor zorgen dat de voederopname gedurende de eerste dagen wordt gedrukt. Bij het instellen van de sociale rangorde spelen vooral bezettingsdichtheid, grootte en homogeniteit van de tomen een belangrijke rol (Goeminne S, 2011).

Ook het klimaat heeft een invloed op de voederopname. Volgens Bruininx et al., (2002) zorgt een lichtschema van 23 uur licht en 1 uur donker voor een betere voederopname gedurende de eerste 2 weken in vergelijking met 8 uur licht en 16 uur donker. Ook is er negatieve relatie tussen de omgevende temperatuur en de voederopname (Glatz, 2001). Natuurlijk speelt ook de oppervlaktehoeveelheid per big een rol in de voederopname. Hoe meer ruimte de dieren ter beschikking hebben, hoe hoger de voederopname zal zijn (Brumm et al., 2001).

## 2. GEBRUIK VAN ZUREN IN DE ZEUGENHOUDERIJ

### 2.1. Inleiding

Na het spenen, worden jonge biggen onderworpen aan verschillende stressfactoren (zie hoofdstuk 1). Vooral nutritionele factoren, omgevingsfactoren en sociale factoren spelen daarin een belangrijke rol (Pluske et al., 1997). Deze stressfactoren leiden vaak tot groeidepressie en speendiarree. Omwille van de werking als groeibevorderaar en het voorkomen van ziektes krijgen organische zuren daarom steeds meer aandacht (Brooks, 2008; Plumed – Ferrer & Von Wright, 2009; Missotten et al., 2010; Papatsiros et al., 2011).

Om deze problemen te voorkomen wordt in de varkenswereld vaak gekozen voor het gebruik van antibiotica (Partanen en Morz, 1999). Het gebruik van antibiotica heeft een antimicrobiële werking (Dibner en Buttin, 2002). Echter heeft het gebruik van antibiotica veel neveneffecten, waaronder antibiotica resistentie en antibiotica residuen in vlees. Door de druk van de buitenwereld daalt het gebruik van antibiotica in Europa, maar ook in andere delen van de wereld zoals Noord – Amerika (Dibner en Richards, 2005).

Er wordt daarom heel wat onderzoek verricht naar mogelijke vervangers voor het gebruik van antibiotica. In dat opzicht is er heel wat onderzoek gedaan naar het gebruik van bepaalde zuren. Reeds in 1968 deden Cole et al., onderzoek naar het consumeren van organische zuren in drinkwater. Zij concludeerden toen dat organische zuren een verbetering van de groeiprestaties veroorzaakten en een daling van *E.coli* in de darmen van pas gespeende biggen. Kirchgessner en Roth concludeerden uit hun studie in 1987 reeds een verhoging van de groei met 5 %. Hansen et al., stelden in 2004 een daling van de pH van de maag vast. Meer recentere onderzoeken waaronder die van Tsiloyiannis et al., (2001) melden dat organische zuren de groei en ontwikkeling van pathogenen in het verteringsstelsel in de hand houden. Andere recente onderzoeken hebben echter aangetoond dat er geen effecten waar te nemen zijn door het gebruik van organische zuren op de groeiprestaties en de reductie van *E.coli* (Omogbenigun et al., 2003; Sacakli et al., 2006).

Er is dus een grote variatie waar te nemen in de verschillende studies die zijn uitgevoerd. De oorzaak zijn waarschijnlijk de variërende omstandigheden waarin varkens opgroeien, aangezien hygiëne een grote invloed heeft op het voorkomen van diarree. Ook de verschillende samenstellingen van het speenvoeder heeft een invloed op de resultaten. Een voeder met daarin melkproducten zal minder effect vertonen van supplementaire verzuring dan voeder dat geen melkproducten bevat. De verschillende resultaten zijn ook afhankelijk van de buffercapaciteit van het voeder. De buffercapaciteit heeft een invloed op de werking van organische zuren. Een voeder met hogere gehalten aan mineralen en eiwitten heeft een hogere buffercapaciteit (Partanen, 2001).

Naast organische zuren, zijn er ook anorganische zuren en zouten van organische zuren. In de varkenswereld worden anorganische zuren echter weinig gebruikt. Anorganische zuren zijn vaak sterke zuren, zijn relatief giftig en niet erg smakelijk. Daarnaast hebben ze enkel een pH – verlagend effect (Kirchgessner & Roth, 1987). Deze hebben geen invloed op de

prestaties van de biggen zoals de groeisnelheid en voederconversie (Metzler en Mosenthin, 2007). Daarom neemt men aan dat niet het proton voor pH – verlaging zorgt, maar het anion van het zuur. Voorbeelden van anorganische zuren zijn zoutzuur, fosforzuur en salpeterzuur. Organische zuren daarentegen zijn zwakkere zuren en redelijk smakelijk. Nadeel van deze organische zuren is de hogere kostprijs. Hun effect is dubbel: ze werken pH – verlagend maar zijn ook van zichzelf bacteriedodend. Echter zijn er tussen de diverse organische zuren grote verschillen in werking (Dierenartsenpraktijk, 2004). Daarnaast worden natrium, kalium en calcium zouten vaak gebruikt, omdat deze vaak betere resultaten opleveren dan organische zuren (Papatsiros & Billinis, 2012). Een ander voordeel van zouten is dat ze geurloos zijn en gemakkelijker te behandelen in het productieproces omdat ze vast en weinig vluchtig zijn (Papatsiros & Billinis, 2012). Tevens zijn ze minder corrosief en meer oplosbaar in water dan de gewone zuren (Partanen & Mroz, 1999). Uit bepaalde onderzoeken werden gunstige effecten waargenomen voor het gebruik van zouten, terwijl in andere studies (Biagi et al., 2007; Weber & Kerr, 2008) geen positieve effecten werden vastgesteld (zie later grafiek 12).

Uit vele onderzoeken (Hardy, 2002; Franco et al., 2005; Partanen et al., 2007; Kasproicz – Potocka et al., 2009) is gebleken dat het aangewezen is een mengsel van zuren te gebruiken in plaats van zuren enkelvoudig toe te dienen. Oorzaak is waarschijnlijk de andere dissociatie omstandigheden van deze zuren in de verschillende locaties van het verteringskanaal van de biggen.

## **2.2. Zuren via het water of via het voer**

In tegenstelling tot de lage en variabele voederopname na spenen, is de wateropname de eerste 24 uren na spenen hoger dan op de volgende dagen (Dybkjaer et al., 2006). Dit zou suggereren dat het efficiënter is om organische zuren via het water toe te dienen aan gespeende biggen. Er zijn hierop heel wat onderzoeken uitgevoerd. Reeds in 1968 deden Cole et al., hiernaar onderzoek. Zij concludeerden dat 0,8 % melkzuur via het drinkwater resulteerde in een verbetering van de dagelijkse gewichtstoename en voederconversie. Daarnaast besloot Daniels in 1983 dat het geven van propionzuur via het drinkwater resulteerde in een zwaardere big van gemiddeld 2 kg. Ook onderzoek van Vandebussche in 2004 toonde dit aan. Hij bewees de veronderstelling van Dybkjaer et al., dat er een betere groei is van de zuurwatergroep in de 1<sup>e</sup> fase dan de zuurvoedergroep. Dit is te wijten aan de hogere opname van water in de 1<sup>e</sup> fase zoals eerder aangehaald (Dybkjaer et al., 2006). Hij concludeerde ook dat er tussen de zuurwatergroep en zuurvoedergroep in de volgende fasen slechts kleine verschillen waar te nemen zijn. Een recenter onderzoek van Walsh et al. in 2007 toonde dat het toevoegen van een organisch zuur, aan een concentratie van 0,258 %, zorgde voor een dagelijkse toename in voederopname van 25 gram/dag tussen dag 21 en 34 na spenen. Ook werd een hogere wateropname van liefst 47 % vastgesteld. Dit is duidelijk te zien in de rechterkant van tabel 7. In de derde week is de wateropname 44 % hoger, in week vier is dit 49 % en in week vijf is de wateropname nog steeds 49 %. Dit is een duidelijk effect dat de wateropname door het gebruik van zuren zou toenemen.

Tabel 7: Wateropname en pH in verband met gebruik van organische zuren (Walsh et al., 2007)

Treatment <sup>1</sup>	d 5			d 32			Rate, mL/L	Wk 3 L-pig <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	Wk 4 L-pig <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	Wk 5 L-pig <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>
	pH	Iron content, mg/L	Coliform 24 h, cfu/g	pH	Iron content, mg/L	Coliform 24 h, cfu/g				
Control	7.51	0.30	<10	7.13	0.22	<10		3.63	4.05	4.20
Acid	4.60	11.25	<10	4.69	1.98	<10	2.23	5.22	6.02	6.24

<sup>1</sup>Control = no acidifier in the drinking water. Acid = acidifier in the drinking water at 2.58 mL/L.

## 2.3. Werkingsmechanismen

Gespeende biggen produceren onvoldoende HCl om de pH in de maag zo dicht mogelijk bij 3,8 te houden. Rond deze pH is de vertering van eiwitten en de populatie van lactobacilli optimaal en worden de schadelijke bacteriën geremd. Ook hebben biggenvoerders vaak een hogere buffercapaciteit, waardoor de lagere pH in de maag wordt tegengewerkt. Daarom kunnen organische zuren een bijdrage leveren aan een lagere pH (Blanchard et al., 2000). Naast het zorgen voor een lage pH zijn er nog andere werkingsmechanismen van zuren. Er zijn reeds heel wat onderzoeken gedaan naar de verschillende werkingsmechanismen van zuren op de groei en gezondheid van varkens. Echter is het nog niet duidelijk welke deze juist zijn. In de volgende onderverdelingen worden een aantal van deze mechanismen uitgewerkt.

### 2.3.1 Antimicrobieel effect

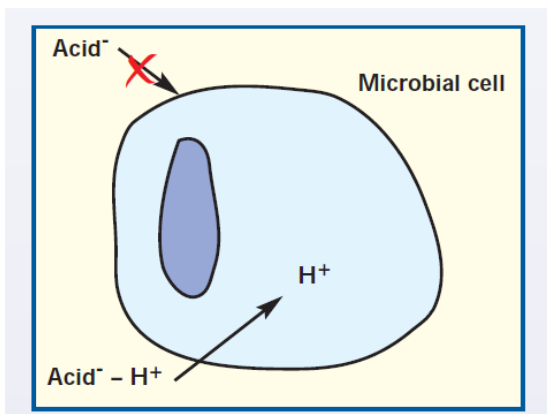
Niet alleen antibiotica, maar ook zuren hebben een antimicrobiële werking (Suryanarayana et al., 2012). Organische zuren kunnen de groei van bacteriën (vooral van gram – negatieve bacteriën zoals: *Salmonella* spp. en *E.coli*), gisten en schimmels reduceren. Door de pH daling in de maag wordt de concentratie van alle types bacteriën gereduceerd. Echter in de dunne darm kunnen enkel de organische zuren met een antibacteriële activiteit de groei van bacteriën remmen (Papatsiros & Billinis, 2012). Dit is de grootste reden waarom deze zuren voorgesteld werden om de schade door diarree bij jonge biggen te verminderen (Jensen et al., 2001, Tsiloyiannis et al., 2001a, 2001b; Piva et al., 2002a; Papatsiros et al., 2011).

De organische zuren kan men onderverdelen in twee grote groepen (Papatsiros & Billinis, 2012). De eerste groep bevat organische zuren met een indirect effect op de daling van de bacteriële populatie door een pH verlaging. Deze zuren werken vooral in op de maag. Bij deze eerste groep horen: fumaarzuur, citroenzuur, appelzuur en melkzuur. De tweede groep bevat de organische zuren die het vermogen hebben om de pH te verlagen en rechtstreeks te interfereren met de bacteriële cel met complexe enzymen. Deze enzymen vernietigen het celmembraan en beïnvloeden het mechanisme van de DNA duplicatie waardoor bacteriële voortplanting voorkomen wordt (Castro, 2005). Tot de tweede groep behoren volgende organische zuren: mierenzuur, azijnzuur, propionzuur en sorbinezuur (Papatsiros & Billinis, 2012).



Organische zuren verbeteren de prestaties van biggen door een verminderde microbiële competitie met de big voor voedingsstoffen, er is een lager risico op subklinische infecties en een daling van de productie van schadelijke bacteriën (Suryanarayana et al., 2012). Het komt er volgens Fuller (1977) op neer dat de zure omstandigheden in de maag zorgen voor de groei van lactobacilli, die zo de plaats innemen waar *E.coli* niet kan groeien. Niet alle organische zuren hebben een antimicrobieel effect. Organische zuren met een specifiek anti microbiële werking zijn de kortketen vetzuren (C1 – C7). Hier vallen mierenzuur, azijnzuur, propionzuur, boterzuur, melkzuur, appelzuur en citroenzuur onder. Ook de zouten van sommige van deze organische zuren hebben een antimicrobieel effect. Andere zuren zoals fumaarzuur hebben een werking tegen schimmels (Dibner & Buttin, 2002).

De aanwezigheid van bacteriën in het maagdarmkanaal zorgt altijd voor een competitie met de gastheer voor het opnemen van nutriënten. Het is aangetoond dat 6 % van de netto energie in biggenvoerders verloren gaat aan microflora (Suryanarayana et al., 2012). De niet – gedissocieerde organische zuren kunnen de bacteriële celwand penetreren en daar de normale werking van de bacterie verstoren (Lambert en Stratford, 1999). Het is aangetoond dat enkel de niet – gedissocieerde vorm van de organische zuren een antimicrobiële werking hebben (zie figuur 2). De zuren doden de bacteriën niet, maar verhinderen wel hun groei (Lambert en Stratford, 1999).



**Figuur 2: Enkel de niet gedissocieerde vorm kan de microbiële cel binnendringen**

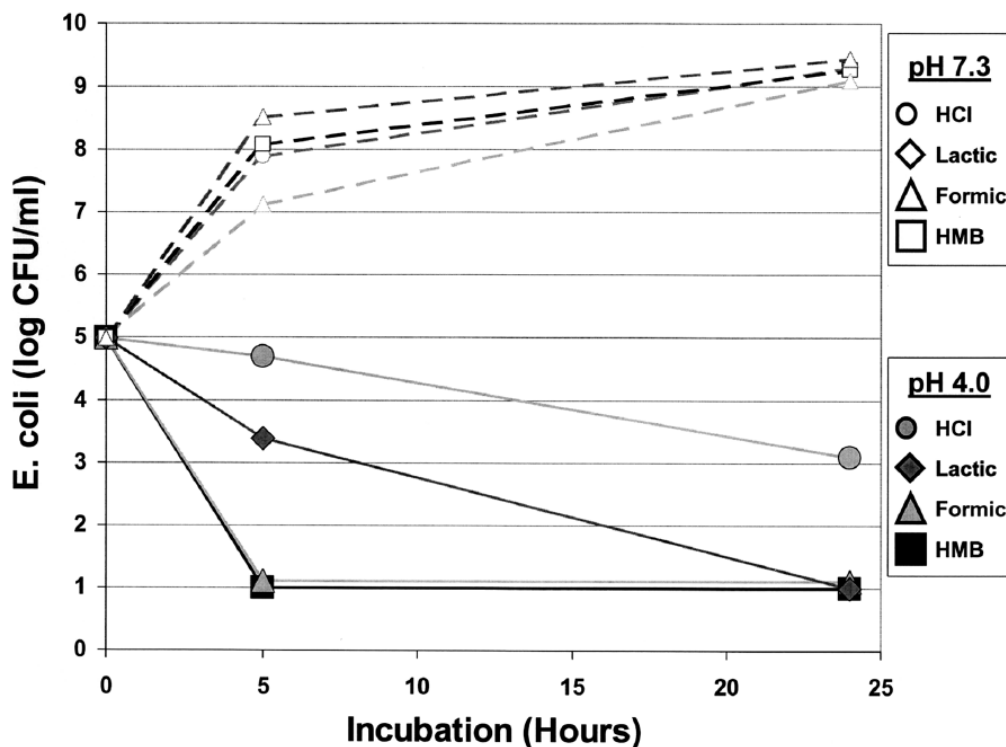
Bij een lagere pH wordt het aandeel ongedissocieerd zuur groter (Dibner & Buttin, 2002). De pH – waarde, waarbij de hoeveelheden gedissocieerd en ongedissocieerd zuur gelijk zijn, is de pKa – waarde. Zoals te zien in tabel 8 liggen de meeste pKa – waarden tussen 3 en 5. De ongedissocieerde vorm van de organische zuren kan binnendringen in het plasmamembraan van het micro – organisme (organische zuren zijn dus lipofiel) (Ricke, 2003). Na passage door het plasmamembraan komt het ongedissocieerde zuur in het cytoplasma. Daar heerst ongeveer een neutrale pH. Op dat moment wordt er een nieuw evenwicht ingesteld, hiervoor moet het organische zuur dissociëren. bij bacteriën die een neutrale pH in het cytoplasma moeten behouden. De geladen ionen kunnen niet door het plasmamembraan diffunderen, waardoor de concentratie van anionen in het cytoplasma stijgt. De protonen die afgesplitst worden doen de intercellulaire pH dalen. Hierdoor zou de

groei van de bacteriën moeten verminderen omdat het de glycolyse en het actief transport verstoort (Dibner & Buttin, 2002).

**Tabel 8: Chemische karakteristieken van bepaalde organische zuren (Dibner & Buttin, 2002)**

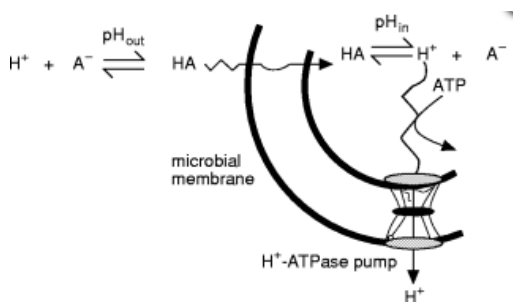
Acid	Chemical name	Formula	MW	pKa
Formic	Formic Acid	HCOOH	46.03	3.75
Acetic	Acetic Acid	CH <sub>3</sub> COOH	60.05	4.76
Propionic	2-Propanoic Acid	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	74.08	4.88
Butyric	Butanoic Acid	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	88.12	4.82
Lactic	2-Hydroxypropanoic Acid	CH <sub>3</sub> CH(OH)COOH	90.08	3.83
Sorbic	2,4-Hexandienoic Acid	CH <sub>3</sub> CH:CHCH:CHCOOH	112.14	4.76
Fumaric	2-Butenedioic Acid	COOHCH:CHCOOH	116.07	3.02
HMB	2-Hydroxy-4-Methylthio Butanoic Acid	CH <sub>3</sub> SCH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH(OH)COOH	149.00	3.86
Malic	Hydroxybutanedioic Acid	COOHCH <sub>2</sub> CH(OH)COOH	134.09	3.40
Tartaric	2,3-Dihydroxy-Butanedioic Acid	COOHCH(OH)CH(OH)COOH	150.09	2.93
Citric	2-Hydroxy-1,2,3-Propanetricarboxylic Acid	COOHCH <sub>2</sub> C(OH)(COOH)CH <sub>2</sub> COOH	192.14	3.13

In grafiek 10 is duidelijk te zien dat een lagere pH, (hier pH 4 ten opzichte van pH 7), wat betekent meer ongedissocieerd zuur, resulteert in een lagere groei van *E.coli*. Verder valt ook op dat het soort zuur een invloed speelt op het voorkomen van *E.coli*. Gewoon toevoegen van zoutzuur bij pH 4 (omstandigheden in de maag) zorgt voor de grootste groei van *E.coli*. Melkzuur bereikt na 24 uur dezelfde lage groei van *E.coli* als mierenzuur en hydroxymethylthiobutaanzuur. Bij pH 7,3 is de groei van de *E.coli* na 24 uur zo goed als overal gelijk. De waarden voor *E.coli* zijn veel hoger bij pH 7,3 dan pH 4.



**Grafiek 10: Effect van het toedienen van zuren bij verschillende pH's op het voorkomen van *E.coli* (Dibner & Buttin, 2002)**

Maar bacteriën hebben een mogelijke resistentie ingebouwd. De bacteriën kunnen de pH van het cytoplasma opnieuw laten stijgen door met behulp van H<sup>+</sup>-ATPase pompen (die zich in het plasmamembraan bevinden) H<sup>+</sup> ionen buiten het cytoplasma te brengen (zie figuur 3). Dit is een actief transport, wat betekent dat er ATP wordt verbruikt en er energie verloren gaat. Omdat er steeds organisch zuur door het plasmamembraan blijft diffunderen, blijft de pH van het cytoplasma toch laag, waardoor de H<sup>+</sup>-ATPase pompen constant blijven werken. De blijvende werking van de pompen zorgt voor veel energieverlies. Dit gaat ten koste van de ontwikkeling van het micro – organisme (Vandenbussche, 2002). Er is dus onvoldoende energie over om aan DNA replicatie te doen.



**Figuur 3: H<sup>+</sup>-ATPase pompsysteem (Lambert en Stratford, 1998)**

Resistentie kan van generatie op generatie overgedragen worden. Door het erfelijk vermogen kunnen bacteriën dus de werking van zuren overleven (Ricke, 2003). Bacteriën kunnen tolerant worden ten opzichte van zure omstandigheden door het vermogen dat ze hebben om te overleven en vermenigvuldigen bij letale omstandigheden (Foster, 1995). Wanneer bacteriën worden blootgesteld aan stressfactoren bij een sub letaal niveau, dan zullen de bacteriën zich aanpassen zodat ze kunnen overleven in letale omstandigheden. Dit blijkt ook uit onderzoek van Sanchez et al. (2007). Er werden *E.coli* stammen gekweekt bij een pH van 5 en andere bij een pH van 7. Daarna werden ze blootgesteld aan een pH van 3,5. De stammen die werden blootgesteld aan pH 7, hadden een betere groei in vergelijking met die gekweekt bij pH 5. In tabel 9 is in de eerste kolom een gevoelige bacterie weergegeven voor sub letale dosissen. Hierin is duidelijk te zien dat de levensvatbaarheid bij een hogere pH (sub letale dosis) hoger is in vergelijking met een lagere pH (letale dosis).

**Tabel 9: Invloed van subletale dosissen op ontwikkeling bacteriën (Sanchez et al., 2007)**

pH	% Viability (SYTO9) <sup>b</sup>	
	NCIMB 8809	8809dpH
6.4	94.87 ± 6.62	97.39 ± 1.15
5.0	68.16 ± 4.30	96.84 <sup>e</sup> ± 0.86
4.0	32.89 ± 1.74	94.06 <sup>e</sup> ± 1.27
3.5	1.79 ± 0.50	77.58 <sup>e</sup> ± 1.80
2.5	0.00 ± 0.10	44.05 <sup>e</sup> ± 1.70

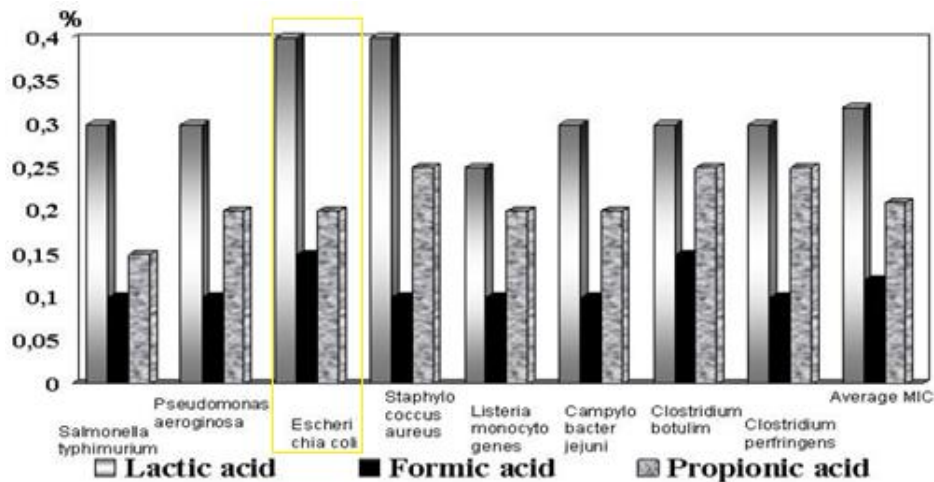
Wanneer de pH lager wordt dan 4,5 wordt de sporulatie van gisten en schimmels verhinderd, tevens wordt de ontwikkeling van coliformen beperkt. *E.coli* ontwikkelt het best bij een pH tussen 5,0 en 7,0, voor *salmonella* is dit tussen 6,5 en 7,5. Melkzuurbacteriën daarentegen kunnen wel een lage pH verdragen waardoor deze verder ontwikkelen door het toevoegen van zuren (zie tabel 10). Uit proeven van Knarreborg et al., (2002) is vastgesteld dat niet alle organische zuren de groei van coliformen even sterk remmen bij een pH lager dan 4,5. Het grootste effect is gevonden bij benzoëzuur, dan fumaarzuur, melkzuur, mierenzuur en propionzuur. De melkzuurbacteriën ondervinden enkel last van fumaar – en benzoëzuur. Daarnaast kan men besluiten dat ieder zuur een eigen spectrum heeft qua antimicrobiële activiteit. Dit is voor ieder zuur afhankelijk van de concentratie en pH (Chaveerach et al., 2002). Melkzuur is bijvoorbeeld efficiënter om de pH van de maag en coliformen te verlagen (Tsiloyiannis et al., 2001a; Overland et al., 2007). Terwijl mierenzuur en propionzuur een bredere antimicrobiële activiteit hebben en effectief zijn tegen bacteriën (coliformen, clostridia en *Salmonella*), schimmels en gisten (Bosi et al., 2005; Creus et al., 2007; Overland et al., 2007). Verder blijkt uit onderzoek van Kluge et al. (2006) dat het toevoegen van 0,5 % en 1 % benzoëzuur resulteerde in een daling van de aerobe bacteriën, anaerobe bacteriën en gram negatieve bacteriën. Er werd ook een daling vastgesteld van de melkzuurbacteriën, dit bevestigt het onderzoek van Knarreborg et al., (2002). Tevens zorgt benzoëzuur in het duodenum voor een reductie van het aantal gram negatieve bacteriën.

**Tabel 10: Bacteriële groei en groei van melkzuurbacteriën bij een pH = 4,5 met verschillende zuren (Knarreborg et al., 2002)**

Acid (100 mM)	Coliform bacteria (h <sup>-1</sup> )	Lactic acid bacteria (h <sup>-1</sup> )
Control	-0.25	0.63
Propionic acid	-0.19	0.53
Formic acid	-0.69	0.24
Butyric acid	-1.16	0.28
Lactic acid	-1.39	0.53
Fumaric acid	-2.31	-0.69
Benzoic acid	<-7.00	-2.31

Mroz (2005) deed een onderzoek naar de minimum hoeveelheid zuur die nodig is om bacteriële groei te voorkomen. Hij onderzocht daarbij drie zuren: melkzuur, mierenzuur en propionzuur. Voor elk zuur onderzocht hij wat de minimum hoeveelheid zuur is, die nodig is om de groei van *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escheria Coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campyto bacter jejuni*, *Clostridium botulim* en *Clostridium perfringens* stil te leggen. De laatste grafiek heeft het gemiddeld verbruik weer dat nodig is. Wanneer men in grafiek 11 enkel kijkt naar de hoeveelheid zuur die nodig is om de groei van *E.coli* te remmen, dan kan men zien dat er hiervoor 0,4 % melkzuur, 0,15 % mierenzuur en 0,20 % propionzuur nodig is. Dit betekent dat mierenzuur (uit deze 3 zuren) het meest efficiënt is voor het bestrijden van *E.coli*. Echter volgens Cole et al. (1968) is 0,8 % melkzuur nodig om de groei van *E.coli* te reduceren. In wat verder volgt, zie 2.3.2 Lagere pH

in de maag, zal duidelijk worden dat deze lage hoeveelheden niet voldoende zijn om de pH in de maag te verlagen.



Grafiek 11: Minimum hoeveelheid zuur nodig om bacteriële groei te remmen (Mroz, 2005)

Het gebruik van bepaalde organische zuren resulteert in een reductie van het aantal coliformen in het maagdarmkanaal volgens onderzoek van Tsioloyiannis et al., in 2001. Hij deed een onderzoek naar het voorkomen van diarree tussen 6 verschillende zuren (propionzuur, melkzuur, mierenzuur, appelzuur, citroenzuur en fumaarzuur), linospectine (een antibiotica) en een controlegroep waar niets werd toegevoegd. De resultaten zijn te zien in tabel 11. Voor de diarree werd een score gegeven van 0 – 3, deze scores werd dan vermenigvuldigd met het aantal biggen per hok (hier 12), zo kwam men aan een gemiddelde per groep. De scores zijn vooral hoog in de 2<sup>e</sup> week na spenen en zakken daarna opnieuw. Het is duidelijk dat de negatieve controle groep (NC) het hoogst scoort voor diarree. Gedurende de hele periode werd er geen significant verschil gevonden tussen het gebruik van linospectine (LS) en melkzuur (LA). De resultaten van beide groepen zijn wel significant lager dan de negatieve controlegroep. De scores van mierenzuur (FOA), citroenzuur (CA) en fumaarzuur (FA) waren significant niet verschillend. Voor mierenzuur (FOA) was er geen significant verschil met melkzuur (LA). Uit deze resultaten kan men dus besluiten dat organische zuren weldegelijk een antimicrobieel effect hebben. Er is echter wel een verschil tussen de organische zuren onderling. Melkzuur benaderd het best de antimicrobiële werking van een antibiotica (Linospectine) gevolgd door respectievelijk mierenzuur, fumaarzuur, citroenzuur en appelzuur.

Tabel 11: Voorkomen van diarree bij de verschillende zuren en lincospectine (Tsioloyannis et al., 2001)

Day	Group							
	1NC	2 LS	PA	LA	FOA	MA	CA	FA
1-7	4.57*	0.89#	3.11†	1.07†	1.79†‡	2.86†	2.50†	2.00†‡
8-14	11.39*	3.93#	8.04†	4.46#	5.54§	6.82‡	6.25‡	6.68†
15-21	4.57*	1.36**	3.89†	1.64**	1.89#	3.25†‡	2.79#§	2.39#
22-28	1.96*	0.61§	1.54*†	0.57§	0.79§	1.04*§	1.29†‡	0.93#§
1-14	7.98*	2.41#	5.57†	2.77#	3.66#§	4.84†‡	4.38‡	4.34†
15-28	3.27*	0.98#	2.71†	1.11#	1.34#	2.14‡	2.04‡	1.66#§
1-28	5.63*	1.70**	4.41†	1.94#**	2.50#	3.49†‡	3.21#§	3.00#§

Mean values in one row with at least one same superscript symbol are not statistically different ( $P > 0.05$ );

\*†‡§#\*\* Mean values in one row with different superscript symbols differ ( $P < 0.05$ )

NC, negative control; LS, lincospectin 22 premix; PA, propionic acid; LA, lactic acid; FOA, formic acid; MA, malic acid; CA, citric acid; FA, fumaric acid.

Uit recent onderzoek van Biagi et al., (2007) waarbij de bacteriële groei werd gemeten aan de hand van de gasproductie bekwam men volgende resultaten. Melkzuur zorgde voor een stijging van de bacteriële groei op alle hoeveelheden (60 mmol/l, 120 mmol/l en 240 mmol/l), dit heeft waarschijnlijk te maken met de stimulatie van de melkzuurbacteriën (zie ook tabel 10) die ook in rekening werden gebracht. De stijging was het sterkst bij een concentratie van 120 mmol/l. Voor fumaarzuur werd enkel een stijging van de bacteriële groei waargenomen bij een hoeveelheid van 60 mmol/l. Verder valt een stijgende bacteriële groei op voor citroenzuur bij 60 en 120 mmol/l. Citroenzuur heeft enkel een sterke daling (- 85%) van de bacteriële groei bij een hoge hoeveelheid van 240 mmol/l. Wat betreft mierenzuur kan men een goede remming van de bacteriële groei vaststellen. Bij de kleinste hoeveelheid (60 mmol/l) ziet men geen effect, bij de hogere hoeveelheden (respectievelijk 120 en 240 mmol/l) ziet men een significante daling ten opzichte van de controle (respectievelijk - 30 % en - 50 %). Ook propionzuur vertoont een goede remming van de bacteriële groei bij 240 mmol/l, er werd een significante daling van 43 % waargenomen. De lagere hoeveelheden van 60 en 120 mmol/l vertoonden geen effect. De werking van boterzuur valt te vergelijken met die van propionzuur. Er werd een daling van - 33 % waargenomen bij de hoogste hoeveelheid. Azijnzuur en appelzuur hadden geen effect op de bacteriële groei. De werking van appelzuur is wel iets beter dan die van azijnzuur. Benzoëzuur vertoont een significante daling van de bacteriële groei bij 120 en 240 mmol/l (respectievelijk -49 % en -72 %). In dit onderzoek vertoont sorbinezuur de sterkste werking tegen de bacteriële groei. De drie hoeveelheden vertonen allen een significante daling met respectievelijk -34 %, - 34 % en - 80 %. Ook bij lagere hoeveelheden (respectievelijk 7.5, 15 en 30 mmol/l) van sorbinezuur (zie grafiek 13) is er een significante daling waar te nemen (respectievelijk - 31 %, -35 % en - 39 %). Ook bij benzoëzuur is bij lagere hoeveelheden een daling waar te nemen, maar niet significant. In deze proef kan men zien dat  $\alpha$  – ketoglutaraat (een zout van  $\alpha$  – ketoglutaarzuur) geen werking heeft tegen de bacteriële groei (zie Inleiding). Zouten kunnen echter weldegelijk een invloed uitoefenen op de bacteriële groei, dit bewijst een ander onderzoek van Biagi & Piva (2007). In tabel 12 ziet men een duidelijk effect op het gasvolume van natrium butyraat bij een hogere toediening. Een lager gasvolume betekent een lagere bacteriële groei.

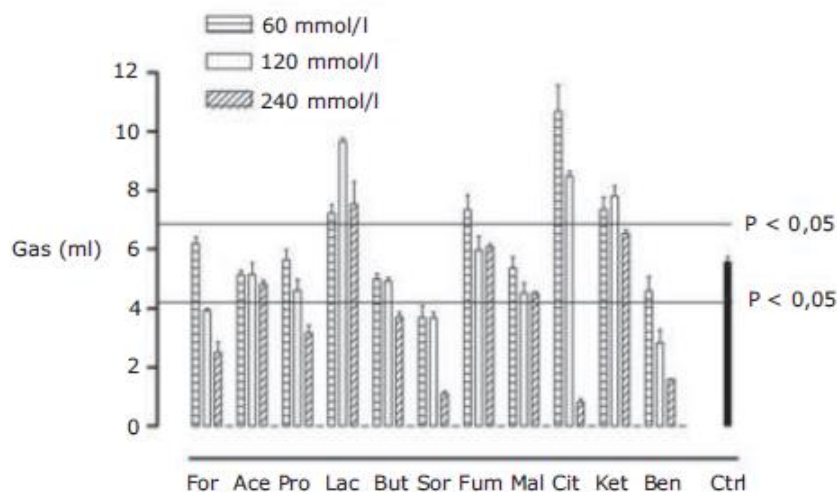
**Tabel 12: Gasvolume van natrium butyraat**

Item <sup>2</sup>	Added sodium butyrate, mM				Pooled SEM	P-value of the model	Contrast, P-value	
	0	60	120	240			Linear	Quadratic
V <sub>F</sub> , mL	6.68	5.98	5.91	4.45	0.22	0.001	0.001	0.466
μ <sub>m</sub> , mL/h	0.54	0.42	0.33	0.24	0.01	0.001	0.001	0.001

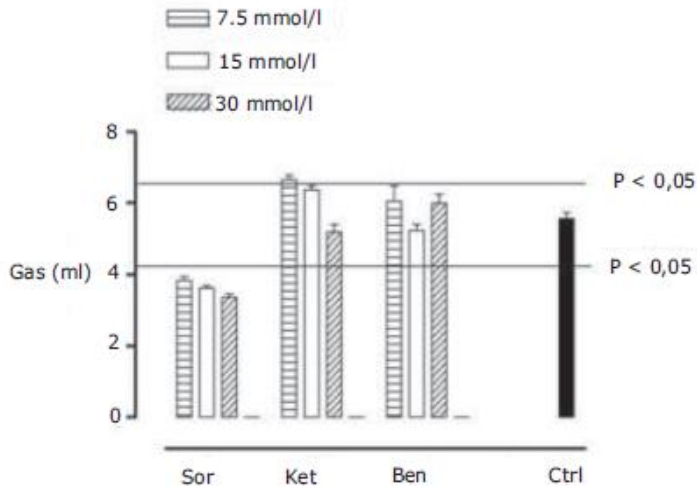
<sup>1</sup>Values are least squares means of 5 syringes for each diet tested.

<sup>2</sup>V<sub>F</sub> = maximum volume of gas produced; μ<sub>m</sub> = maximum rate of gas production; γ = lag time.

Uit deze proef kan men besluiten dat sorbinezuur de sterkste remming veroorzaakt van de bacteriële groei, gevolgd door benzoëzuur. De sterke werking van benzoëzuur werd eerder al verklaard door Knarreborg et al., (2002). Dit is ook te zien in tabel 10 waar er bij benzoëzuur een sterke remming van de coliformen en melkzuurbacteriën werd vastgesteld. Benzoëzuur wordt gevolgd door mierenzuur wat betreft de remming van bacteriële groei. De goede werking van mierenzuur tegen bacteriële groei werd ook vastgesteld door Tsilayiannis et al., (2001). Propionzuur is de volgende met een sterke remming. Uit de resultaten van Mroz (2005) en Knarreborg et al., (2002) werd ook waargenomen dat mierenzuur een betere antimicrobiële werking had dan propionzuur. Dit valt ook hier waar te nemen in de proef van Biagi et al., (2007). De mindere werking van fumaarzuur en melkzuur in deze proef, is in tegenstrijdigheid met de resultaten van Knarreborg et al., (2002). Uit de proef van Biagi et al., (2007) kan men dus volgende volgorde aannemen wat betreft sterkte van werkingen: sorbinezuur > benzoëzuur > mierenzuur > propionzuur > boterzuur > citroenzuur > appelzuur > azijnzuur > fumaarzuur > melkzuur.



**Grafiek 12: Gasvolume van verschillende zuren (Biagi et al., 2007)**



Grafiek 13: Gasvolume van sorbinezuur en benzoëzuur bij lagere hoeveelheden (Biagi et al., 2007)

Om het belang van de pH van het drinkwater aan te tonen in relatie met het voorkomen van *E.coli* deden De Busser et al., hierop een onderzoek in 2011. Er werden 4 groepen opgestart, de eerste groep kreeg 0,1 % zuur toegediend tot een pH van het drinkwater van 4, de tweede groep 0,05 % tot een pH van 5, de derde groep 0,03 % tot een pH van 6. De laatste groep kreeg drinkwater met een pH van 8. Uit de resultaten is duidelijk gebleken dat een lagere pH van het drinkwater resulteert in een lagere uitscheiding van *E.coli*. Er was een significant verschil waar te nemen tussen groep 1 (pH = 4) met groep 2 (pH = 5) en groep 4 (pH = 8). Tevens was er een verschil tussen groep 1 (pH = 4) en groep 3 (pH = 6), maar deze was niet significant verschillend. Dit betekent dat aanzuren van het drinkwater tot een pH van 4 resulteert in een lagere uitscheiding van *E.coli*.

Tabel 13: Invloed van pH van het drinkwater op de uitscheiding van *E.coli* (De Busser et al., 2011)

	Mean (SD)			
	pH = 4	pH = 5	pH = 6	pH = 8
Haemolytic <i>E. coli</i> (% shedding)	23.6 <sup>a</sup> (42.8)	50.0 <sup>b</sup> (50.3)	45.8 <sup>ab</sup> (50.2)	54.2 <sup>b</sup> (50.2)
Number of <i>E. coli</i> (log CFU/mL)	5.5 <sup>a</sup> (1.7)	6.0 <sup>ab</sup> (1.3)	5.8 <sup>ab</sup> (1.3)	6.3 <sup>b</sup> (1.4)

<sup>a,b</sup> Values with a different superscript within a row differ significantly ( $P < 0.05$ ). SD, standard deviation.

### 2.3.2 Lagere pH in de maag

Een belangrijke sleutel van organische zuren is de reductie van de pH in de maag (Desai et al., 2007). Het is algemeen geweten dat gespeende biggen niet voldoende HCl produceren om de pH van de maag op een optimum van 3,8 te houden (Papatsiros & Billinis, 2012). Bedoeling van het gebruik van zuren is om de pH te verlagen beneden 5,5. Dit resulteert in



een verhoogde activiteit van proteolytische enzymen, verbeterde eiwitverteerbaarheid en remming van de proliferatie van pathogene bacteriën (Rudbäck, 2013). In de big begint de eiwitvertering in de maag door het inwerken van pepsine. Pepsinogeen is de precursor en wordt geproduceerd door de mucosa van de maag. De omzetting van pepsinogeen tot pepsine gebeurt snel wanneer de pH zich op 2 of 3,5 bevindt. Wanneer de pH oploopt tot 5 à 6 daalt de snelheid van omzetting. De werking van pepsine verloopt dan niet optimaal, waardoor de eiwitvertering minder goed verloopt. Voor een goede omzetting van pepsinogeen tot pepsine is zoals vermeld een pH gewenst van 2 of 3,5. Echter bij de zuigende big is de zuursecretie laag. De eerste bron van zuur is de bacteriële fermentatie van lactose, afkomstig van zeugenmelk, tot melkzuur. Een hoge hoeveelheid aan lactaat in de maag remt de HCl secretie (Suryanarayana et al., 2012). Bij het spenen, en dus het voederen van vast voer, is er een reductie van de productie van melkzuur in de maag en wordt de HCl secretie gestimuleerd. Maar het voeder dat de biggen opnemen gedurende de eerste dagen is laag en variabel waardoor er slechts een kleine en dus onvoldoende stimulatie is (Peadar et al., 2005).

Een combinatie bij het spenen van een lage zuur secretie, te weinig lactose substraat en het voederen van speenvoeder op ongelijke intervallen kan resulteren in een stijgende pH. De pH kan oplopen tot hoger dan 5, dit zelfs enkele dagen lang (Suryanarayana et al., 2012). Het hoge zuurbindend/bufferend vermogen van het voeder kan zorgen voor een verdere stijging van de pH tot boven de 5.

De pKa – waarde van het zuur speelt een belangrijke rol in de pH – daling van de maag. Daarnaast heeft ook het voeder dat wordt gegeven een invloed op de pH in de maag. Hiervoor zijn twee zaken belangrijk: het zuurbindend vermogen en de bufferingscapaciteit van het voeder. Sommige ingrediënten binden meer zuur in de maag dan andere, daarom resulteert het gebruik van deze ingrediënten in het startvoeder van biggen in een hogere pH (Peadar et al., 2005). De zuurbuffercapaciteit is het laagst in granen en bijproducten van granen, hoger in eiwitten en het hoogst in minerale bronnen (Papatsiros & Billinis, 2012). De buffercapaciteit van het voeder dat aan de biggen wordt gegeven wordt dus beïnvloed door de keuze van voedermiddelen.

Tabel 14 geeft een overzicht weer van het zuurbindend vermogen (ABC) en de buffercapaciteit (BUF) van enkele zuren. Wat opvalt is dat zuren een negatieve waarde hebben voor beide parameters. Hieruit kan men afleiden dat ze zorgen voor een pH daling. Wat opvalt is dat sorbinezuur voor beide parameters het minste effect veroorzaakt terwijl in 2.3.1 Sorbinezuur de sterkste antimicrobiële werking vertoonde. Verder is het belangrijk om te beseffen dat niet alleen het zuurbindend vermogen belangrijk is voor de pH daling, ook de hoeveelheid speelt een rol om van een daling te kunnen spreken (zie later).

Tabel 14: Zuurbindend/bufferend vermogen (ABC, BUF) van enkele organische zuren (Peadar, 2005)

Ingredient	N <sup>1</sup>	pH <sup>2</sup>	ABC-4 <sup>3</sup>	ABC-3 <sup>4</sup>	BUF-4 <sup>5</sup>	BUF-3 <sup>6</sup>
<b>Acid</b>						
Orthophosphoric acid	3	1.6 ± 0.02	-8858 ± 168.2	-7957 ± 204.5	-3665 ± 54.5	-5616 ± 97.4
Fumaric acid	3	2.3 ± 0.06	-10862 ± 469.6	-4093 ± 669.7	-6314 ± 54.6	-5659 ± 478.7
Formic acid	3	2.3 ± 0.03	-13550 ± 765.0	-3473 ± 110.3	-7824 ± 572.9	-4745 ± 344.7
Citric acid	5	2.2 ± 0.03	-5605 ± 202.2	-2349 ± 164.3	-3156 ± 89.9	-3024 ± 97.5
Ascorbic acid	3	2.8 ± 0.03	-217 ± 28.6	-2249 ± 77.0	-177 ± 19.4	-10159 ± 1048.2
Malic acid	3	2.2 ± 0.15	-7214 ± 694.6	-2550 ± 769.0	-4084 ± 575.8	-3242 ± 333.0
Lactic acid	3	2.4 ± 0.02	-5079 ± 53.9	-1498 ± 23.7	-3129 ± 63.0	-2405 ± 111.3
Acetic acid	3	2.9 ± 0.02	-2283 ± 104.1	-141 ± 24.9	-2011 ± 133.1	-1031 ± 33.6
Propionic acid	3	3.0 ± 0.01	-1358 ± 276.5	-5 ± 8.2	-1348 ± 259.6	-238 ± 412.4
Sorbic acid	1	3.5	-220	120	-400	267

<sup>1</sup>Number of samples. <sup>2</sup>Initial pH of sample. <sup>3</sup>Acid binding capacity to pH 4.0. <sup>4</sup>Acid binding capacity to pH 3.0. <sup>5</sup>Buffering capacity to pH 4.0. <sup>6</sup>Buffering capacity to pH 3.0

Scipioni et al., concludeerden dat het toevoegen van 1 % citroenzuur zorgde voor een daling in de pH van de maag van 4,6 tot 3,5 en dat het toevoegen van 0,7 % fumaarzuur resulteerde in een pH daling van 4,6 tot 4,2. Verder concludeerden Risley et al. (1991) dat het toevoegen van 1,5 % fumaarzuur en citroenzuur resulteerde in een pH daling in de maag van 4,07 tot respectievelijk 3,87 en 3,82. In tegenstelling met voorgaande resultaten konden Kil et al., in 2006 geen daling vaststellen door het gebruik van fumaarzuur, mierenzuur of melkzuur. Dit is waarschijnlijk te wijten door de lage hoeveelheid (0,2 %) die werd gebruikt.. Want in tegenstelling tot Kil et al. konden Eidelsburger et al. wel een significante pH verlaging aantonen door het gebruik van 1,25 % mierenzuur. Ook is volgens Thomlinson & Lawrence (1981) 1 % melkzuur nodig voor een pH daling te veroorzaken. Dit wordt bevestigd door Doyle in 2001 die besloot dat het effect van organische zuren op de pH enkel aantoonbaar is bij grote hoeveelheden (vanaf 1 %). Linnea Rudbäck (2013) onderzocht het effect van verschillende hoeveelheden melkzuur (L0 tot L 4) en azijnzuur (A0 tot A4). Men ziet een significante daling van de pH bij een hoger hoeveelheid van zowel melkzuur en azijnzuur. Om een pH te verkrijgen lager dan 4,5 is er meer dan 100 mmol/kg melkzuur nodig, dit in tegenstelling met azijnzuur, waar meer dan 150 mmol/kg nodig is om de pH te doen dalen onder de 4,5. Verder ontdekten Kluge et al., (2006) een zo goed als onbestaande pH – verlagende werking van benzoëzuur, terwijl dit zuur wel een sterke antimicrobiële werking heeft (zie 2.3.1).

**Tabel 15: pH in voeder gesupplementeerd met melkzuur en azijnzuur (Linnea Rudbäck, 2013)**

Treatment	L0	L1	L2	L3	L4	S.E.M	p-value
pH	5.8	4.7	4.5	4.2	4.1	0.048	<0.0001
Treatment	A0	A1	A2	A3	A4	S.E.M	p-value
pH	5.9	5.6	5.0	4.7	4.5	0.021	<0.0001

\*L0= 0 mmol/kg, L1= 75 mmol/kg, L2= 100 mmol/kg, L3= 150 mmol/kg, L4= 200 mmol/kg

A0= 0 mmol/kg, A1=10 mmol/kg, A2= 50 mmol/kg, A3= 100 mmol/kg, A4= 150 mmol/kg

Data are presented as least square means. S.E.M. = pooled standard error of means.

Papatsiros & Billinis (2012) vatten het pH verlagend effect van de verschillende zuren als volgt samen: citroenzuur > appelzuur > fumaarzuur > melkzuur en mierenzuur > azijnzuur > propionzuur. Echter het toevoegen van veel eiwitten en mineralen aan het voeder beperkt het pH verlagend effect. Zouten hebben een lage invloed op het pH verlagend effect.

Als laatste dient men nog te vermelden dat het zeer onwaarschijnlijk is dat organische zuren die worden toegevoegd de pH in de darm beïnvloeden. Dit is waarschijnlijk te wijten aan de pancreassecreties die zorgen voor neutralisatie (Vandenbussche, 2002).

### 2.3.3 Energiebron

Organische zuren komen in de darm van varkens als energiebron voor als een tussenproduct van tricarbonzuur. Tevens helpen organische zuren bij het voorkomen van wefelselafbraak door gluconeogenese en lipolyse (Giesting & Easter, 1985). Bosi et al. (1999) melden dat de groeibevorderende effecten van organische zuren afkomstig zijn van hun energiewaarden. Volgens Kirchegeessner en Roth (1982) kunnen biggen fumaarzuur even efficiënt gebruiken als glucose. Blank et al., (1999) melden dat er een mogelijkheid bestaat dat fumaarzuur als een gemakkelijk beschikbare energiebron een lokaal trofisch effect heeft op de mucosa. Hierdoor treedt sneller herstel op van de epitheel cellen in de dunne darm, resulteert in een groter absorberend oppervlak en capaciteit in de dunne darm.

### 2.3.4 Minerale benutting

De anionen van organische zuren kunnen een complex vormen met calcium, fosfor, magnesium en zink. Op die manier verhogen ze de verteerbaarheid van deze mineralen, wat resulteert in een lagere uitscheiding van deze mineralen in het milieu (Suryanarayana et al., 2012).

Tabel 16 geeft een verzameling weer van onderzoeken naar de invloed van zuren op de totale verteerbaarheid van calcium, magnesium en fosfor. De meeste onderzoeken zijn uitgevoerd met citroenzuur en fumaarzuur. Bij citroenzuur aan een concentratie van 1,5 % ziet men vooral verschillen in de resultaten van de verteerbaarheid van fosfor (7,4 %, 2 %, 4,3 % en 1 %). Wat tevens opvalt is de negatieve invloed op de schijnbaar totale verteerbaarheid van calcium (- 1 %), dit komt uit onderzoek van Walz en Pallauf in 1990, 1991. Wat betreft citroenzuur aan een concentratie van 1,5 % zijn er dus tegenstrijdige resultaten in de waarnemingen, maar over het algemeen kan men besluiten dat er een

positieve invloed is op de totale verteerbaarheid van calcium, magnesium en fosfor. Wanneer citroenzuur aan een concentratie van 3 % wordt toegediend ziet men weinig verschillen in vergelijking met citroenzuur die aan een concentratie van 1,5 % werd toegediend. Bij het toedienen van 2 % citroenzuur valt de negatieve invloed op, op de schijnbaar totale verteerbaarheid van calcium.

Wat betreft proeven op het toedienen van fumaarzuur ziet men volgende resultaten (zie tabel 16). Fumaarzuur werd toegediend aan biggen van 7 kg aan een concentratie van 1 % en 2 %. Daaruit is te zien dat 1 % fumaarzuur een minder positieve invloed heeft op de schijnbare totale verteerbaarheid in vergelijking met 2 % fumaarzuur. De verteerbaarheid stijgt bij een concentratie van 2 % fumaarzuur in vergelijking met 1 % fumaarzuur zowel voor calcium, magnesium en fosfor. Respectievelijk van 0,7 % tot 6,2 %, 0,1 % tot 0,7 % en van 1,8 % tot 5,2 %. De grootste invloed van een hoger percentage fumaarzuur is dus te zien bij calcium. Ook bij een concentratie van 1,5 % fumaarzuur ziet men een lagere invloed op de verteerbaarheid in vergelijking met 1 % fumaarzuur. Vanwege de positieve resultaten bij een concentratie van 1,8 % fumaarzuur doet dit vermoeden dat voor een positieve invloed van fumaarzuur dit minstens aan een concentratie van 1,8 % à 2 % moet toegediend worden.

Het toevoegen van 3 % melkzuur levert positieve resultaten op de verteerbaarheid van calcium, magnesium en fosfor met respectievelijk 7,9 %, 1,6 % en 2,7 %.

Toedienen van 1,4 % mierenzuur resulteert enkel in een negatieve invloed op de verteerbaarheid van magnesium (- 1,8 %). Wat verder opvalt is het verschil in resultaten tussen het toedienen van 2,4 % calcium benzoaat aan varkens van 60 kg – 65 kg of 40 kg – 100 kg. De resultaten bij het toedienen aan varkens van 40 kg – 100 kg zijn positiever voor zowel calcium, magnesium en fosfor. De verteerbaarheid stijgt respectievelijk van 1,4 % tot 9 %, - 0,2 % tot 0 % en van - 4,4 % tot 0,3 %.

**Tabel 16: Effect van verschillende zuren of hun zouten op de totale schijnbare verteerbaarheid van calcium, magnesium en fosfor (Jongbloed et al., 2000)**

Organic acid	Inclusion (%)	BW range (kg)	Improvement in DC			Reference
			Ca	Mg	P	
Ca-benzoate	2.4	60–65	1.4	-0.2	-4.4	Mroz et al. (1996)
Ca-benzoate	2.4	40–100	9.0	0.0	0.3	Mroz et al. (1997)
Butyric acid	2.7	40–100	4.4	-0.4	3.4	Mroz et al. (1997)
Citric acid	1.5	9–22	7.4	5.4	7.4	Höhler and Pallauf (1993)
Citric acid	1.5	11–26	5.4	3.2	2.0	Höhler and Pallauf (1994)
Citric acid	1.5	7–17	5.5	-	4.3	Radcliffe et al. (1998)
Citric acid	3.0	7–17	4.8	-	3.7	Radcliffe et al. (1998)
Citric acid	2.0	10–32	-2.0	-	2.9	Radcliffe et al. (1998)
Citric acid	1.5	7–21	-1.0	-	1.0	Walz and Pallauf (1990, 1991)
Fumaric acid	1.0	7	0.7	0.1	1.8	Kirchgessner and Roth (1980)
Fumaric acid	2.0	7	6.2	0.7	5.2	Kirchgessner and Roth (1980)
Fumaric acid	1.5/3.0	8	-4.1	-	-2.4	Radecki et al. (1988)
Fumaric acid	1.5	7–21	0.5	-	2.3	Walz and Pallauf (1990, 1991)
Fumaric acid	1.8	40–100	6.1	-0.3	3.9	Mroz et al. (1997)
Lactic acid	3.0	37–95	7.9	1.6	2.7	Kemme et al. (1999)
Formic acid	1.4	40–100	1.3	-1.8	4.6	Mroz et al. (1997)

In biggenvoeders worden vaak planteningrediënten gebruikt waarvan 60 – 70 % van de fosfor aanwezig is als fytaat, wat niet beschikbaar is voor de big (Jongbloed, 1987, 2000). De positieve invloed van organische zuren op de benutting van fytaat is een lagere pH wat voor fytase aanvaardbaar is om fytaat te hydrolyseren (Liem et al., 2008). De pH afhankelijkheid werd ook duidelijk uit proeven van Simons et al., (1990), zij concludeerden dat fytase 2 optimale pH waarden heeft: pH 5 – 5,5 en pH 2,5. De verbeterde werking van fytase bij een lagere pH (door het toevoegen van zuren) werd ook duidelijk bij Kemme et al., (1999). Zij stelden naast een verhoogde opneembaarheid van fosfor ook een synergistisch effect vast met de werking van fytase.

Toevoegen van zuren via de voeding, zorgt voor een verandering in het zuur – base evenwicht in het bloed. Dit heeft een belangrijk effect op de retentie van mineralen. Wanneer dieren een te zuur voeder krijgen vermindert de retentie van calcium en fosfor (Vandenbussche, 2004). Kirchgessner en Roth (1982) melden dat de absorptie en retentie van calcium, fosfor en zink verbeterd door het toevoegen van fumaarzuur.

### **2.3.5 Verbeterde vertering aminozuren**

Het toevoegen van melkzuur aan het voeder in het onderzoek van Kemme et al., in 1999 resulteerde in een hogere schijnbare ileale verteerbaarheid van essentiële aminozuren zoals lysine, methionine, threonine, isoleucine en arginine. Tevens was in deze proef ook de schijnbare ileale verteerbaarheid van niet – essentiële aminozuren zoals valine, asparagine, glutamine en alanine verbeterd (Kemme et al., 1999).

De schijnbare ileale verteerbaarheid van leucine, serine en glycine had een tendens tot een betere verteerbaarheid door het toevoegen van melkzuur, doch werden er geen significante verschillen vastgesteld. Voor stikstof, cystine, thryptofaan, histidine, fenylalanine, proline en tyrosine werd geen tendens waargenomen (Kemme et al., 1999). Men heeft reeds een significante interactie waargenomen voor de schijnbare ileale verteerbaarheid tussen melkzuur en natriumfytaat wat betreft methionine en cystine ( $P < 0,05$ ). De schijnbare ileale verteerbaarheid van deze aminozuren was de laagste wanneer alleen natriumfytaat werd toegevoegd, maar was de hoogste wanneer natriumfytaat en melkzuur samen werden toegevoegd (Kemme et al., 1999).

### **2.3.6 Hogere secretie van pancreasenzymen en verbeterde darmkwaliteit**

Organische zuren hebben een invloed op de enzymsecretie via de pancreas. De exocriene secretie van de pancreas wordt gereguleerd door het autonome zenuwstelsel en door hormonale en humorale factoren (Fremaut, 2012).

Sommige resultaten geven een indicatie dat organische zuren een stimulerend effect hebben op zowel de endocriene als exocriene pancreas secretie. De invloed van de zuren zou als volgt te rangschikken zijn: mierenzuur > melkzuur > azijnzuur > boterzuur > propionzuur (Harada et al., 1986).

Het natuurlijke zuur zoals HCl in de maag kan een pH hebben van 1,3 tegenover het melkzuur geproduceerd uit lactose van zeugenmelk die een pH – waarde van 3,8 kan halen (Harada et al., 1988). Er werd enkele een verhoogde secretie waargenomen bij deze 2 pH – waarden. Boven deze pH daalt de vrijstelling van secretine (Suryanarayana et al., 2012). Secretine prikkelt de pancreas om een vloeistof af te scheiden met een hoge concentratie bicarbonaat. Zo wordt het zuur in de maag geneutraliseerd. Dit is noodzakelijk voor de goede werking van een aantal enzymen wat betreft het afbreken en absorptie van voedsel. Verder stelden Sakata (1987) en Sakata et al., (1995) vast dat kortketenige vetzuren zoals azijnzuur, propionzuur en boterzuur, geproduceerd door de microbiële fermentatie van vezels in de dikke darm, resulteren in een snelle toename van de epitheelcellen. Boterzuur bijvoorbeeld is de belangrijkste energiebron voor de epitheelcellen van de dikke darm en wordt beschouwd als een stimulerende factor voor de groei van epitheelcellen (Galfi & Bokori, 1990).

### **2.3.7 Invloed op de darmmorfologie**

Zoals eerder aangehaald ondergaat de dunne darm van de biggen een reductie van de hoogte van de villi en het dieper worden van de crypten kort na spenen. Hierdoor vermindert de absorptiecapaciteit, wat een invloed heeft op de groei en gezondheid van de biggen (Vandenbussche, 2002). Volgens onderzoek van Nousiainen (1991) is de villihoogte positief gecorreleerd met het aandeel zuren in de darm. Toch is er reeds weinig onderzoek verricht op het effect van organische zuren op de verlenging van villi.

### **2.3.8 Invloed op de smaak van het voeder**

Naast een goede gezondheid van de big is een goede smaak van het voeder noodzakelijk om tot goede groeiprestaties en een hoge voederopname te komen (Rudbäck, 2013).

Veel auteurs schuiven azijnzuur naar voor als de voornaamste factor in een lagere smakelijkheid van het voeder (Brooks et al., 2001; Beal et al., 2005). Volgens Winsen et al. (2001) bedraagt de limiet, om de smakelijkheid niet negatief te beïnvloeden, 40 mmol/l. Andere auteurs melden dat een hogere hoeveelheid dan 30 mmol/l voor een lagere smakelijkheid kan zorgen (Brooks 2003, 2005; Brooks et al., 2003b). Echter in een recente studie van Rudbäck (2013) werd er geen verschil waargenomen in voederopname en dagelijkse gewichtstoename bij concentraties variërend van 0 mmol/kg tot 150 mmol/kg azijnzuur. Bij 150 mmol/kg azijnzuur was de voederconversie 1,77 terwijl bij 0 mmol/kg en 50 mmol/kg de voederconversie nog 2 was. In hetzelfde onderzoek werd voor verschillende concentraties melkzuur (variërend van 0 mmol/kg – 200 mmol/kg) ook geen verschil vastgesteld in de voederopname en de dagelijkse gewichtstoename. Ook hier werd een verschil vastgesteld in de voederconversie. Bij een concentratie van 0 mmol/kg bedroeg de voederconversie 2,07, terwijl dit bij 100 mmol/kg gedaald was tot 1,77 en bij 200 mmol/kg terug lichtjes gestegen tot 1,80. Rudbäck (2013) kon uit zijn onderzoek besluiten dat een voeder tot 200 mmol/kg melkzuur en tot 150 mmol/kg azijnzuur mag bevatten zonder de

voederopname of groeiprestaties van de biggen negatief te beïnvloeden. In een proef van Partanen & Mroz (1999) kregen biggen een voeder met en zonder toevoeging van zuur. Zij konden vaststellen dat de consumptie van het voeder zonder zuur hoger lag. Verder konden Van Winsen et al., (2001) vaststellen dat melkzuur, zelfs op hogere inmengpercentages, een positieve invloed heeft op de smakelijkheid van het voeder. Volgens Brooks (2001) zou men tot 200 mmol/kg mogen toevoegen.

Ondanks deze cijfers zijn er geen duidelijk afgelijnde richtlijnen over de hoeveelheid die mag gebruikt worden zonder een negatieve invloed te hebben op de voederopname (Winsen et al., 2001; Brooks, 2003; Brooks et al., 2003 b; Brooks, 2008).

## 2.4. Melkzuur

Melkzuur heeft de formule  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$  en de IUPAC – naam is 2 – hydroxypropaanzuur. De code voor voedseladditieven is E270. Melkzuur is zeer goed oplosbaar in water, maar minder dan propionzuur en mierenzuur. De molaire massa van melkzuur is 90,08 g/mol en de pKa – waarde is 3,83 (zie tabel 8) (Dibner en Buttin (2002)). Melkzuur heeft 2 stereo – isomeren: het L(+)-melkzuur en het D(-)-melkzuur. Rechtsdraaiend melkzuur kan gemakkelijk en snel door de lever worden afgebroken. Linksdraaiend melkzuur kan daarentegen moeilijker om verwerkt te worden door de lever.



Figuur 4: Rechtsdraaiend en linksdraaiend melkzuur

Melkzuur is een natuurlijk bestanddeel van sommige voedingsstoffen en wordt ook geproduceerd door verschillende bacteriën zoals lactobacillus, streptococcus, bifidobacterium,..(Suryanarayana, 2012). Tevens is melkzuur in het maagdarmkanaal een eindproduct van de fermentatie van suikers (Partanen en Mroz, 1999). Het kan ook geproduceerd worden door spiercellen. Dit is het geval wanneer er een te lage zuurstofaanvoer is om de oxidatie van pyruvaat en de vorming van ATP in stand te houden via aerobe omstandigheden (Vandenbussche, 2002).

Melkzuur staat bekend voor de hoge antimicrobiële activiteit tegen coliformen (*E.coli* en ETEC stammen), *Salmonella* spp, en vele schimmels en gisten (Tsiloyiannis et al., 2001a, ; Naughton en Jensen, 2001; Jensen et al., 2001; Knarreborg et al., 2002; Piva & Grilli, 2007; Creus et al., 2007).

In 2.3.1 Antimicrobieel effect werd reeds uit 2 proeven (zie tabel 10 en tabel 11) aangetoond wat het antimicrobieel effect is van melkzuur. De resultaten zijn afkomstig van Tsiloyiannis (2001 a,b) en Knarreborg et al., (2002). Uit de proef van Tsiloyiannis (2001 a,b) kon men besluiten dat melkzuur de werking van Linospectine (een antibiotica) het best benaderde. Knarreborg et al., (2002) besloten dat melkzuur na benzoëzuur en fumaarzuur het sterkst de

groei van coliformen kan remmen. In dezelfde proef ontdekte men dat fumaarzuur een remmend effect heeft op de groei van melkzuurbacteriën. Dit was in tegenstelling met de proef van Biagi et al., (2007) (zie grafiek 12) die concludeerde dat melkzuur een lage antimicrobiële werking had.

In tabel 17 ziet men dat het toedienen van melkzuur via het water een betere antimicrobiële werking heeft dan melkzuur via het voeder (minder streptococcen). Wat betreft de uitval van het aantal dieren ziet men dat melkzuur in het voeder de laagste uitval kent, deze verschillen zijn wel niet significant. Wat betreft de reden van uitval is het duidelijk dat melkzuur in het voeder de grootste positieve invloed heeft op de gezondheid van de darmen. Bij melkzuur via het voeder zijn er slechts twee biggen met maagdarmaandoeningen, dit in vergelijking met de controleproef en de proef met melkzuur via het drinkwater, waar dit respectievelijk 11 en 7 biggen is. Deze verschillen zijn wel significant.

**Tabel 17: Uitval van gespeende biggen die een controlevoeder, speenvoeder aangezuurd met melkzuur of drinkwater aangezuurd met melkzuur verstrekt kregen (Smolders et al., 2002)**

	Controle	Melkzuur in voer	Melkzuur in water	Significantie <sup>1</sup>
aantal dieren opgelegd	240	240	240	
aantal dieren uitgevallen	13	6	9	n.s.
reden uitval (aantal dieren):				
- beenwerk	0	0	1	2
- maagdarmaandoeningen	11 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	7 <sup>ab</sup>	*
- streptococcen	0	2	0	2
- diversen	2	2	1	n.s.

<sup>1</sup> Significantie: n.s. = niet significant; \* =  $p < 0,05$

<sup>2</sup> aantallen te laag om behandelingseffecten te toetsen

<sup>a,b</sup> gemiddelden met een verschillende letter binnen een rij zijn significant verschillend

Melkzuur is tevens een smakelijk zuur, dit wordt duidelijk uit onderzoeken waarbij melkzuur leidde tot een hogere voederopname (Smolders et al., 2000).

Melkzuur heeft ook een positieve invloed op de groeiprestaties. Uit de proef van Tsiloyiannis et al., (2001) werd een hoger eindgewicht vastgesteld bij de groep die met melkzuur werd gesupplementeerd. Ook de gemiddelde dagelijkse gewichtstoename en gemiddelde dagelijkse voederopname waren hoger (maar niet significant). De voederconversie was significant lager in vergelijking met de andere groepen. Smolders et al., (2000) deden onderzoek naar het toedienen van melkzuur in het voeder en het water. Voor melkzuur in het voeder stelde men een kleine stijging vast van de groei met gemiddeld 7 gram per dag, dit resulteerde in een voederconversie die lager lag (1,52 in plaats van 1,55) dan de controleproef. Bij het toedienen van melkzuur in het drinkwater werden er geen verschillen gevonden in groei en voederconversie. De effecten op de groei, de voederconversie en het eindgewicht zijn dus niet altijd even duidelijk aantoonbaar.



Jongbloed et al., (2000) konden aantonen dat melkzuur in combinatie met fytase zorgde voor een hogere groeisnelheid en een lagere voederconversie bij de biggen (zie 2.3.4). Voor de verteerbaarheid van calcium werd geen verband waargenomen, terwijl voor de verteerbaarheid van fosfor wel een interactie werd waargenomen. Ook de invloed op de werking van pancreas werd onderzocht. Thaela et al., (1998) besloten dat voeder met 2,5 % melkzuur een verhoogde secretie van de pancreas tot gevolg had.

In 2006 deden Kil et al. een onderzoek naar het effect van fumaarzuur, mierenzuur en melkzuur op het lichaamsgewicht, de dagelijkse gewichtstoename en dagelijkse voederopname. Enkel melkzuur had een positieve invloed op het lichaamsgewicht 5 weken na spenen. De biggen wogen na 5 weken gemiddeld 0,93 kg meer ten opzichte van de controleproef. Ook de dagelijkse gewichtstoename en voederopname lagen hoger dan de controleproef.

Onderzoek van Hoang Huong Giang et al., (2010) toonde aan dat het voederen van biggen gedurende de eerste twee weken met complexen van melkzuurbacteriën resulteerde in een hogere dagelijkse voederopname, hogere dagelijkse gewichtstoename en een lagere voederconversie. Na 2 weken werd er geen effect waargenomen. In hetzelfde onderzoek werd er minder diarree vastgesteld bij biggen gevoed met complexen van melkzuurbacteriën.

## 2.5. Propionzuur

Propionzuur is een olieachtige vloeistof en heeft een onaangename ranzige geur (Suryanarayana et al., 2012). Het wordt geproduceerd door *Propionibacterium* bij het vervaardigen van kaas en het is tevens één van de hoofdproducten bij de bacteriële fermentatie.

Onderzoek van Tsiloyiannis et al., (2001) toonde het antimicrobieel effect van propionzuur aan. Dit effect is zeker niet zo groot als het effect bij melkzuur. In hun onderzoek werd gedurende de eerste zeven dagen een diarreescore gegeven. De diarreescore voor propionzuur was 3,11 terwijl dit bij de controleproef 4,57 was. Er is dus een daling waar te nemen, maar niet zo sterk als bij melkzuur (1,07). Over een periode van 28 dagen ziet men een daling van 5,63 tot 4,41.

In datzelfde onderzoek van Tsiloyiannis et al., (2001) werd ook de invloed op de dagelijkse gewichtstoename onderzocht. Uit het onderzoek kon men besluiten dat propionzuur resulteerde in een hogere dagelijkse gewichtstoename van 18 gram gedurende 28 dagen na spenen in vergelijking met de controleproef. Tevens werd ook de invloed nagegaan op de dagelijkse voederopname en de voederconversie. Gedurende de eerste 28 dagen na spenen ligt de dagelijkse voederopname 13 gram hoger ten opzichte van de controle. Hiermee is propionzuur het slechtst scorende zuur. Ook wat betreft de voederconversie heeft propionzuur de kleinste invloed, de daling bedraagt 0,09 ten opzichte van de controle.

## 2.6. Mierenzuur

Mierenzuur (HCOOH), is een vluchtig, vloeibaar organisch zuur met een scherpe geur (Dong Yong Kil., 2011). Een synoniem voor mierenzuur is methaanzuur. De pKa – waarde van mierenzuur bedraagt 46,03 g/mol. Dit betekent dat mierenzuur een goede werking zal hebben binnen in de bacterie. Daarentegen zal ze iets moeilijker kunnen binnendringen in de bacterie. Het is een kleurloos en prikkelend zuur. Het kookpunt is 101 °C, het smeltpunt 8 °C en het vlammpunt 48 °C. Mierenzuur is tevens volledig oplosbaar in water, dus kan via het water worden toegediend. Tevens heeft mierenzuur een functie als bewaarmiddel, dit zowel in de humane voeding als bijvoorbeeld in de bewaring van een graskuil.

Het antimicrobieel effect van mierenzuur kan men afleiden uit onderzoek van Tsiloyiannis et al., (2001). Mierenzuur benaderd sterkst het effect van melkzuur. Voor mierenzuur is de diarreescore 1,79, dit in vergelijking met 4,57 bij de controle en 1,07 voor melkzuur.

Het oudste onderzoek van Eckel et al., (1992) was een onderzoek met 0,6 %, 1,2 %, 1,8 % en 2,4 % mierenzuur. Uit dit onderzoek kon men besluiten dat de dagelijkse gewichtstoename, de dagelijkse voederopname en de voederconversie toenamen tot een concentratie van 1,2 % om vanaf 1,8 % terug te dalen. Bij een concentratie van 1,2 % was de dagelijkse gewichtstoename, de dagelijkse voederopname respectievelijk 31,4 % en 15,9 % hoger, de voederconversie 12,6 % lager. Bij een concentratie van 2,4 % was er zelf een negatief effect waar te nemen van – 1,8 % op de dagelijkse voederopname.

Maribo et al., (2000) deden proeven met een concentratie van 0,7 % en 1,4 % mierenzuur. Bij de concentratie van 1,4 % vonden de auteurs een daling van de pH in de maag, caecum en colon. Bij een concentratie van 0,7 % en hoger was er een duidelijke daling van het aantal coliformen in de maag en gisten in het maagdarmkanaal.

Tsiloyiannis et al., (2001). onderzochten de invloed op de gewichtstoename, de voederopname en de voederconversie. Voor het gewicht ziet men een toename van 33 g voor de eerste 28 dagen na spenen, mierenzuur is hiermee na melkzuur het tweede beste zuur. Ook wat betreft de voederopname staat mierenzuur op de tweede plaats met een toename van 26 g ten opzichte van de controle. Voor de voederconversie is er een sterke daling van 0,14 waar te nemen.

Recenter onderzoek van Manzanilla et al., (2004) bij een hoge concentratie van 5 % mierenzuur resulteerde in een daling van de dagelijkse gewichtstoename en dagelijkse voederopname met respectievelijk -0,2 % en - 4,1 %.

Uit onderzoek van Mroz (2005) is gebleken dat mierenzuur een positieve invloed heeft op de voederopname, de gewichtstoename en de voederconversie. De voederopname en de gewichtstoename namen toe met ongeveer 50 gram per dag, de voederconversie daalde van 1,64 naar 1,60. In het onderzoek van Kil et al., (2006) ziet men dat de gewichtstoename daalt met 1 % in vergelijking met de controleproef, en de voederopname stijgt met 0,2 %. Hierdoor was de voederconversie in deze proef ook hoger.

Een onderzoek van Partanen et al., (2007) naar het effect van mierenzuur op de voederconversie (zie grafiek 14) toonde aan dat door het toevoegen van mierenzuur de

voederconversie afnam. Uit deze grafiek kan men tevens afleiden dat het effect van mierenzuur op een dalende voederconversie groter is wanneer er later gespeend wordt. Gerritsen et al., (2010) onderzochten de invloed van mierenzuur in combinatie met essentiële oliën. Men ziet een verbetering van de fecale verteerbaarheid van ruwe celstof, koolhydraten en NSP. Reeds in andere studies, waaronder die van Tung & Pettigrew (2006) werd de positieve invloed op de nutriënten verteerbaarheid aangetoond. Een mogelijke verklaring voor het positief effect op de verteerbaarheid van de NSP is omdat zuren zorgen voor een lagere pH in de maag, wat resulteert in een lagere activiteit is van enterobacteriën, hierdoor ontstaat een betere omgeving voor bacteriën die NSP fermenteren, wat resulteert in een betere NSP verteerbaarheid.

## 2.7. Fumaarzuur

Fumaarzuur is een zwak kristallijn organisch zuur zonder geur en met een zure smaak (Dong Yong Kil et al., 2011). In de varkensindustrie hebben onderzoekers vanaf de jaren negentig veel onderzoek verricht op het gebruik van fumaarzuur bij gespeende biggen. De laatste jaren zijn de onderzoeken sterk gedaald en ontbreken er dus mogelijk resultaten.

Het antimicrobieel effect van fumaarzuur kan men afleiden uit een onderzoek van Tsiloyiannis et al., (2001). Het effect is groter dan propionzuur, maar nog steeds niet even groot als bij melkzuur. Gedurende de eerste 7 dagen daalt de diarreescore van 4,57 tot 2. Over de volledige periode van 28 dagen ziet men een daling van 5,63 tot 3.

In datzelfde onderzoek van Tsiloyiannis et al., (2001) werd de invloed nagegaan op gewichtstoename, voederopname en voederconversie. De gewichtstoename gedurende de eerste 28 dagen na spenen valt te vergelijken met mierenzuur en bedraagt 28 g. Ook de voederopname is goed vergelijkbaar met mierenzuur en bedraagt 25 g. De voederconversie is gedaald 0,117 gedaald.

Het toevoegen van fumaarzuur aan gespeende biggen heeft een positief effect op de dagelijkse voederopname en de voederconversie (Dong Yong Kil et al., 2011). Uit onderzoek is gebleken dat biggen die 1,5 % tot 3 % fumaarzuur krijgen, de dagelijkse voederopname 133,3 % tot 203,3 % stijgt en de voederconversie 138,4 % tot 177,4 % verbetert in vergelijking met de controle groep (Dong Yong Kil et al., 2011). Andere onderzoeken, waaronder die van Lawlor et al., (2006) bewijzen de positieve invloed van fumaarzuur op de dagelijkse voederopname en de voederconversie. In dit onderzoek zijn de resultaten echter minder uitgesproken. In de eerste twee weken na spenen neemt bij een concentratie van 2 % fumaarzuur de dagelijkse voederopname toe met 26 % en de voederconversie verbetert 12,6 %. Een onderzoek van Kil et al., (2006) kon aantonen dat zelf bij een hele lage concentratie van 0,2 % de dagelijkse voederopname en de voederconversie er op vooruit gingen. Dit echter in beperkte mate, met 4,5 % voor de dagelijkse voederopname en 5,6 % voor de voederconversie.

## 2.8. Citroenzuur

Het antimicrobieel effect van citroenzuur leunt het dichtst aan bij dat van fumaarzuur. Citroenzuur behaalt in het onderzoek van Tsiloyiannis et al., (2001) een diarreescore van 2,50 dit in vergelijking met de controleproef waar de score 4,57 is. Ook de invloed op gewichtstoename, de voederopname en de voederconversie werd onderzocht. De gewichtstoename is iets hoger dan bij propionzuur maar is dus laag in vergelijking met de andere zuren. De gewichtstoename de eerste 28 dagen na spenen is 23 g. De voederopname scoort in vergelijking met de andere zuren gemiddeld, met een toename van 22 g gedurende de eerste 28 dagen na spenen. De voederconversie vertoont een kleine daling die gelijk is aan die van propionzuur met 0,09. Een onderzoek van Suryanarayana et al., (2012) toonde het pH – verlagend effect aan van citroenzuur. Wanneer 0,47 % citroenzuur werd toegediend, daalde de pH van 6,3 tot 5,5.

## 2.9. Benzoëzuur

In verschillende onderzoeken, waaronder die van Halas et al., (2010) en Murphy et al., (2011) is aangetoond dat benzoëzuur de groeiprestaties kan verbeteren. In het onderzoek van Halas et al., (2010) werd een concentratie van 0,5% benzoëzuur toegevoegd. Dit resulteerde in een stijging van de dagelijkse gewichtstoename van 14,7 % en een stijging van de dagelijkse voederopname met 10,8 %. Ook Torrallardona et al., (2007a) en Guggenbuhl et al., (2007) vonden ongeveer dezelfde positieve resultaten.

Tevens zorgt benzoëzuur ook voor een pH daling in de urine en een lagere emissie van ammoniak. Sinds 2006 is benzoëzuur in de Europese Unie toegelaten als een voedingsadditief in biggenvoeder voor het verbeteren van de prestaties tot een concentratie van 0,5 %. Concentraties onder de 0,5 % hebben in de literatuur nooit positieve resultaten opgeleverd. Ook worden zouten van benzoëzuur, zoals sodium – benzoaat gebruikt in het voeder van biggen.

In 2006 deden Kluge et al., een onderzoek naar het effect van 0,5 % en 1 % benzoëzuur. Bij een hoeveelheid van 1 % was de dagelijkse voederopname, de dagelijkse gewichtstoename en de voederconversie respectievelijk toegenomen met 9 %, 15 % en 6 % in vergelijking met de controleproef. De verbetering bij een concentratie van 1 % was vergelijkbaar met een concentratie van 1,2 % kaliumdiformiaat. Toevoeging van benzoëzuur had in dit onderzoek geen invloed op de pH – waarde of de hoeveelheid ammoniak in het maagdarmkanaal. Men kon wel een daling vaststellen van het aantal bacteriën in de mest. In de maag waren het aantal aerobe, anaerobe, melkzuurvormende en gram – negatieve bacteriën verminderd. Tevens kon men vaststellen dat benzoëzuur aanleiding gaf tot een daling van azijnzuur in het duodenum. Benzoëzuur had geen invloed op de verteerbaarheid van nutriënten, maar zorgde wel voor een hogere stikstof retentie van respectievelijk 5 % en 6 % bij een concentratie van 0,5 % en 1%. Verder heeft onderzoek van Sauer et al., (2009) aangetoond dat door het toevoegen van benzoëzuur de retentie van Ca en P is gestegen of gelijk

gebleven (Norgaard et al., 2010). Daarentegen was de retentie van Na gedaald (Sauer et al., 2009).

Bühler et al., (2009) besloten dat 0,5 % benzoëzuur een positieve invloed heeft op de dagelijkse gewichtstoename. Het effect is positiever bij een dieet met veel vezels in vergelijking met weinig vezels. Tevens stelde men vast dat benzoëzuur geen invloed had op de voederconversie. Het toevoegen van 0,5 % benzoëzuur resulteerde tevens in een stijging van de totale verteerbaarheid van stikstof in de groeiperiode van de biggen. Bij jonge dieren was de verteerbaarheid van NDF hoger in de rantsoenen met 0,5 % benzoëzuur, deze hogere verteerbaarheid verdween bij het afmesten van de dieren. Wat betreft vluchtige vetzuren kon men besluiten dat bij het toedienen van 0,5 % benzoëzuur alleen de hoeveelheid butaanzuur is toegenomen, de hoeveelheid propionzuur en azijnzuur bleef ongewijzigd. Een ander belangrijk besluit uit dit onderzoek is dat wanneer benzoëzuur wordt toegevoegd aan voeders met een hoog gehalte aan vezels het de negatieve effecten van die voeders kan tenietdoen. Deze voeders worden nu meer en meer gebruikt omdat ze goedkoper zijn dan de conventionele voeders.

## **2.10. Azijnzuur**

Canibe et al., (2010) onderzochten de invloed van verschillende concentraties azijnzuur op de dagelijkse gewichtstoename en de dagelijkse voederopname. Deze twee parameters werden getest bij volgende concentraties: 30 mM, 60 mM en 120 mM over een periode van 42 dagen. Bij een concentratie van 30 mM was de dagelijkse gewichtstoename 472 gram, dit daalde bij de hogere concentraties van 60 mM en 120 mM tot respectievelijk 455 gram en 447 gram. Voor de voederopname ziet men hetzelfde fenomeen, een dalende voederopname bij hogere concentraties azijnzuur. De voederopname daalt van 776 gram droge stof bij 30 mM azijnzuur tot 726 gram droge stof en 699 gram droge stof bij respectievelijk 60 mM en 120 mM. Dit kan bevestigen dat een hoge invloed azijnzuur een slechte invloed heeft op de voederopname en dus ook op de dagelijkse gewichtstoename (zie 2.3.8 Invloed op de smaak van het voeder)

## **2.11. Kalium zouten**

Het toevoegen van 1,8 % kaliumdiformiaat aan een speenvoeder had geen significante invloed op de pH in het maagdarmkanaal, maar zorgde wel voor een stijging van de concentratie mierenzuur in de maag en de dunne darm (Canibe et al., 2001). Verder vond men in dezelfde proef een daling van het totaal aantal anaerobe bacteriën, melkzuurbacteriën en gisten in het maagdarmkanaal. Het aantal coliformen was ook gedaald maar niet significant (Canibe et al., 2001).

In een eerdere studie van Overland et al., (2000) resulteerde het toevoegen van 1,2 % kaliumdiformiaat in een daling van het aantal coliformen in het duodenum, jejunum en rectum. Mroz et al., (2001) stelden bij een concentratie van zowel 0,9 % als 1,8 % een lagere pH vast van de duodenale digesta tot 65 uur na het voeden. Fevrier et al., (2001) stelden bij

dezelfde concentraties een daling vast van de pH, van het aantal coliformen en streptococconen in de maag en van het aantal coliformen in het colon. Tevens stelde men in dit onderzoek op geen enkel deel van het maagdarmkanaal een effect vast op het aantal lactobacilli.

In 2001 deden Overland et al. een onderzoek naar het effect van kaliumdiformiaat op de voederopname, de groeisnelheid en de voederconversie. Uit dit onderzoek kon men afleiden dat de voederopname en de groeisnelheid toenemen bij stijgende concentraties van 0,6 %, 1,2 % en 1,8 % kaliumdiformiaat. De voederconversie bleef gelijk bij de concentraties 1,2 % en 1,8 %. De voederopname steeg van 7 % tot 16,6 % ten opzichte van de controle. De groeisnelheid steeg van 17,7 % tot 32,6 %.

Yun (2005) deed onderzoek naar de invloed van kaliumdiformiaat op de dagelijkse gewichtstoename, de dagelijkse voederopname bij concentraties van 0,3 %, 0,6 %, 0,9 % en 1,2 %. Bij een concentratie van 0,9 % ziet men de grootste invloed op de dagelijkse gewichtstoename en dagelijkse voederopname met respectievelijk een verbetering van 9,4 % en 3,5 %. Bij 1,2 % daalt de dagelijkse gewichtstoename en dagelijkse voederopname met telkens 12,5 %.

Uit een onderzoek van Kluge et al., (2006) bij een concentratie van 1,2 % stelde men een stijging vast van de dagelijkse gewichtstoename en de dagelijkse voederopname met respectievelijk 18,9 % en 10,9 %. Bij een concentratie van 0,5 % uit recenter onderzoek van Li et al., (2008) stegen de dagelijkse gewichtstoename en de dagelijkse voederopname ook, echter minder sterk dan bij een concentratie van 1,2 %, met respectievelijk 9,6 % en 0,6 %.

In een ander onderzoek van Li et al., in 2008 werd een vergelijking gemaakt tussen het toedienen van 0,5 % kaliumdiformiaat en een mengsel van 0,5 % butaanzuur, fumaarzuur, benzoëzuur en calciumzout op de dagelijkse gewichtstoename, de dagelijkse voederopname, de voederconversie, het aantal lactobacilli en het aantal *E.coli*. Wat betreft de dagelijkse gewichtstoename kan men besluiten dat beiden hoger scoren in vergelijking met de controle, maar het is wel duidelijk dat het mengsel een betere invloed heeft op de gewichtstoename. Wat betreft de voederopname ziet men dat beide proeven ongeveer gelijk zijn, wat betekent dat de voederconversie bij het zuurmengsel lager zal zijn dan bij kaliumdiformiaat (1,47 t.o.v. 1,52). Bij het mengsel ziet men dat het aantal lactobacilli hoger ligt dan bij de controle, terwijl dit bij kaliumdiformiaat lager is in vergelijking met de controle. Voor beide proeven is het aantal *E.coli* lager in vergelijking met de controle. Het aantal *E.coli* is bij het mengsel wel lager in vergelijking met kaliumdiformiaat. In deze proef had het mengsel dus op alle parameters een betere invloed dan het toedienen van enkel kaliumdiformiaat.

## 2.12. Calcium zouten

Calciumformiaat ( $\text{Ca}(\text{HCOO})_2$ ), is een calciumzout van mierenzuur ( $\text{HCOOH}$ ). Het is ook gekend als een voedingsadditief in de voedingsindustrie. Het wordt synthetisch geproduceerd door reactie van calcium oxide of calcium hydroxide met mierenzuur

Het eerste onderzoek op calciumformiaat dateert reeds van 1992. In dit onderzoek van Eidelsburger et al., zorgde calciumformaat bij een concentratie van 1,8 % voor een stijging van de dagelijkse gewichtstoename en de dagelijkse voederopname met respectievelijk 2,7 % en 1 %. Door een recenter onderzoek van Bosi et al., (2007) kreeg men een ander inzicht op het gebruik van calciumformiaat. In dit onderzoek resulteerde een concentratie van 1,2 % in een toename van 12,5 % voor de dagelijkse gewichtstoename, 19,4 % voor de dagelijkse voederopname en tevens werd de voederconversie met 24,1 % verbeterd.

## 2.13. Natrium zouten

Natrium butyraat is een zeer interessante molecule omdat het een energiebron is bij bacteriële fermentaties. Tevens heeft het een regulerende invloed op celniveau (Mazzoni et al., 2008). Butyraat is één van de vluchtige vetzuren die geproduceerd wordt bij de bacteriële fermentatie van koolhydraten (Le Gall et al., 2009).

Galfi & Bokori (1990) waren de eerste om hogere groeiprestaties aan te tonen bij het voederen van 0,17 % natrium butyraat. Daarna hebben Piva et al., (2002b) aangetoond dat het voederen van 0,08 % natrium butyraat aan biggen de eerste acht weken na spenen resulteert in een gewichtstoename en een stijging van de dagelijkse voederopname gedurende de eerste twee weken na spenen. Dit in tegenstelling met Manzanilla et al., (2006) die een verbetering vaststelden van de voederconversie, maar geen verandering vonden in de groeiprestaties. Tevens stelden zij een lagere verteerbaarheid vast van organische stof en zetmeel bij gespeende biggen. Biagi et al., (2007) stelden geen veranderingen vast in de darmmorfologie bij biggen gevoederd met 0,1 – 0,4 % natrium butyraat gedurende de eerste 6 weken na spenen.

Butyraat is gekend om de groei te remmen van zowel gram – positieve (bijvoorbeeld enterococcon) als gram – negatieve bacteriën (bijvoorbeeld coliformen) (Le Gall et al., 2009). Butyraat wordt snel geabsorbeerd en kan zoals eerder vermeld snel gebruikt worden als energiebron voor de epitheelcellen (Le Gall et al., 2009).

Het gebruik van natrium butyraat in het voeder is echter nog weinig onderzocht (Mazzoni et al., 2008). Bij biggen die gevoederd zijn met een standaard speenvoeder, is de hoeveelheid natrium butyraat in de maag zeer laag of wordt het niet opgemerkt (Mazzoni et al., 2008).

Het toevoegen van natrium butyraat zorgt voor een verbeterde voederconversie gedurende de eerste twee weken na spenen. Omgekeerd zorgt het toevoegen van natrium butyraat tot 6 weken na spenen niet voor verbeterde groeiprestaties (Mazzoni et al., 2008). Dit impliceert dat langdurig toevoegen van natrium butyraat geen bijkomend voordeel oplevert.

In het onderzoek van Le Gall et al., (2009) had het voederen van natrium butyraat voor spenen een positief effect op het eindgewicht. Voor spenen had het toevoegen van natrium butyraat geen invloed op de gewichtstoename. Echter na spenen was de gewichtstoename hoger bij de biggen die werden gevoederd met natrium butyraat. Ook de dagelijkse voederopname na spenen was hoger in vergelijking met de controle. De fecale verteerbaarheid van droge stof, organische stof en stikstof was toegenomen wanneer natriumbutyraat werd gevoederd voor spenen. Wanneer natriumbutyraat na spenen werd

toegevoegd was de verteerbaarheid echter gedaald. Toevoegen van natrium butyraat had geen invloed op de lactase activiteit, zowel de maltase – en sucrase activiteit waren lager. Tevens heeft het toevoegen van natrium butyraat aan biggen van 3 tot 10 dagen na spenen een invloed op de ontwikkeling van de mucosa van het jejunum en het ileum. Men kon besluiten dat butyraat zorgt voor een stijging van de groei van de mucosa, een verbeterde cel differentiatie en een functie als barrière (Le Gall et al., 2009).

## **2.14. Ammoniumformiaat**

Eisemann et al. deden in 2007 onderzoek naar het effect van mierenzuur, ammoniumformiaat en mierenzuur + ammoniumformiaat op de dagelijkse gewichtstoename, de dagelijkse voederopname en de voederconversie. Volgende combinaties werden gebruikt: 1 % ammoniumformiaat, 0,8 % ammoniumformiaat, 0,6 % ammoniumformiaat, 1,2 % mierenzuur + 1 % ammoniumformiaat, 1 % mierenzuur + 0,8 % ammoniumformiaat en 0,8 % mierenzuur + 0,6 % ammoniumformiaat. Wat betreft de dagelijkse gewichtstoename zorgt 1 % ammoniumformiaat voor de sterkste stijging. Naarmate het % ammoniumformiaat afneemt ziet men een dalende gewichtstoename. Wanneer men mierenzuur bijvoegt, ziet men de hoogste gewichtstoename als het aandeel mierenzuur het laagst is (hier 0,8 %). Wat betreft de voederopname ziet men dat de voederopname afneemt met een dalend aandeel ammoniumformiaat. Wanneer men hier mierenzuur gaat bijmengen ziet men de hoogste voederopname bij het laagste aandeel mierenzuur en ammoniumformiaat. De voederconversie is het hoogst bij 1 % mierenzuur en 0,8 % ammoniumformiaat. Over het algemeen kan men zeggen dat de voederconversie het hoogst is wanneer mierenzuur is toegevoegd. Zonder mierenzuur is de voederconversie lager, en deze is het laagst bij het laagste aandeel ammoniumformiaat.

## **2.15. Combinatie van zuren**

Namkung et al., (2004) deden onderzoek naar het effect van twee zuurmengsels op de dagelijkse gewichtstoename, de dagelijkse voederopname en de voederconversie. Het eerste mengsel bestond uit: 23,1 % mierenzuur, 12,4 % azijnzuur, 12,7 % melkzuur, 13,3 % fosforzuur en 7,6 % citroenzuur. Het tweede mengsel bestond uit 14,5 % mierenzuur, 8,5 % azijnzuur, 8,0 % fosforzuur, 4,5 % citroenzuur, 25,8 % melkzuur. Het eerste mengsel had een lagere gewichtstoename van 5 g/dag in vergelijking met het tweede mengsel. De dagelijkse voederopname was bij het eerste mengsel 1 g/dag hoger in vergelijking met het tweede mengsel. De voederconversie was voor het eerste mengsel dan ook 0,167 hoger ten opzichte van de controle, voor het tweede mengsel was de voederconversie 0,122 lager in vergelijking met de controle. Waarschijnlijk zijn de mindere resultaten van het eerste mengsel te wijten aan het gebruik van fosforzuur wat geen invloed heeft op de technische resultaten maar enkel een pH – verlagend effect heeft. In datzelfde onderzoek werd ook de villi hoogte en crypte diepte gecontroleerd. Bij het eerste zuurmengsel was de villihoogte



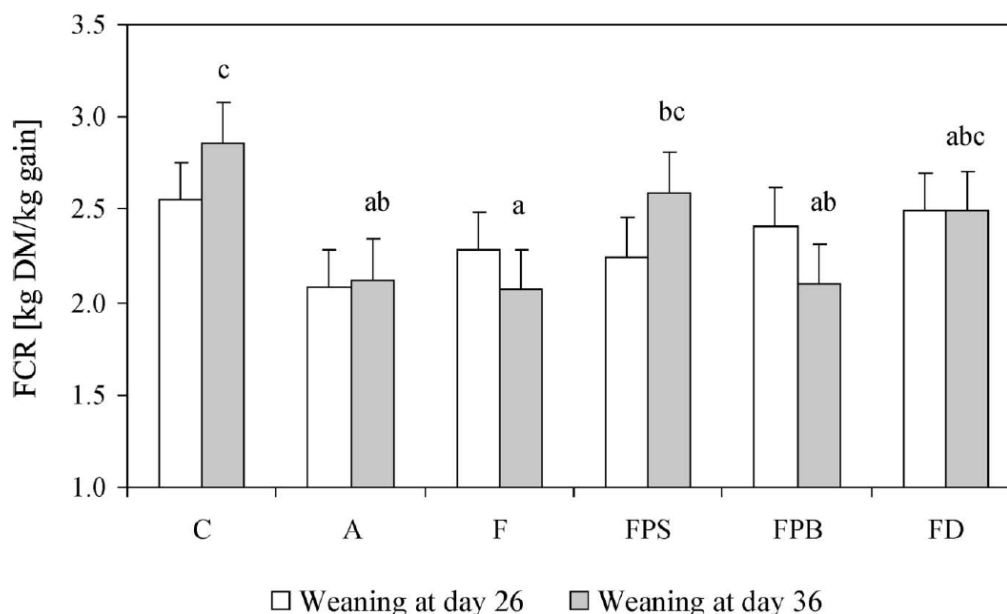
82 nm lager dan het tweede zuurmengsel. Ook de cryptediepte was 20 nm lager in vergelijking met het tweede zuurmengsel.

Grilli et al., (2010) concludeerden uit hun onderzoek dat 0,3 % citroenzuur gecombineerd met 0,3 % sorbinezuur resulteerde in betere groeiprestaties, maar alleen de toename van de dagelijkse gewichtstoename was significant verschillend.

Een eerder onderzoek van Li et al., (2008) met een combinatie van butaanzuur, fumaarzuur en benzoëzuur resulteerde in een duidelijke toename van de dagelijkse gewichtstoename en een betere voederconversie.

Andere onderzoeken, waaronder die van Omobenigun et al., (2003), Lee et al., (2007) en Eisemann en van Heugten (2007), konden geen verbeteringen aantonen op de groeiprestaties. Dit is waarschijnlijk te wijten aan een slechte combinatie van zuren. Het is duidelijk dat het mengen van zuren een positief effect kan hebben wanneer zuren worden gebruikt die elkaar aanvullen (Dong Yong kil et al., 2011).

Er zijn ook combinaties mogelijk van zuren met zouten. De invloed van deze combinatie op de voederconversie werd onder andere onderzocht door Partanen et al., (2007) (zie grafiek 14). Er werden twee combinaties onderzocht. De eerste combinatie bestaat uit mierenzuur, propionzuur en kaliumsorbaat; de tweede combinatie bestaat uit mierenzuur, propionzuur en natriumbenzoaat. Aangezien dezelfde zuren worden gebruikt, kan men dus de invloed van de zouten op de voederconversie beoordelen. In grafiek 14 kan men zien dat op een speenleeftijd van 26 dagen zowel kaliumsorbaat en sodiumbenzoaat zorgen voor een daling van de voederconversie, deze daling is sterker bij kaliumsorbaat. Op een speenleeftijd van 36 dagen ziet men voor beide zouten terug een daling ten opzichte van de controle. Zoals men kan zien is de daling sterker bij sodiumbenzoaat ten opzichte van kaliumsorbaat.



**Grafiek 14: Effect van verschillende zuren of combinaties van zuren op de voederconversie van biggen op een speenleeftijd van 26 of 36 dagen (Partanen et al., 2007) C = Controle; A = Avilamycine; F = mierenzuur ; FPS = mierenzuur, propionzuur en kaliumsorbaat; FPB = mierenzuur, propionzuur en sodiumbenzoaat**

In datzelfde onderzoek van Partanen et al., (2007) werd ook het effect onderzocht van kaliumsorbaat en natriumbenzoaat op de dagelijkse gewichtstoename en de dagelijkse voederopname. Bij beide zouten ziet men een stijging van de dagelijkse gewichtstoename, 4,5 % voor kaliumsorbaat en 5,5 % voor natriumbenzoaat. De dagelijkse voederopname daalde bij beide zouten, 1,2 % voor kaliumsorbaat en 1,6 % voor natriumbenzoaat.

Hansen et al., (2007) deden onderzoek naar het effect van 1 % mierenzuur + 1 % melkzuur op de pH, het aantal melkzuurbacteriën en het aantal enterobacteriën. Tevens werd een onderscheid gemaakt tussen gepelleteerd voeder en grof gemalen voeder. Bij het gepelleteerd voeder ziet men een pH – daling van 7,3 % in vergelijking met het grof gemalen voeder waar de daling minder is met 6,6 %. Wat betreft het aantal melkzuurbacteriën ziet men bij het gepelleteerd voeder een daling van 23,6 %, terwijl dit voor het grof gemalen voeder slechts 7,5 % is. Het aantal enterobacteriën vertoont bij het gepelleteerd voeder een daling van 29,1 %, terwijl dit bij het grof gemalen voeder 24,2 % bedraagt.

Selko Feed Additives deed reeds onderzoeken op het gebruik van Selko pH. Selko pH bevat volgende samenstelling: lactulose, 1,2 – propanediol, mierenzuur, azijnzuur, ammoniumformiaat, L – Ascorbinezuur, citroenzuur, benzoëzuur, koper en zink. De verhoudingen van deze zuren mogen niet worden vrijgegeven. Tevens is het belangrijk om te weten dat Selko pH gebruik maakt van gebufferde zuren. Dit zorgt voor een maximale verbetering van de darmgezondheid van varkens. In vergelijking met ongebufferde zuren is het een veiliger product. Tevens komt door de gebufferde vorm zuren beschikbaar in de darm, die *E.coli* en *Salmonella* reduceren. Tevens bewijzen experimenten dat gebufferde zuren een sterkere antibacteriële werking op darmniveau hebben. Er werd een proef uitgevoerd bij 864 biggen, die werden verdeeld in twee gelijke groepen. Het gemiddeld begingewicht bij deze proef was 22 kg. Er was één controlegroep, bij de andere groep werd het water gedurende vijf weken aangelengd met 0,2 % Selko pH. Dit resulteerde in een lagere voederopname van 0,2 %, maar een daling van de voederconversie met 3,2 %. De volgende proef werd uitgevoerd bij biggen met een startgewicht van 31 kg. Bij deze proef was er één controlegroep, bij de andere groep werd het water gedurende vier weken aangelengd met 0,1 % Selko pH. De voederopname bij de groep met Selko pH steeg met 1,43 %, de dagelijkse gewichtstoename met 2,52 %. Dit resulteerde in een daling van de voederconversie met 1,42 %. Rekening houdend met deze cijfers en de kost voor de aankoop van Selko pH resulteert dit in een hogere waarde van 4,09 % per big. De laatste proef die wordt besproken is uitgevoerd op biggen die gespeend zijn op een leeftijd van 23 dagen. Deze werden gedurende vier weken opgevolgd tot een gemiddeld gewicht van 12,2 kg. Er werd 0,2 % Selko pH via het water toegevoegd aan de ene groep, de andere groep was een controlegroep. Hierdoor steeg de dagelijkse gewichtstoename 3,2% van 217 g/dag tot 224 gram/dag, tevens nam de voederopname 1,6 % toe van 309 g/dag tot 314 g/d, wat uiteindelijk resulteerde in een 1,4 % lagere voederconversie van 1,42 tot 1,40. In ditzelfde onderzoek kon men eveneens een 8,3 % lagere incidentie waarnemen van diarree ten opzichte van de controleproef. Rekening houdend met aankoop van Selko pH, de

voederkost en de waarden van de biggen bij verkoop, bekomt men een meeropbrengst van 0,12 EUR/big bij het gebruik van Selko pH.

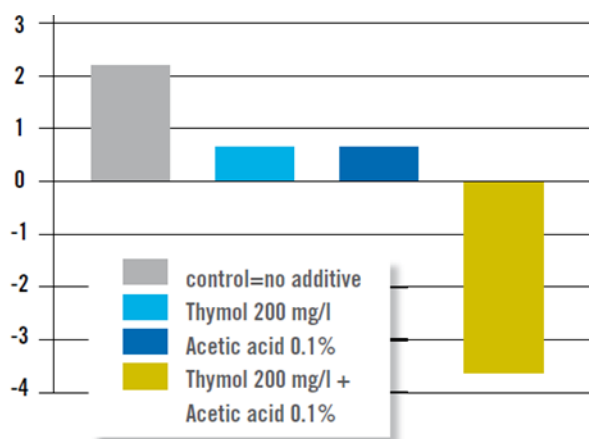
## 2.16. Nieuwste ontwikkelingen

### 2.16.1 Essentiële oliën

Essentiële oliën zijn natuurlijke substanties die planten produceren om zichzelf te beschermen tegen bacteriële infecties. Ze zijn afkomstig van: bloemen, knoppen, zaden, bladeren, twijgen, schors, kruiden, hout, vruchten en wortels. Voorbeelden van essentiële oliën zijn thymol en carvacrol die afkomstig zijn van planten zoals oregano (Van Dijk, 2009). Daarnaast worden ook vaak essentiële oliën gebruikt afkomstig van venkel – en karwijzaad (Schöne, 2006).

Recent zijn er onderzoeken uitgevoerd op een combinatie van essentiële oliën met organische zuren als voedingsadditief. Sinds 2009 hebben veel laboratoria geëxperimenteerd op biggen om het synergistisch effect van essentiële oliën en organische zuren aan te tonen. Tevens heeft men aangetoond dat essentiële oliën de verteerbaarheid verbeteren door stimulatie van verteringsenzymen (Basmacioglu et al., 2010). Er wordt ook verondersteld dat de bactericide en bacteriostatische effecten van essentiële oliën gecombineerd met de antibacteriële effecten van zuren de microflora in het maagdarmkanaal beter onder controle houden (Bozkurt et al., 2011).

Recente onderzoeken in verschillende laboratoria, waaronder die van Feng Zhou et al., (2007) hebben het synergistisch effect van essentiële oliën en zuren aangetoond wat betreft de remming van bacteriën. Feng Zhou et al., (2007) konden onder meer aantonen dat de combinatie van bijvoorbeeld thymol en azijnzuur een betere werking heeft tegen *Salmonella* dan wanneer ze beiden apart worden gebruikt (zie grafiek 15).



Grafiek 15: Synergistisch effect essentiële oliën en organische zuren (Feng Zhou et al., 2007)

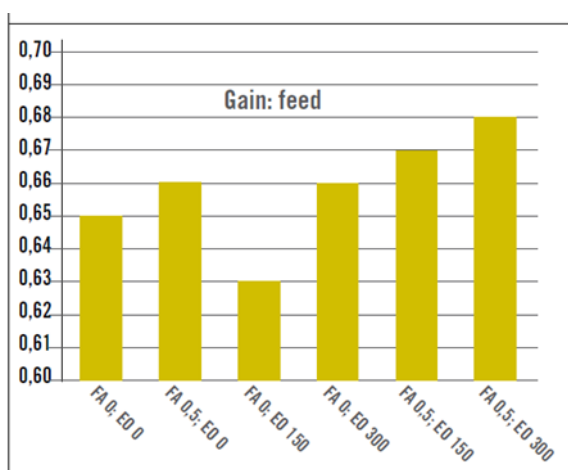
In de periode van 2009 is de werking van essentiële oliën tegen bacteriën duidelijk geworden. Op de universiteit van Utrecht is aangetoond dat carvacrol (een essentieel olie), de bacteriële celwand van *E.coli* gaat aanvallen. Een andere optie is dat essentiële oliën

voorkomen dat *E.coli* bacteriën flagellen kunnen vormen. Zonder deze flagellen is het niet mogelijk voor de bacteriën om te groeien en te vermenigvuldigen (Van Dijk, 2009).

Feng Zhou et al., (2007) concludeerden dat organische zuren de efficiëntie van essentiële oliën versterken omdat ze hun actieve componenten verplaatsen van de gedissocieerde naar de moleculaire vorm. De moleculaire vorm is vrij permeabel in de bacteriële celwand, zodat het op die manier de bacterie kan beschadigen. Het beschadigen van de bacteriële cel door essentiële oliën maakt het voor organische zuren makkelijker om in de bacterie binnen te dringen en deze te vernietigen (Van Dijk, 2009).

Schöne et al., (2006) vergeleken in hun onderzoek vier voeders. Het eerste voeder was zonder zuur of essentiële oliën, het tweede voeder bestond uit 0,75 % mierenzuur en 160 mg Cu/kg, het derde voeder bevatte 100 mg venkelolie/kg en het laatste voeder bevatte 100 mg karwijolie/kg. Deze vier voeders werden gedurende de eerste drie weken na spenen toegediend. Er was geen invloed op het sterftepercentage waar te nemen. De combinatie van mierenzuur en koper resulteerde in een hogere voederopname van 27 % en een dagelijkse gewichtstoename van 25 %. Tussen het controle voeder en de venkelolie werden geen verschillen gevonden in de prestaties van de dieren. Biggen gevoederd met karwijolie vertoonden een tendens tot een lagere voederopname en een lagere gewichtstoename van 10 %.

Manzanilla et al., (2004) bewezen het synergistisch effect van mierenzuur en essentiële oliën. Men vond dat de combinatie van beide resulteerde in een hogere gewichtstoename per kg voeder (zie grafiek 16) en een lager sterftecijfer door *E.coli* in vergelijking met het apart toedienen. In grafiek 16 ziet men ook dat het effect van 0,5 % mierenzuur even hoog is als 300 ppm essentiële oliën. Echter 0,5 % mierenzuur vergelijken met 150 ppm essentiële oliën toont aan dat 150 ppm essentiële oliën resulteren in de laagste gewichtstoename per kg voeder. In de laatste twee staven van grafiek 16 ziet men duidelijk dat het combineren van beiden zorgt voor een hogere gewichtstoename per kg voeder.



Grafiek 16: Synergistisch effect organische zuren en essentiële oliën op de gewichtstoename per kg voeder (Manzanilla et al., 2004)

## 2.16.2 Monoglyceriden

Organische zuren hebben enkel een werking tegen de gram – negatieve bacteriën zoals *Salmonella* en *E.coli*. Recent is men begonnen met het bijmengen van monoglyceriden omdat deze ook een werking hebben tegen gram – positieve bacteriën zoals *Staphylococcus aureus* (Bergsson et al., 2008). Monoglyceriden worden ook vooral gebruikt in de voedingsindustrie omwille van hun emulgerende eigenschappen (Moonen & Bas, 2004).

De microbiële effecten van middellange keten vetzuren en hun monoglyceriden zijn in recente jaren onderzocht. Men heeft gevonden dat deze een brede microbiële activiteit hebben tegen virussen en verschillende bacteriën. De antimicrobiële activiteit van vetzuren en monoglyceriden is afhankelijk van het aantal koolstof atomen en de aanwezigheid van dubbele bindingen (Thormar & Hilmarsson, 2007).

Vetzuren en monoglyceriden zijn lipofiele bestanddelen, waardoor de targetplaats voor hun werking het cytoplasmatisch membraan van de cellen is (Bunkova et al., 2011). Het mechanisme voor de antibacteriële activiteit van vetzuren en monoglyceriden is nog niet volledig bekend. Het is wel geweten dat ze schade aan het celmembraan veroorzaken en transport van aminozuren naar de cel verhinderen (Bunkova et al., 2011).

## **3. GEBRUIK VAN ANTIBIOTICA**

### **3.1. Inleiding**

Het veelvuldig gebruik van antibiotica in het kader van dierenwelzijn kan niet ontkend worden. Het overgrote deel van diergeneesmiddelen, waaronder dus ook andere producten dan antibiotica, die worden gebruikt bij dieren zijn bestemd voor menselijke consumptie. Van het totaal aantal geneesmiddelen wordt 29,6 % gebruikt voor varkens, 27,1 % voor runderen, 26,4 % voor pluimvee en 5,1 % voor kleine herkauwers. Bij de geneesmiddelen vormt antibiotica met 32 % de grootste groep (Vandenbussche, 2004).

De ontdekking van antibiotica heeft in de diersector gezorgd voor een revolutie. Sulfonamiden waren één van de eerste antibiotica die getest werden op dieren in 1930. In het begin werden ze gedoemd om te mislukken omwille van een verminderde groei bij ratten (Jonathan Paul Holt, 2008). Daarna vonden onderzoekers een lager sterftepercentage en een hogere groei bij ratten gevoerd met sulfonamiden en essentiële vitaminen (Jonathan Paul Holt, 2008). In de jaren '50 en '60 werden subtherapeutische dosissen antibiotica zoals penicilline en tetracyclines in vele landen gebruikt om de groei te verbeteren.

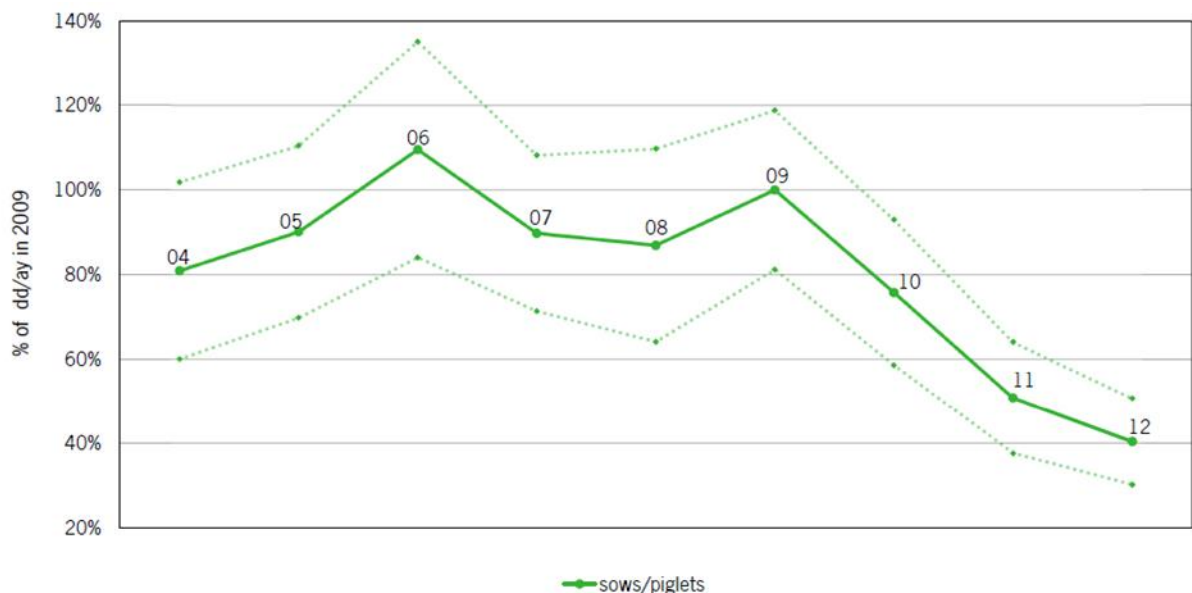
Antibiotica kunnen voor verschillende doelen worden gebruikt: als een tussenproduct om een ziekte te voorkomen of om een ziekte te genezen (Viola & DeVincent, 2006). Het niet – therapeutisch (= groeibevorderend effect) gebruik van antibiotica verklaard het gebruik in de dierlijke sector. Er wordt een bepaalde concentratie toegediend om de groei te verbeteren en ziektes te voorkomen (Jonathan Paul Holt, 2008). Het subtherapeutisch gebruik van antibiotica wordt in de voeders ingemengd in een concentratie van minder dan 200 gram per ton (Bach Knudsen, 2001). Volgens Viola & DeVincent (2006) wordt gemiddeld 9 % van de productie van antibiotica gebruikt om de groei te bevorderen. Het is algemeen aangenomen dat het gebruik van antibiotica kan leiden tot residuen in het weefsel van de behandelde dieren, de grootste zorg blijft echter het gebruik van antibiotica als groeibevorderaar (Bach Knudsen, 2001). Daarom werd door de Europese Unie reeds in 1997 het gebruik van avoparcine verboden, gevolgd door bacitracine, spiramycine, tylosine en virginiamycine in 1999 (Delsol et al., 2004). Vanaf 2006 werd het gebruik van antibiotica in Europa als groeibevorderend middel verboden.

### **3.2. Gebruik van antibiotica in de varkenssector**

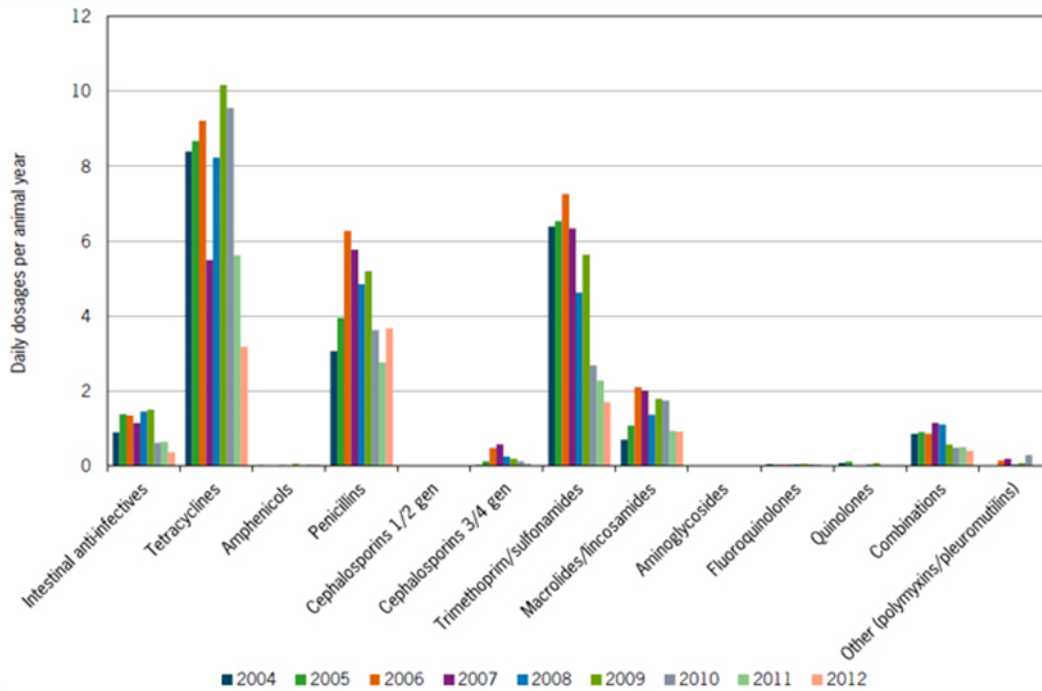
In de varkenssector wordt heel vaak gebruik gemaakt van antibiotica. Een eerste onderzoek van Cunha et al., (1950) toonde het groeibevorderend effect aan door het gebruik van antibiotica in het voeder van varkens. Vandaar dat het gebruik van antibiotica in de varkenssector een snelle opgang heeft gekend (Jonathan Paul Holt, 2008). Gemiddeld wordt antibiotica gebruikt in 90 % van de startvoerders, 75 % van de groeivoeders en 50 % van de eindvoerders (Van Lunen, 2003).

Het gebruik van antibiotica in voeders heeft vele voordelen om de productie efficiëntie te verhogen. Antibiotica hebben aangetoond dat ze het ziekte – en sterftepercentage kunnen verlagen. En omdat bedrijven met een gebrek aan hygiëne een grotere effect waarnemen door het gebruik van antibiotica is het duidelijk dat antibiotica het aantal pathogenen vermindert (Van Lunen, 2003). Cromwell (1991) was de eerste om aan te tonen dat het gebruik van antibiotica bij jonge biggen de sterfte met 50 % deed dalen, dit effect was groter wanneer de ziektedruk hoger was. Daarnaast heeft antibiotica ook een invloed op de reproductie. Het voederen van antibiotica voor het dekken heeft de grootste invloed op de reproductie resultaten. Het voederen van 0,54 g/dag oxytetracycline twee weken na het spenen resulteert in een verhoogd aantal geboren en gespeende biggen (Jonathan Paul Holt, 2008).

Varkens behandelen met antibiotica brengt risico's met zich mee voor de volks – en diergezondheid. Bacteriën kunnen zo resistent worden en overgaan op de mens. Het is daarom wenselijk dat varkenshouders bij hun dieren zo min mogelijk antibiotica gebruiken (Bergevoet, 2013). Uit grafiek 17 kan men zien dat vanaf 2009 een sterke daling wordt waargenomen in het gebruik van antibiotica. Maar het overmatig gebruik van antibiotica in de intensieve varkenshouderij de voorgaande jaren heeft gezorgd voor het ontstaan van een nieuwe 'varkens' stam, de bacterie *Staphylococcus aureus* (MRSA). Deze werd voor het eerst geïdentificeerd in 2004 – 2005 in Nederland. Deze werd heel snel verspreid onder de varkens in veel Europese landen, onder de mensen die in contact komen met de dieren, en van deze mensen naar ziekenhuizen.

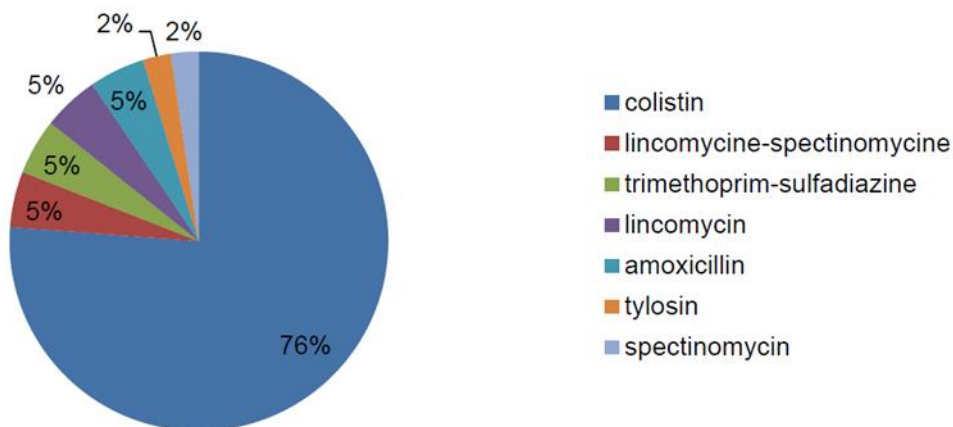


**Grafiek 17: Gebruik van antibiotica in de varkenssector (Wageningen, 2012)**



**Grafiek 18: Gebruik van soorten antibiotica (Wageningen, 2012)**

Verder kan men in grafiek 18 zien dat vooral tetracyclines en sulfonamides worden gebruikt in de varkenssector. Over het algemeen kan men in deze grafiek ook opmerken dat vanaf 2009 het gebruik is afgenomen.

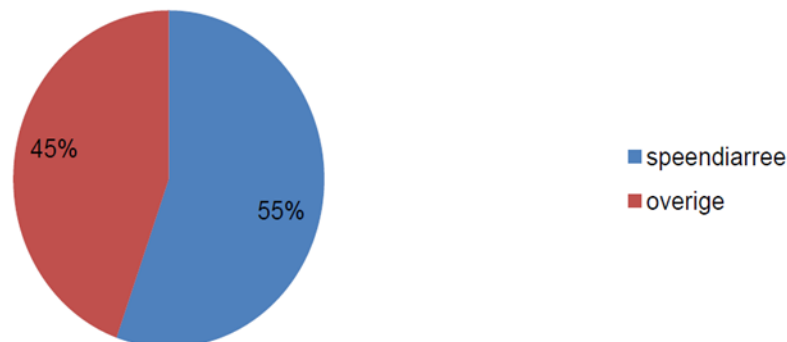


**Grafiek 19: Gebruik antimicrobiële groeibevorderaars tegen spendediarree (AMCRA, 2013)**

Het gebruik van antimicrobiële groeibevorderaars werd door Callens et al., in 2012 in kaart gebracht. Uit deze studie bleek dat 84 % van de bedrijven groepsbehandelingen met antimicrobiële groeibevorderaars toedienen in de batterij ter preventie en behandeling van spendediarree. Hiervoor werd in 76 % van de gevallen colistine gebruikt (zie grafiek 19). Dit gebeurt vooral via het voeder ( $\pm 75\%$ ) en in mindere mate via het drinkwater ( $\pm 25\%$ ).



## Verhouding hoeveelheid toegediende ABM



Grafiek 20: Verhouding van de hoeveelheid toegediende antimicrobiële groeibevorderaar (AMCRA, 2013)

Het behandelen van de gespeende biggen tegen speendiarree heeft een grote invloed op het preventief gebruiken van antimicrobiële groeibevorderaars. Uit de studie van Callens et al., (2012) is duidelijk geworden dat 55 % van de totale hoeveelheid antimicrobiële groeibevorderaars gebruikt wordt voor de behandeling van speendiarree.

### 3.3. Groeibevorderende effecten

De betere groeiprestaties door het gebruik van antibiotica is bij gespeende biggen reeds aangetoond (Jonathan Paul Holt, 2008). Maar omwille van het risico op de ontwikkeling van antibiotica resistente bacteriën en de invloed van de publieke opinie is dit sinds 2006 in België verboden (Jonathan Paul Holt, 2008). Eerder werd dit bijvoorbeeld in 1986 in Zweden verboden en in 1995 in Denemarken. In 1999 werden in Europa reeds vijf antibiotica als groeibevorderaars verboden. Antibiotica als groeibevorderaar wordt in dosissen gebruikt die 10 tot 25 maal kleiner zijn dan de therapeutische dosis (Vandenbussche, 2004). Ze zijn vooral werkzaam tegen de gram – positieve bacteriën in het verteringsstelsel.

Tegenwoordig zijn er nog zeventien antibiotica toegelaten, waarvan er veertien een groeibevorderend effect hebben. De werking van de voornaamste antibiotica klassen die in het proefgedeelte worden gebruikt, worden hier kort besproken. Amoxicilline behoort tot de penicilline antibiotica. Penicilline blokkeert een enzym dat betrokken is bij de bouw van de celwand van de bacterie. Het werkt op de peptidebindingen van D – alanine, dat voorkomt in de celwand van bacteriën. Amoxicilline is actief tegen zowel gram – positieve als gram – negatieve bacteriën. Doxycycline behoort tot de groep van tetracyclines, tot deze groep behoren verder ook chloortetracycline en oxytetracycline die in wat volgt nog aan bod zullen komen. Tetracyclines remmen de celgroei door het verhinderen van translatie. Bacteriën kunnen snel resistent worden tegen tetracycline. Het is een antibacteriële stof die door het bacteriegeslacht *Streptomyces* wordt geproduceerd. Verder wordt in de proeven ook gebruikt gemaakt van apralan, dit antibioticum behoort tot de groep van de aminoglycosiden. Tot deze groep behoren bijvoorbeeld ook neomycine en gentamicine, wat later ook nog

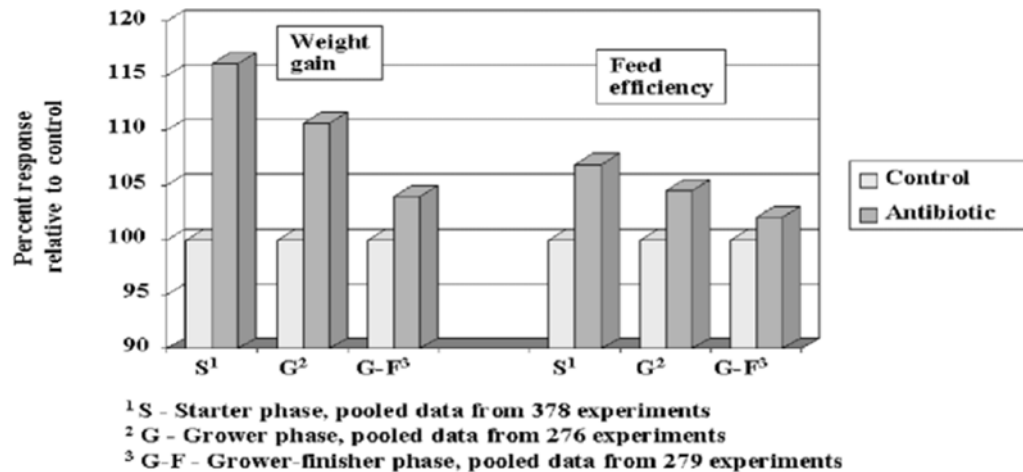
vermeld zal worden. Aminoglycosiden remmen de eiwitsynthese van bacteriën, waardoor ze de vorming van het initiatiecomplex verhinderen. Verder werd een kleine behandeling met draxxin gebruikt, dit antibioticum behoort tot de macroliden. Tylosine dat later nog aan bod komt, behoort ook tot deze groep. Deze verhinderen de translocatie en zijn bactericide tegenover de meest gevoelige bacteriën bij hogere concentraties (Word document eindwerk over antibiotica via khlim.be, naam niet weergegeven).

Cunha et al., (1950) waren de eerste om aan te tonen dat het voederen van antibiotica (auremocyn) aan biggen de dagelijkse gewichtstoename en de voederconversie verbeterde. Sinds deze periode zijn er heel wat onderzoeken verricht op de groeibevorderende eigenschappen van verschillende antibiotica (Jonathan Paul Holt, 2008). Gedurende de jaren '90 is het gebruik daarvan in de meeste Europese landen dan ook sterk toegenomen. Het grote voordeel is dat de dieren kunnen groeien volgens hun genetisch potentieel, dit omdat antibiotica schade in de darm voorkomt, ze remmen de ontwikkeling van micro – organismen. Omdat er zo minder voedingsstoffen worden gebruikt voor de micro – organismen, kunnen deze eiwitten gebruikt worden voor de aanzet van spierweefsel. De antibiotica zorgt tevens voor een minder dikke mucosa en langere villi. Dit resulteert in een betere vertering en absorptie van de voedingsmiddelen (Vandenbussche, 2004). Dat antibiotica resulteren in langere villi werd ook aangetoond in een onderzoek van Silva et al., (2010). In dit onderzoek resulteerde de proef met amoxicilline 50 % in de langste villi en minst diepe crypten. De lengte van de villi bedroeg 320 µm, en de cryptediepte was 126,5. Dit resulteerde in een villi/crypteverhouding van 2,7.

Er zijn heel wat groepen antibiotica gekend met groeibevorderende eigenschappen: zink – bacitracin, chloortetracycline, oleanomycine, oxytetracycline, tylosine, peniciline, neomycine, tilimicosine, sulfamethazine en sulfathiozool. Op al deze antibiotica is heel wat onderzoek verricht om er zeker van te zijn dat deze een positieve invloed hebben op de groeiprestaties van de biggen (Jonathan Paul Holt, 2008). Ook worden vaak combinaties gebruikt. De combinatie neomycine/oxytetracycline of tylosine/sulfamethazine zorgt bijvoorbeeld voor een snellere groei en een betere voederconversie. De combinatie chloortetracycline, peniciline en sulfathiozool had een betere invloed op de groei in vergelijking met het apart toedienen van deze antibiotica (Jonathan Paul Holt, 2008).

In een onderzoek van Cromwell (2002) is aangetoond dat antibiotica het meest efficiënt is om de groei te bevorderen bij jonge biggen. Carbadox bijvoorbeeld verbeterd de groei en de voederopname gedurende vijf weken, het effect was het sterkst in de eerste twee weken (Jonathan Paul Holt, 2008). Van Lunen (2003) kon een hogere groei van 0,5 % aantonen door het gebruik van tylosine bij varkens van 20,6 kg tot 110,2 kg. Daartegenover staat dat bijvoorbeeld bambermycine de grootste invloed heeft op varkens van 55 kg tot 115 kg. De combinatie chloortetracycline en peniciline had geen invloed op varkens van 45 kg tot 95 kg. De reden waarom antibiotica vooral een invloed heeft op de groei bij biggen is omdat biggen gevoeliger zijn voor infecties. Het effect op het gebruik van antibiotica is groter wanneer deze worden toegediend aan biggen die zijn gehuisvest in een verontreinigde stal in vergelijking met een gereinigde stal (Jonathan Paul Holt, 2008).

Het is belangrijk om te vermelden dat het langdurig gebruik van antibiotica als groeibevorderaar kan zorgen voor het voortbestaan van resistente bacteriën. Op deze manier kan dit worden overgedragen op andere bacteriën, zodat deze in stand worden gehouden (Bach Knudsen, 2001).



Grafiek 21: Invloed van antibiotica op gewichtstoename en voederefficiëntie (Gaskins et al., 2002)

In grafiek 21 ziet men de invloed van antibiotica op de gewichtstoename en voederefficiëntie. Er werd een onderscheid gemaakt tussen 3 fasen: een startfase, een groeifase en een eindfase. De controleproef werd voor alle fasen op 100 % vastgesteld, de proeven met antibiotica werden dan uitgedrukt ten opzichte van 100 %. Men kan vaststellen dat de gewichtstoename ongeveer op 115 % ligt in de startfase. Daarna ziet men dat het % hogere gewichtstoename in vergelijking met de controleproef afneemt bij de groeifase (110 %), en nog verder afneemt bij eindfase (104 %). Voor de voederefficiëntie ziet men hetzelfde verloop, ook hier is het effect het grootst bij de startfase (106 %), om dan af te nemen bij de groeifase (104 %) en eindfase (102 %). Aangezien de verbetering in de gewichtstoename groter is dan de verbetering in de voederefficiëntie, betekent dit dat de voederopname is toegenomen bij de dieren met antibiotica.

In een proef van Weber et al. (2001) was de dagelijkse gewichtstoename groter gedurende de eerste negen weken na spenen wanneer werd gebruik gemaakt van antibiotica.

In een proef van Gaskins et al., (2002) werd door het toevoegen van tylosine ook een verbetering gevonden van 3 % wat betreft de verteerbaarheid van stikstof. De excretie van stikstof werd met 10 % verlaagd in vergelijking met de controle. Tevens was de retentie van stikstof 5,8 % beter.

Een proef van Agudelo et al., (2007) op het gebruik van Virginiamycine (VIR) leidde tot volgende resultaten. Bij het toevoegen van 11 mg/kg VIR was de verteerbaarheid van de droge stof 1 % hoger. Ook de verteerbaarheid van energie was gestegen, dit met 0,84 %. De stikstof verteerbaarheid was eveneens toegenomen, echter niet significant. In deze proef was het grootste verschil de verteerbaarheid van fosfor, deze was met 8,44 % toegenomen. Verder was de verteerbaarheid van calcium, zink en magnesium ook sterk toegenomen met respectievelijk 5,81 %, 3,9 % en 3,1 %. Wanneer men naast 11 mg/kg VIR nog fytase

toevoegt, ziet men dat de fosforverteerbaarheid stijgt met 26,37 %, het toevoegen van fytase zorgt dus voor een hogere verteerbaarheid van 17,93 %.

Onderzoek van Jonathan Paul Holt (2008) kon geen verschil aantonen in dagelijkse gewichtstoename, het eindgewicht van de biggen en de dagelijkse voederopname. Dit is dus in tegenstelling met andere onderzoeken waar zo goed als altijd een verbetering werd vastgesteld in de groeiprestaties. De reden hiervoor is waarschijnlijk omdat hier met gezonde biggen werd gewerkt op een proper bedrijf, waardoor groeibevorderaars minder of geen invloed hebben (Van Lunen, 2003). Dit werd reeds duidelijk uit een onderzoek van Cromwell (2001) waar de dagelijkse gewichtstoename en voederefficiëntie meer dan 50 % hoger was op een gewoon varkensbedrijf in vergelijking met een testbedrijf. De voederefficiëntie was wel licht gestegen van 0,60 naar 0,63. Het aantal coliformen daalde van  $61,5 \times 10^6$  tot  $40,3 \times 10^6$  door het gebruik van antibiotica.

Rozeboom et al. (2005) concludeerden dat bij het voederen van 110 mg/kg tylosine en 110 mg/kg sulfamethazine aan gespeende biggen gedurende 42 dagen er een stijging werd vastgesteld in de dagelijkse groei en de dagelijkse voederopname. De stijging was waar te nemen voor alle drie de bedrijven die werden onderzocht.

Uit onderzoek van Jonathan Paul Holt (2008) bleek dat het geven van 110 mg/kg tylosine en sulfamethazine de dagelijkse groei deed toenemen met 0,02 kg/dag in vergelijking met de controle. De dagelijkse voederopname steeg met 0,04 kg/dag. Hieruit kon men besluiten dat de voederefficiëntie (gewichtstoename/voederopname) steeg van 0,56 tot 0,60. Voor de dagelijkse gewichtstoename werden de grootste verschillen ten opzichte van de controle waargenomen in week drie en vier na spenen. De dagelijkse voederopname was tijdens de vijf weken na spenen altijd hoger in vergelijking met de controle. Uit dit onderzoek kon men ook afleiden dat het aantal enterococci daalde van  $17,5 \times 10^3$  bacteriën tot  $5,9 \times 10^3$ . Het aantal coliformen was het hoogst op dag 0 en daalde dan verder tot dag 35. Voor enterococci ziet men dezelfde dalende trend. Ook de resistentie van coliformen ten opzichte van tylosine, sulfamethazine, erythromycine, en neomycine werd onderzocht bij het voederen van 110 mg/kg tylosine en sulfamethazine. De resistentie was het hoogst voor tylosine en sulfamethazine, respectievelijk 59 % en 55,6 %. Deze waarden liggen iets hoger dan de controleproef, hierin was de resistentie voor tylosine 48,4 % en voor sulfamethazine 51,4 %. Wat betreft erythromycine steeg de resistentie van 25,7 % tot 35,4 %. De kleinste stijging is waar te nemen bij neomycine, van 18,3 % tot 20,1 %. Wat betreft de resistentie van enterococci ziet men in vergelijking met coliformen de hoogste resistentie voor sulfamethazine (65,1 %). Tylosine en erythromycine vertonen ongeveer gelijke resistentie met respectievelijk 54,1 % en 54,3 %. Opvallend hierbij is dat de toename van resistentie voor tylosine en erythromycine door het gebruik van 110 mg/kg tylosine en sulfamethazine groter is dan bij coliformen. Ook opvallend is de daling in resistentie voor sulfamethazine en neomycine, respectievelijk van 75,7 % tot 65,1 % en 9,7 % tot 7,8 %.

Uit onderzoek van Estienne et al., (2005) kon men tevens veronderstellen dat het stopzetten van antibiotica een negatieve invloed kan hebben op de dagelijkse gewichtstoename. Uit dit onderzoek werd bij de controleproef geen antibiotica gebruikt, bij de andere groep werd een

penicilline antibiotica gebruikt. De biggen kregen een éénmalige injectie toegediend op dag 1 en werden gewogen bij geboorte, op dag 7, dag 14 en dag 21. Tijdens de eerste 7 dagen is de dagelijkse gewichtstoename van de biggen 0,169 gram, terwijl dit voor de controle 0,164 gram is. De volgende periode is de dagelijkse gewichtstoename van de controlegroep reeds hoger met 0,247 gram ten opzichte van de antibioticagroep met 0,220 gram. Ook in de laatste periode is de dagelijkse gewichtstoename van de controlegroep hoger.

### **3.4. Werking van antibiotica**

#### **3.4.1 Inleiding**

Er bestaan vele redenen voor de groeibevorderende eigenschappen van antibiotica. Een eerste reden is dat de nutriënten efficiënter worden geabsorbeerd en minder door de darmwand worden gebruikt door een dunner epitheel. Ten tweede zijn er meer nutriënten beschikbaar voor de gastheer vanwege een verminderde flora. De derde reden is dat er een vermindering is van schadelijke bacteriën waardoor er minder kans is op subklinische infecties. Als vierde reden kan men vermelden dat het aantal groei onderdrukkende toxines of metabolieten is verminderd (Bach Knudsen, 2001). Deze redenen te groeperen in drie mogelijke effecten: een metabolisch effect, een nutritioneel effect en een ziekte beperkend effect (Cromwell, 2001).

#### **3.4.2 Metabolische effecten**

Antibacteriële stoffen kunnen de behoefte veranderen voor energie, vet, eiwit, mineralen en water – en vetoplosbare vitaminen (Jonathan Paul Holt, 2008). Het groeibevorderend effect van antibiotica is groter bij voeders die vooral bestaan uit sucrose in vergelijking met voeders die vooral uit zetmeel bestaan. Dit is dus een mogelijke reden waarom groeibevorderende antibiotica efficiënter zijn bij jonge biggen dan bij oudere biggen, omdat deze voeders meer sucrose bevatten. Uit verschillende onderzoeken kon vaststellen dat de schijnbare verteerbaarheid van organische stof en koolhydraten daalde bij biggen gevoerd met antibiotica. Dit toont aan dat er bij biggen gevoerd met antibiotica een beter gebruik is van de geabsorbeerde energie (Jonathan Paul Holt, 2008). Groeibevorderende antibiotica verminderen het aantal *Lactobacillus* en *Enterococcus*, dit zijn twee belangrijke transformatoren van het galzuur (Gaskins et al., 2002). Tevens zorgt antibiotica voor een verhoogde verteerbaarheid van ruw vet in biggen. Een verhoogde absorptie van vetten bij biggen kan ook resulteren in een betere groei (Jonathan Paul Holt, 2008). Er werden ook gunstige effecten op het eiwitmetabolisme vastgesteld bij het gebruik van antibiotica (Gaskins, 2002). Hij kon onder andere vaststellen dat biggen gevoerd met een laag gehalte aan eiwitten gesupplementeerd met aureomycine aan dezelfde snelheid groeiden als biggen gevoerd met een hoog gehalte aan eiwitten. Tevens werd een verhoogde verteerbaarheid van het eiwit en een verhoogde retentie van stikstof vastgesteld bij biggen gevoerd met antibiotica in vergelijking met biggen zonder antibiotica. De stikstofretentie is

vooral in de eerste twee weken hoger in vergelijking met het controlevoeder. Een verhoogde absorptie van stikstof in de darm is ook een potentiële reden voor het groeibevorderend effect van antibiotica (Jonathan Paul Holt, 2008). Ook de invloed op vitaminen werd onderzocht, men kon onder andere vaststellen dat antibiotica resulteerde in een verhoogde synthese van sommige vitaminen (Jonathan Paul Holt, 2008). Knarreborg et al., (2004) konden onder andere vaststellen dat de absorptie en bloedplasma niveau van  $\alpha$  – tocopherol groter was in voeders met antibiotica. De retentie en absorptie van Ca, P, Mg, Cu, Zn en Mn steeg bij biggen gevoederd met virginiamycine (Jonathan Paul Holt, 2008). Agudelo et al., (2007) konden zelf een invloed vaststellen bij het afmesten van vleesvarkens. Zij besluiten dat het toevoegen van virginiamycine resulteerde in een hogere verteerbaarheid van fosfor.

### **3.4.3 Nutritionele effecten**

Een voorbeeld van nutritionele effecten van antibiotica op de groei is het vermogen dat bepaalde micro – organismen hebben om essentiële vitaminen en aminozuren te synthetiseren. Verschillende antibiotica verhogen de productie en absorptie van het vitamine B – complex, de opslag van vitamine A in de lever en zorgen voor een daling van het aantal vitamine D voorschriften (Jonathan Paul Holt, 2008). Een onderzoek wees uit dat terramycine zijn groeibevorderend effect kan uitoefenen door een verhoging van het aantal bacteriën om nutriënten te synthetiseren die in beperkte hoeveelheden aanwezig zijn (Jonathan Paul Holt, 2008). Het is bijvoorbeeld aangetoond dat tetracycline het aantal bacteriën doet afnemen, waardoor er meer aminozuren overblijven die beschikbaar zijn voor het dier (Cromwell, 2001). Kiemvrije dieren die worden gevoederd met antibiotica hebben een dunnere darmwand in vergelijking met biggen die niet worden gevoederd met antibiotica, dit is een andere belangrijk aspect van het nutritioneel effect.

### **3.4.4 Ziekte beperkende effecten**

De meest aanvaardbare theorie over het groeibevorderend effect van antibiotica is omdat het resulteert in een lagere ziektedruk. Het is hierbij belangrijk om te weten dat antibiotica efficiënter is in vuile omgevingen in dan in propere omgevingen. Jonathan Paul Holt, 2008 kon uit zijn onderzoek besluiten dat groeibevorderende effecten van antibiotica hoger zijn bij biggen met een goed immuunsysteem. Bacteriën die de dunne darm bewonen kunnen de groei remmen, zelf al zijn het niet – pathogene bacteriën. Vooral de gram – positieve bacteriën die aanwezig zijn in de dunne darm, zijn verantwoordelijk voor een groeidepressie (Gaskins et al., 2002). Veel van de groeibevorderende antibiotica werken dan ook in op de gram – positieve bacteriën waardoor de groei van de dieren wordt bevordert (Jonathan Paul Holt, 2008). Men kon geen verschil vaststellen over welke bacteriën aanwezig zijn bij dieren gevoederd met en zonder antibiotica, wel merkte men een vermindering van het aantal bacteriën op (Jonathan Paul Holt, 2008). Gaskins et al., (2002) concludeerden dat een antibiotica behandeling resulteerde in een meer homogene samenstelling van bacteriën in het maagdarmkanaal.

## 3.5. Risico's

### 3.5.1 Antibiotica resistentie

Bacteriën kunnen op twee manieren resistent zijn tegen antibiotica. Sommige bacteriën hebben een natuurlijke resistentie ingebouwd tegen bepaalde antibiotica, dit wordt intrinsieke resistentie genoemd (Klare et al., 2003). Intrinsieke resistentie is geen gevolg van antibioticagebruik. Enterococci hebben een brede resistentie tegen antibiotica, waaronder: penicilline, aminosiden, streptogramines, tetracyclines en quinolones (Klare et al., 2003). Dit zijn allemaal onderverdelingen van de soorten antibiotica. Onder de penicilline antibiotica valt bijvoorbeeld amoxicilline die in de proefopzet werd gebruikt. De aminosiden hebben als onderverdeling apramycine waaronder apralan valt, wat tevens werd gebruikt in de proef. Het laatste antibiotica dat vaak in de proefopzet werd gebruikt is doxycycline wat onder de groep van de tetracyclines valt. Gram negatieve bacteriën zoals *E.coli*, zijn intrinsiek resistent tegen glycopeptides, omdat hun buitenste membraan ondoordringbaar is voor de grote moleculen (Jonathan Paul Holt, 2008).

Daarnaast bestaat er ook verworven resistentie (Catry et al., 2003). Hiervoor zijn er twee mogelijke pathways. De primaire pathway is een mutatie, dit is een spontane wijziging in het genoom. Deze vorm van verworven resistentie komt echter niet veel voor. Mutaties kunnen voortdurend en ongeacht de aanwezigheid van antibiotica voorkomen. Overdracht van mutaties vindt plaats tijdens de vermenigvuldiging (verticale overdracht). De secundaire pathway kan op drie manieren verlopen: conjugatie, transformatie of transductie. Deze staan bekend als het horizontaal gentransport (Jonathan Paul Holt, 2008). Dit horizontaal gentransport vormt het grootste risico voor de humane gezondheid. Transductie gebeurt wanneer DNA wordt getransfereerd tussen twee nauw verwante bacteriën, terwijl transformatie een proces is waarbij vrij DNA uit de omgeving in de bacterie komt (Newman & Scheuren-Portocarrero, 2005). Catry et al., (2003) meldden dat het voorkomen van transductie zeldzaam is maar dat het voorkomen van transformatie onderschat wordt. Het maag – darmkanaal van dieren is een primair reservoir van zoönotische bacteriën en biedt een uitzonderlijk goede omgeving voor de uitwisseling van genetische informatie (Newman & Scheuren – Portocarrero, 2005). Het belangrijkste mechanisme voor horizontaal gentransport is conjugatie, die de verspreiding van genetische mobiele elementen zoals plasmiden met zich meebrengt (Catry et al., 2003). Uit een onderzoek is duidelijk geworden dat tetracyclines de frequentie van conjugatie kunnen verhogen (Jonathan Paul Holt, 2008). Er wordt geschat dat ongeveer 8,5 % van het falen van de behandeling in stafylokokken, enterobacteriën en enterococci kan worden toegeschreven aan resistentie door conjugatie (Catry et al., 2003).

Resistente genen komen vooral voor op plasmiden. Plasmiden zijn kleine DNA ringen die de bacteriën helpen te overleven onder niet ideale omstandigheden. Plasmiden overdracht kan voorkomen tussen pathogene bacteriën van verschillende origine (vis en dier) en de mens (Newman & Scheuren – Portocarrero, 2005). Er is vastgesteld dat het toedienen van lichte concentraties tetracycline of oxytetracycline aan resistente *E.coli* stammen resulteerde in een

duidelijke reductie van actief transport van tetracycline in de bacteriële cel (Jonathan Paul Holt, 2008).

Wanneer een resistent gen zich heeft gevestigd, gebruiken bacteriën verschillende mechanismen om resistent te zijn tegen een antibiotica. Resistentie mechanismen zijn gerelateerd aan de aanval van de antibiotica op de bacterie, maar bacteriën kunnen meerdere resistentie mechanismen aannemen (Catry et al., 2003). Het spectrum van de bacterie en de soort antibiotica spelen een belangrijke rol in de ontwikkeling van resistentiemechanismen (Hofmann et al., 2007).

Wanneer dan een antibioticum wordt toegediend wordt deze bacterie niet beïnvloedt en kan zich op deze manier blijven vermenigvuldigen. Ook kunnen deze genen onderling worden overgedragen zodat de resistentie zich kan verspreiden naar andere (soorten) bacteriën. Overmatig gebruik en dus misbruik van antibiotica zal eerst een nadelig effect hebben op het dier. Dieren die ziek worden als gevolg van resistente bacteriën, kunnen niet behandeld worden waardoor ze ziek blijven of sterven. Daarna is de landbouwer eerst vatbaar. De landbouwer kan door continue blootstelling aan het antibiotica resistente stammen dragen, wat dan op de familie kan worden overgedragen (Vandenbussche, 2004).

Het is belangrijk om te vermelden dat antibiotica natuurlijk wordt geproduceerd door vele organismen en dat antibiotica resistentie even goed kan optreden zonder het medicinaal gebruik van antibiotica (Matthew, 2003).

Bacteriën kunnen bijvoorbeeld resistent worden tegen aminoglycosiden, maar in sommige gevallen kan deze klasse van antibiotica leiden tot meer virulente organismen (Hoffman, 2007). Hoffman et al., (2007) hebben aangetoond dat concentraties aminoglycosiden die geen groeiremming veroorzaken resulteren in de groei van *E.coli* als een biofilm, deze groepen vertonen een hogere resistentie tegen veel antibiotica. Vele factoren naast antibiotica prevalentie kunnen leiden tot resistentie waaronder: stress van het dier, plasmiden aanleg en een nauwe link tussen resistente genen en andere genen (Khachatryan et al., 2006). Resistentie is zeer variabel tussen bacteriën en geografische gebieden. Terwijl sommige isolaten in een populatie resistent worden, blijven andere gevoelig (Jonathan Paul Holt, 2008). Daarnaast is uit praktijkproeven aangetoond dat het continu verschaffen van antibiotica aan lage doseringen de ontwikkeling van resistente bacteriën versnelt (McDermott et al., 2002). Tevens hebben verschillende studies aangetoond dat het blijvend effect van bacteriële resistentie sterk afhankelijk is van de duur van de blootstelling en het type antibiotica dat wordt gebruikt (Matthew, 2003). Indien resistentie aanwezig is, is het moeilijk om deze volledig te verwijderen (Jonathan Paul Holt, 2008). Cromwell (2001) kon vaststellen dat na het verwijderen van antibiotica bij een groep biggen, tetracycline – resistente coliformen 13 jaar later nog aanwezig waren. Hij besloot dat in de antibiotica vrije groep 30 % van de fecale coliformen tetracycline resistent waren, terwijl dat bij de groep die antibiotica had gekregen liefst 90 % was. Een mogelijke verklaring kan zijn omdat groeibevorderende antibiotica de verworven resistentie verhogen.

Een belangrijk aspect van resistentie mechanismen is het voorkomen van kruisresistentie. Dit is het resistent worden van een bacteriestam voor een antibioticum, verwant aan een



antibioticum waarmee een bacteriestam wordt behandeld (Catry et al., 2003). Men heeft verklaard dat antibiotica resistente bacteriën gunstig kunnen zijn voor het groeibevorderend effect van antibiotica, omdat deze resistente bacteriën levensvatbaar blijven in de darm en daar essentiële vitamines synthetiseren of andere effecten hebben (Jonathan Paul Holt, 2008).

Matthew (2003) concludeerde dat ook de leeftijd een rol van betekenis speelt. Hij concludeerde dat gespeende biggen een verhoogde prevalentie hebben van resistente bacteriën, zelfs wanneer geen antibiotica wordt toegevoegd. Ook huisvesting zou een rol spelen, men stelde vast dat drachtige zeugen gehuisvest op de weide een lagere percentage resistente bacteriën had in vergelijking met zeugen die werden gehuisvest op stal (Jonathan Paul Holt, 2008).

Twee zorgen rond de bijdrage van het gebruik van antibiotica in de varkenssector op de menselijke gezondheid zijn: kunnen resistente bacteriën uit de varkenssector rechtstreeks of onrechtstreeks overgedragen worden op de mens en zorgt antibioticagebruik in de varkenssector voor een verhoogde resistentie in pathogene bacteriën zoals *Salmonella* en *Campylobacter* (Jonathan Paul Holt, 2008). Deze vragen zijn niet nieuw, en er is reeds heel wat onderzoek op uitgevoerd. Er is aangetoond dat apramycine – resistente *E.coli* geïsoleerd uit biggen en de landbouwer identieke plasmiden bevatten (Jonathan Paul Holt, 2008). Andere studies hebben dan weer bewezen dat *E.coli* geïsoleerd van mensen apramycine resistent waren, alhoewel apramycine nooit werd gebruikt in de behandeling (Matthew, 2003). Gebreyes et al., (2005) ontdekten uit hun onderzoek dat *Campylobacter* isolaten van de antibiotica vrije groep resistent waren voor ciprofloxacin, terwijl dieren dit antibioticum nooit hadden gekregen. Van Rijen et al., hebben uit een onderzoek in 2008 vastgesteld dat MRSA bij personen werd vastgesteld die frequent waren blootgesteld aan biggen of kalveren met MRSA. De Neeling et al., (2007) stelden vast dat 39 % van de geteste biggen MRSA dragen en dat de transmissie van MRSA is toegenomen door het mengen van varkens van verschillende origine in de slachthuizen.

Reeds uit een onderzoek in 1997 van Aarestrup et al., kon men vaststellen dat maar liefst 79 % van *Campylobacter coli* isolaten in de feces van varkens resistent waren tegen erythromycine. Dit kan worden toegeschreven aan het gebruik van tylosine, dat wordt gebruikt om de groei te bevorderen. Payot et al., (2004) rapporteerden dat *Campylobacter* geïsoleerd van varkens op slachtgewicht resistent zijn voor ampicilline, tetracycline en erythromycine, en dat 37 % van de isolaten resistent waren tegen verschillende antibiotica.

In april 2011 rapporteerden de ESFA en het Europees center voor ziektepreventie en controle (ECDC) de resultaten voor antibiotica resistentie in 2009 voor de Europese landen. De resistentie tegen de oudere antibiotica (tetracyclines, ampicillines en sulfonamiden) werd vastgesteld tussen de 12 % en 60 % in *Salmonella* uit vlees en dieren. Men toonde zich bezorgd over de hoge mate van resistentie tegen ciprofloxacin, een belangrijk modern fluoroquinolone voor menselijk gebruik, in *Salmonella*, *Campylobacter* en *E.coli*. Dit was tot 22 % in *Salmonella* uit kippen en kippenvlees, 47 % in *E.coli* en van 33 % tot 78 % in *Campylobacter* van kippen, kippenvlees en varkens. Er werd ook resistentie gevonden tegen

de derde generatie antibiotica, waaronder die van cefalosporinen (Turner, 2011). Volgens de EFSA waren er geen grote veranderingen in de resistentie sinds 2005.

### 3.5.1.1 Resistente *E.coli*

*E.coli* is het meest aanwezig in de fecale flora van de meeste dieren en heeft de mogelijkheid om genen over te dragen naar andere bacteriën (Anderson et al., 2003). Fluoroquinolones worden intensief gebruikt in de menselijke geneeskunde en gebruik van deze antibiotica in de landbouw doet de resistentie verhogen (Bach Knudsen, 2001). Bunner et al., (2007) testten 1.381 *E.coli* isolaten van antibiotica vrije varkensbedrijven en vonden geen resistentie tegen quinolones. Matthew et al., (2003) hebben aangetoond dat gespeende biggen blootgesteld aan antibiotica een verhoogde prevalentie hebben voor resistente *E.coli* in vergelijking met biggen die geen antibiotica kregen. Tevens kon men vaststellen dat het percentage resistente *E.coli* groter was op varkensbedrijven met een hoog gebruik van antibiotica in vergelijking met een laag gebruik. De grootste verschillen in resistentie treden op tussen dag 35 en dag 63. Op bedrijven met een hoog gebruik aan antibiotica was het aantal gevallen van *E.coli* resistentie voor apramycine, carbadox en gentamicine het grootst op dag 35, terwijl resistentie voor neomycine en oxytetracycline het hoogst was op dag 63 (Jonathan Paul Holt, 2008). Bunner et al., (2007) stelde vast dat de resistentie voor twee of meer antibiotica groter was op conventionele bedrijven in vergelijking met antibiotica vrije bedrijven. Op dag zeven was het percentage apramycine resistente *E.coli* groter voor biggen dan voor zeugen, terwijl resistentie voor carbadox en neomycine groter was bij zeugen (Jonathan Paul Holt, 2008). Yang et al., (2004) concludeerden dat *E.coli* isolaten van varkenmest ten minste resistent zijn voor 8 antibiotica, 86 % was resistent voor 11 antibiotica en 2 % was resistent voor 16 antibiotica. De meeste resistentie komt voor tegen tetracycline, sulfamethoxazole, ampiciline en streptomycine. Tetracycline wordt gebruikt als ziektebestrijding maar tevens ook als groeibevorderaar. Bunner et al., (2007) bekeken de resistentie voor tetracycline van conventionele bedrijven in vergelijking met antibiotica vrije bedrijven en concludeerden dat 71,3 % van de isolaten van de antibiotica vrije bedrijven en 90,9 % van de isolaten van conventionele bedrijven resistent waren voor tetracycline. Verder heeft men ook kunnen vaststellen dat resistentie voor chloortetracycline 22 % was voor biggen die acht jaar lang niet werden blootgesteld aan antibiotica, terwijl dit 48 % was voor biggen die routinematig antibiotica kregen toegediend (Jonathan Paul Holt, 2008). Het geven van een therapeutische dosis chloortetracycline aan biggen gedurende 14 dagen doet de antibiotica resistentie meer toenemen dan 85 dagen een subtherapeutische dosis (Jonathan Paul Holt, 2008).

Het verbod op het gebruik van tetracyclines als groeibevorderaars doet de hoeveelheid tetracycline resistente *E.coli* niet spectaculair dalen. Dit omdat resistentie niet zomaar ongedaan kan worden gemaakt door wachttijden (Jonathan Paul Holt, 2008).

Ook omgevingsfactoren hebben een invloed op de uitscheiding van resistente *E.coli*. Matthew et al., (2003) vonden dat diverse milieufactoren zoals koudestress, hittestress, overbevolking, vermenging en slechte hygiëne de hoeveelheid apramycine resistente *E.coli*

stammen doet toenemen. Moro et al., (2000) stelden vast dat bij niet gestresseerde varkens het percentage van ampicilline resistente *E.coli* groter was in het ileum (37 %) in vergelijking met het caecum (20 %), colon (9 %) en rectum (4 %), terwijl bij gestresseerde varkens de ampicilline resistentie hoger was in het colon en rectum. Dit doet vermoeden dat stressoren de maag motiliteit beïnvloeden en de meer resistente organismen naar de lagere delen van het maagdarmkanaal worden geduwd bij varkens onder stress.

### 3.5.1.2 Resistente Enterococcen

Deze groep bacteriën vormt weinig risico voor gezonde dieren, echter voor dieren met een zwak immuunsysteem kunnen ze levensbedreigende infecties veroorzaken (Cox, 2005). Vancomycine is een typisch antibiotica dat wordt gebruikt om *Enterococcus* infecties te behandelen, alhoewel sommige stammen reeds resistent zijn tegen vancomycine (Cox, 2005).

Vancomycine resistente enterococcen zijn bijzonder moeilijk te behandelen vanwege hun intrinsieke weerstand tegen gemeenschappelijke antibiotica en hun vermogen om resistent te worden door mutatie en overdracht van plasmiden (Jonathan Paul Holt, 2008). Antibiotica zoals linezolid, daptomycine en quinupristine – dalfopristine (streptogramines) worden gebruikt om vancomycine resistente infecties bij mensen te behandelen (Cox, 2005).

Delsol et al., (2005) concludeerden dat twee weken na het verwijderen van avilamycine uit het voeder er geen resistentie meer waar te nemen was bij enterococcen. In hetzelfde onderzoek stelde men ook vast dat avilamycine resistente enterococcen ook resistentie vertonen voor tetracycline, ampicilline, bacitracine, vancomycine en gentamicine.

Jackson et al., (2004) verzamelden isolaten van enterococcen van verschillende landbouwbedrijven en vonden dat 59 % van de isolaten afkomstig van bedrijven die tylosine als groeibevorderaar gebruiken resistent waren voor erythromycine, terwijl slechts 28,5 % van de isolaten van landbouwbedrijven die tylosine als ziektebestrijding gebruikt resistent waren voor erythromycine en dat 2,4 % van de isolaten van landbouwbedrijven die geen tylosine gebruiken resistent waren voor erythromycine. Als antibiotica werd in deze proef tylosine gebruikt. Door het gebruik van tylosine werd 72,7 % van de enterococcen resistent, terwijl dit zonder tylosine 6,3 % was. Wat betreft sulfamethazine werd 76 % resistent, zonder gebruik was dit 51,8 %. Door het gebruik van erythromicine was 69,3 % van de bacteriën resistent, zonder gebruik was dit slechts 9,4 %. Ook neomycine werd onderzocht, bij gebruik was de resistentie 3,6 %, terwijl dit zonder gebruik 0,6 % was.

Manero et al., (2006) deden onderzoek naar vancomycine en erythromycine resistente enterococcen. Men verzamelde 285 stalen, deze stalen waren afkomstig uit varkensdrijfmest, biggenvoeder, bodembemesting met varkensdrijfmest, bodem zonder bemesting van varkensdrijfmest en uit afvalwater. De hoogste concentraties voor enterococcen werden teruggevonden in varkensdrijfmest en het afvalwater. Bij 20 mg/l vancomycine was 100 % resistent in het afvalwater en 34 % in de drijfmest.

Jackson et al., (2004) vergeleken erythromycine resistente enterococcen van een bedrijf waar geen tylosine werd gebruikt in vergelijking met twee bedrijven waar wel tylosine werd

gebruikt. In totaal was 31,4 % resistent voor erythromycine. Daarvan was 59 % van de isolaten van bedrijf A, waar tylosine werd gebruikt als groei bevorderaar, resistent voor erythromycine terwijl 28,5 % van de isolaten van bedrijf B, waar tylosine werd gebruikt om ziekte te bestrijden, resistent voor erythromycine. Op bedrijf C, waar geen tylosine werd gebruikt, was 2,4 % van de isolaten resistent voor erythromycine. In Europa is de erythromycine resistentie toegenomen van 14 tot 82 % voor *E.faecium* en van 86 tot 94 % voor *E.faecalis*. Na het verbod op het gebruik van tylosine werd bijvoorbeeld in Denemarken een daling vastgesteld tot 46,7 % voor *E.faecium* en tot 28,1 % voor *E.faecalis*.

### 3.5.2 Residuen

Niet alleen het risico op resistentie is een reden waarom de consument het gebruik van antibiotica in vraag stelt. Tevens is er door het gebruik van antibiotica een kans op residuen in het eindproduct bestemd voor de consument.

## 3.6. Invloed van de omgeving op het gebruik van antibiotica

De opslag van mest op een varkensbedrijf duurt meestal enkele maanden. De opslag van mest kan ervoor zorgen dat de bacteriële populatie wijzigt en wordt vrijgegeven in de omgeving (Duriez & Topp, 2007). De mestopslag, het verspreiden van mest en de verdere verontreiniging van het grondwater zijn aangetoond als redenen voor de verspreiding van antibiotica resistente bacteriën in het milieu (McEwan & Fedorka – Cray, 2004). Het bewaren van mest gedurende bepaalde perioden kan de samenstelling van bacteriën die later in het milieu komen aanzienlijk wijzigen (Duriez & Topp, 2007). In de mest werden 150 verschillende genotypen waargenomen. 34 % daarvan werd zowel vastgesteld in de opgeslagen en verse mest, 16 % werd enkel in de verse mest opgemerkt en 50 % in de opgeslagen mest (Duriez & Topp, 2007). Wanneer men de individuele isolaten beschouwd, ziet men dat de genotypen die zowel in de verse als opgeslagen mest 84 %, de genotypen uniek voor de verse mest 4 % en de genotypen uniek voor de opgeslagen mest 12 % van de totale *E.coli* collectie omvatten. Meer dan de helft (59,8 %) van de isolaten vertonen 11 dominante genotypen, terwijl 54 genotypen werden gedecteerd in één isolaat en 36 bij twee isolaten. De verdeling van de genotypen tussen de twee proeven (verse mest en opgeslagen mest) toont aan dat er geen significant verschil was tussen de structuur van de twee proeven (Duriez & Topp, 2007).

In een 6 maand durende studie van Duriez & Topp (2007) werden geen verschillen gevonden in de resistentie van *E.coli* geïsoleerd uit verse varkensdrijfmest of opgeslagen varkensdrijfmest. De resistentie was het hoogst voor tetracycline dit zowel voor verse mest als opgeslagen mest met respectievelijk 99 % en 84 %. Daarnaast was er ook een hoge resistentie voor ampicilline, respectievelijk 73 % en 78 %. Ook sulfamethoxazool had een hoge resistentie met respectievelijk 69 % en 52 %. Wat betreft cephalotine werd een lager resistentie vastgesteld, namelijk 3 % en 4 %. De laagste resistentie werd vastgesteld voor amikacine met respectievelijk 0 % en 0,2 %. Ondanks dat er geen verschillen werden

vastgesteld over een periode van 6 maanden kon men wel besluiten dat de resistentie per maand wel sterk varieerden. Het meest opvallend waren de resistenties voor ampicilline, streptomycine en chloramphenicol in de verse mest. De frequenties stegen van maart tot mei, dan waren zo goed als alle isolaten resistent voor dit antibiotica (Duriez & Topp, 2007). De resistentie nam sterk af in juni en daalde daarna verder in augustus. Er werden 180 fenotypen gevonden die een combinatie van resistentie vertoonden tegen maximaal 9 verschillende antibiotica. 47 % daarvan werden zowel in de verse mest als de opgeslagen mest teruggevonden. 12 % werd gevonden enkel in de verse mest en 42 % alleen in de opgeslagen mest. Zeer weinig isolaten waren resistent tegen geen of meer dan acht antibiotica (Duriez & Topp, 2007).

Het verspreiden van mest als meststof kan ook bijdragen aan het verspreiden van antibiotica in het milieu. De concentraties tetracyclines in mest kunnen variëren van 5 – 24 mg/l (Clay et al., 2005). Zij vonden in hetzelfde onderzoek dat de hoge absorptie van tylosine in de bodem resulteerde in een lage uitspoeling. Kölz et al., (2005) hebben dit bevestigd. De mobiliteit van tylosine is groter dan van tetracyclines, maar minder dan sulfonamides.

Sapkota et al., (2007) vonden dat de concentraties enterococcon, *E.coli* en coliformen 4 tot 33 keer groter waren in oppervlaktewater gelegen op een dalende helling in vergelijking met een stijgende helling. Tevens werd een hoger percentage van resistentie voor tetracycline, erythromycine, virginiamycine en vancomycine gevonden in enterococcon geïsoleerd uit oppervlaktewater bij een dalende helling in vergelijking met een stijgende helling.

Een onderzoek van McKeon et al., (1995) op bacteriën in verontreinigd water toonde aan dat 90 % van de isolaten resistent waren voor ten minste 1 antibiotica en dat 78 % resistent waren voor meerdere antibiotica.

In 2003 deden Mathew et al., (2003) een onderzoek op apramycine. Apramycine werd voor het eerst in 1986 toegelaten in Amerika voor de behandeling en preventie van infecties bij het spenen van biggen. Resistentie voor deze antibiotica bij verschillende bacteriën werd in 1996 door Mortensen et al., (1996) voor het eerst aangetoond. Het blootstellen van dieren aan stressoren op een bedrijf vermindert niet alleen het immuunsysteem en de groei van de dieren, maar verbetert ook de selectie van resistentie organismen (Mathew et al., 2003). Koudestress en transport van dieren werd in verband gebracht met een toename van bacteriële resistentie tegen antibiotica. In dit onderzoek werd de resistentie verhoogt bij koudestress, bij verdringing en tussenkomst met een tweede antibiotica in vergelijking met varkens zonder stressfactoren. Deze studie toonde aan dat stress samen met het subtherapeutisch gebruik van antibiotica de persistentie van apramycine resistente *E.coli* verhoogt. De grotere resistentie bij koudestress bevestigd de tendens dat jongere biggen minder tolerant zijn voor koude temperaturen in vergelijking met oudere varkens (Mathew et al., 2003).

## 4. ZINK

### 4.1. Inleiding

Reeds in 1905 kwam de eerste aanleiding tot het gebruik van zink in de dierenwereld. Toen stelden Mendel en Bradley vast dat zink een bestanddeel was van het luchtwegenstelsel bij slakken (Nielsen, 2012). De eerste vaststelling dat zink bij hogere dieren een rol kan spelen is verschenen in een rapport van Birckner in 1919. Hij stelde vast uit het voorkomen van zink in de dooier van eieren en in moedermelk zink een belangrijke functie heeft. In 1934 heeft men aan de Universiteit van Wisconsin aangetoond dat zink essentieel is voor de groei en het welzijn van de rat. Dat een tekort aan zink een probleem was voor onder andere varkens werd pas aangetoond in 1955. Tucker en Zalm melden dat het toevoegen van zink parakeratose bij varkens kon voorkomen en genezen wanneer voeders werden gebruikt met weinig zink (Nielsen, 2012).

Zoals eerder vermeld is in de intensieve varkenshouderij in België het gebruik van antimicrobiële groeibevorderaars (ABM), vooral in de periode onmiddellijk na spenen hoog en reductie hiervan dringt zich op. Echter uit de praktijk blijkt duidelijk dat het verminderen of zelfs volledig wegnemen van deze behandelingen met ABM kort na spenen moeilijk haalbaar is zonder dat er snel klinische problemen optreden met gevolgen voor de gezondheid, productie en het welzijn (AMCRA, 2013).

Er wordt vaak gebruik gemaakt van zinkoxide. Zinkoxide is zeer slecht oplosbaar in water, maar vertoont een hogere oplosbaarheid in zure omstandigheden (Liedtke & Vahjen, 2012). Door de lage pH in de maag wordt de oplosbaarheid van Zinkoxide verhoogd en worden er vrij hoge percentages oplosbare  $Zn^{2+}$  ionen waargenomen. Dit bedroeg in deze proef 54 % bij 164 ppm ZnO/kg voeding. Als gevolg hiervan kunnen  $Zn^{2+}$  ionen de dunne darm bereiken en daar bacteriedodend werken (Liedtke en Vahjen, 2012). Naast zinkoxide kan zink ook onder andere vormen worden toegediend zoals zinkchloride, zink – methionine of zink sulfaat (Jonathan Paul Holt, 2008). Volgens Hill et al., (2001) zorgt de oxide vorm voor de beste resultaten.

### 4.2. Fysiologische zink behoeften

Zink is belangrijk in het metabolisme van varkens, en is dus een essentieel sporenelement voor groeiende varkens. Een tekort aan zink kan resulteren in een gereduceerde voederopname, parakeratose en een verminderde immuniteit (AMCRA, 2013). Adviezen over wat de minimale nutritionele behoeften van zink zijn variëren en zijn niet aangetoond. Het is uit proeven wel duidelijk geworden dat de behoefte aan zink daalt met een stijgend lichaamsgewicht van ongeveer 100 ppm naar 50 ppm. Door het gebrek aan documentatie worden vaak doseringen boven de 100 ppm toegediend om zeker te zijn (Bikker, 2012). Uit deze recente studie van Bikker (2012) bleek dat een toevoeging van 15 ppm (onder de vorm van zinksulfaat) aan een voeder waar al 33 ppm zink aanwezig is in de grondstoffen,

voldoende was om tekorten te voorkomen. Het toevoegen van 40 ppm zink bovenop het zink aanwezig in de grondstoffen was voldoende om het zinkniveau te maximaliseren (Bikker, 2012). Een veiligheidsmarge van 10 ppm zink extra in acht genomen komt men uit op een noodzakelijke zinkvoorziening van 80 ppm. De wettelijke maximale norm als voederadditief is vastgelegd op 150 ppm (AMCRA, 2013).

### 4.3. Wetgeving

In de wetgeving wordt een onderscheid gemaakt tussen zink als toevoegingsmiddel of zink als een gemedicineerd voormengsel. Bij zink als toevoegingsmiddel schrijft de wetgeving een maximale toegelaten dosis voor van 150 mg/kg volledig diervoeder. Voor zink onder de vorm van een gemedicineerd voormengsel werd begin september 2013 een vergunning gegeven. Dit voor het gebruik van gemedicineerde voormengsels op basis van zinkoxide in voeders voor biggen gedurende de eerste twee na weken na spenen. Voor drie gemedicineerde voormengsels (gutaal, zincochem en zinkosin) wordt een totaal gehalte van 2.500 mg zink/kg speenvoeder toegelaten. Voor het vierde gemedicineerde (zincoveto) is een totaal gehalte van 2.000 mg zink/kg speenvoeder toegelaten (BEMEFA, 2013).

### 4.4. Werking

Volgens Li et al., (2010) is de werking van zinkoxide ter preventie van diarree het resultaat van verschillende werkingsmechanismen, waaronder de wijziging van de intestinale microbiota en een verminderde vrijstelling van histamine door de dunne darm. Verder kan zink de kwaliteit van de intestinale mucosa verbeteren en op die manier het herstel van de schade, dat wordt veroorzaakt bij het spenen, versnellen. Volgens Doppenberg en van der Aar (2010) zou zink de productie van intestinale en pancreasenzymen doen toenemen. Daarnaast stelden Martin en al., (2012) geen verhoogde genexpressie vast, wat zou kunnen wijzen op een verhoogde productie van spijsverteringsenzymen.

Eerder hadden Roselli et al., in 2003 aangetoond dat zinkoxide de adhesie en invasie van *E.coli* afremt. Dit werd ook aangetoond bij in vivo studies met gespeende biggen waarbij een voeder met bepaalde concentraties zinkoxide de verplaatsing van (pathogene) bacteriën zoals *E.coli* en *Enterococcus spp.* in de dunne darm tegenhoudt (Zhang en Guo, 2009).

Zink is een essentieel element voor het overleven van bacteriën omdat vele enzymen zink ionen gebruiken als katalysator. Toch is het belangrijk om te weten dat zink toedienen aan hoge dosissen toxisch is voor kiemen. Wat de toxische dosis precies is, verschilt van kiem tot kiem. Over het antimicrobieel effect van zink zijn weinig gegevens beschikbaar. Daarom is het moeilijk om over verworven resistentie te spreken (AMCRA, 2013). Liedtke en Vahjen (2012) deden een onderzoek naar de in vitro gevoeligheid van een reeks referentiestammen tegenover zinkoxide en toonden aan dat de zinkgevoeligheid van de geteste bacteriespecies variabel is. Tevens besloot men dat er geen antibacterieel effect van zinkoxide kan verondersteld worden. Daartegenover toonden Tayel et al., (2011) een antibacteriële werking aan van zinkoxide ten opzichte van zowel gram – positieve (Bv *Staphylococcus aureus*) als

gram – negatieve (*Enterobacteriaceae*) bacteriën. Net zoals Liedtke en Vahjen (2012) konden ook Roselli et al., (2003) en Hardy et al. (2003) geen directe antibacteriële werking van zinkoxide aantonen. Hardy et al., (2003) konden wel een groeiremming aantonen na toevoeging van zinksulfaat. In een recente studie van Starke et al., (2012) werd een duidelijke reductie aangetoond van *Lactobacillus* spp., *Clostridia*, *Enterobacteriaceae* en *E.coli* na het toevoegen van 2425 ppm zink aan het voeder. De veranderingen ten opzichte van de controle waren het meest zichtbaar op een jonge leeftijd, kort na het spenen. De veranderingen namen verder af met stijgende leeftijd. Daaruit kan men vaststellen dat het antibacteriële effect van zinkoxide belangrijk is in de periode kort na het spenen en dat een hoge hoeveelheid zink moet worden gebruikt. Volgens Kim et al., (2012) kan de preventie van speendiarree niet worden toegeschreven aan de ETEC eliminatie maar door een verbeterde barrière – functie en de genezende werking van zinkoxide.

#### **4.5. Wisselwerking met micronutriënten en geneesmiddelen**

Toevoegen van hoge concentraties zink aan het voeder kan zorgen voor competitie met de absorptie van andere mineralen zoals Ca, P, Cu en Fe. Verlaagde opname van Fe kan leiden tot anemie (Sanström, 2001). Daarnaast kan volgens Lizardo (2004) een verhoogde hoeveelheid zink in het voeder leiden tot een verlaagde effectiviteit van fytase. Door complexvorming van zink met fytaat kan fytase het fosfor niet meer vrijmaken. Indien men echter een korte periode (tot maximum 14 dagen) verhoogde concentraties zink aan het voeder toevoegt, zou dit geen nadelig effect hebben, na drie tot vier weken overdosering kunnen wel problemen ontstaan. Een langdurig teveel aan zink in het voeder kan leiden tot vergiftigingsverschijnselen en tekorten aan andere mineralen (Mavromichalis, 2011). Mavromichalis (2011) toonde ook aan dat de opname van biggen daalde bij langdurige opname van hoge zinkhoeveelheden na het spenen. Volgens National Institutes of Health zou zink de werkzaamheid negatief beïnvloeden van onder andere quinolones en tetracyclines. Dit kan leiden tot een verminderde werking van deze antibiotica.

#### **4.6. Milieubelasting**

Volgens Willink (1995) zijn er van zink geen milieu – toxicologische effecten bekend. Zink wordt niet opgeslaan in het lichaam, enkel bij een zeer zware zinkbelasting kunnen de gehalten in lever, nier en bloed verhoogd zijn.

Er zijn vier scenario's gekend om de totale zinkuitscheiding van één vleesvarken gedurende zijn volledige levensduur te berekenen. In het eerste scenario wordt een toevoeging van 150 ppm zink gedaan voor de volledige levensduur. Dit betekent 150 ppm voor het speenvoeder (6 – 8 kg), groeivoeder (8 – 23 kg) en voeder voor de afmestfase (23 – 110 kg). Men gaat uit van 3 kg/big voor het speenvoeder, 27 kg/big voor het groeivoeder en 270 kg/varken voor het afmestvoeder. Tevens wordt er rekening gehouden met 2 % accumulatie zink door het varken (Dourmad & Jondreville, 2007). Zo bekomt men een totale uitscheiding van 44100 mg/varken. In het tweede scenario wordt uitgegaan van 2.500 ppm



zink in het speenvoeder, 150 ppm in het groeivoeder en 150 ppm in het afmestfasevoeder. Ook hier wordt gerekend met een accumulatie van 2 %. De totale uitscheiding bedraagt in dit scenario 51.009 mg/varken. Dit is een toename van 16 % ten opzichte van scenario 1. In het derde scenario wordt een reductie van 30 ppm tot 120 ppm in het afmestvoeder gegeven. De rest van de gegevens blijven dezelfde. In dit scenario komt men op een totale uitscheiding van 43.071 mg/varken. Dit is een reductie van 2 % ten opzichte van scenario 1. In het vierde en laatste scenario wordt in het afmestfasevoeder slechts 90 ppm Zink gegeven. Hier komt men uit op 35.133 mg/varken. Dit is een reductie van 20 % ten opzichte van scenario 1. Deze lagere hoeveelheid van 90 ppm in het afmestvoeder, wat nog steeds voldoende is om te voorzien in de minimale fysiologische behoeften aan zink, zal geen nadelige effecten hebben op de technische prestaties (zoals groei, voederconversie) en uitval.

#### **4.7. Effect van het gebruik van zinkoxide op resistentie – selectie**

Aarestrup en Hasman (2004) konden geen verworven resistentie aantonen tegenover zink. In dit onderzoek werd het voorkomen van zinkchloride resistentie nagegaan bij *Salmonella*, *E.coli*, *S.Aureus*, *E.faecalis* en *E.faecium*. Echter in een recent onderzoek van Aarestrup et al., (2010) kon men aantonen dat 74 % van de MRSA stammen resistent waren ten opzichte van zinkchloride (AMCRA, 2013). Uit een studie van Mohamed en Abo-Amer (2012) kon men concluderen dat er een mogelijkheid bestaat dat verworven resistentie kan optreden bij bacteriën.

#### **4.8. Mogelijke effecten**

Verschillende studies hebben de productieresultaten en de voordelen ten opzichte van diarree door het toevoegen van zinkoxide aangetoond (Pluske et al., 2007). In deze studies werd een positief effect vastgesteld op de stabiliteit en diversiteit van het microbieel leven, op de bacteriële functies en werd een reductie vastgesteld in de secretie van enterocyten (Kim et al., 2010). Andere onderzoeken waaronder die van Broom et al., (2006) konden geen voordelen aantonen door het toevoegen van zinkoxide.

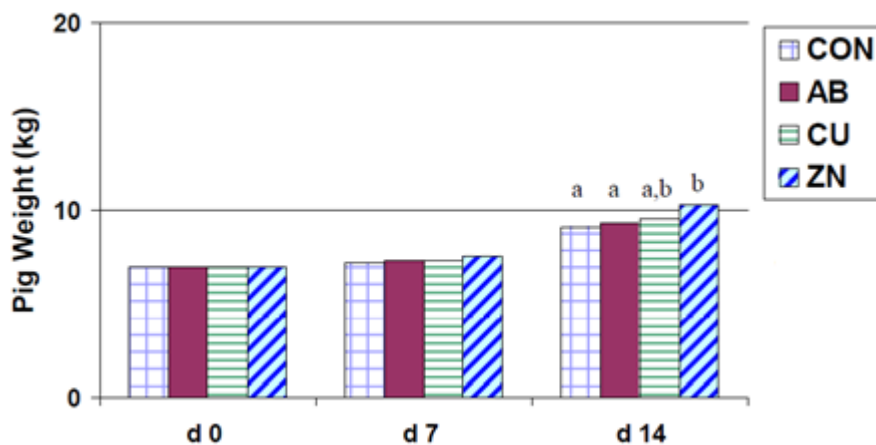
In een proef van Cromwell (2013) werd 2500 ppm zinkoxide toegevoegd in de eerste twee weken na spenen. Deze resultaten werden vergeleken met een controleproef waarin 150 ppm zinkoxide werd toegevoegd. Het toevoegen van 2500 ppm resulteerde in een dagelijkse gewichtstoename van 0,40 kg, terwijl dit bij de controleproef slechts 0,35 kg was. Ook de dagelijkse voederopname was hoger in vergelijking met de controle, deze waren respectievelijk 0,67 kg en 0,61 kg. De voederefficiëntie bedroeg bij de proef met 2500 ppm zink 1,66 terwijl dit bij de controle nog 1,74 was.

Onderzoek van Jonathan Paul Holt (2008) toonde aan dat zink de concurrentie met antibiotica zeker kan aangaan en soms zelf overtreffen. Men koos ervoor om 3.000 ppm zink aan de gespeende biggen te geven en dit gedurende twee weken. Hieruit kon men besluiten dat de dagelijkse gewichtstoename steeg. Deze was 0,04 kg/dag hoger in vergelijking met de controle en tevens 0,02 kg/dag hoger wanneer men dit vergeleek met de antibioticaproef.

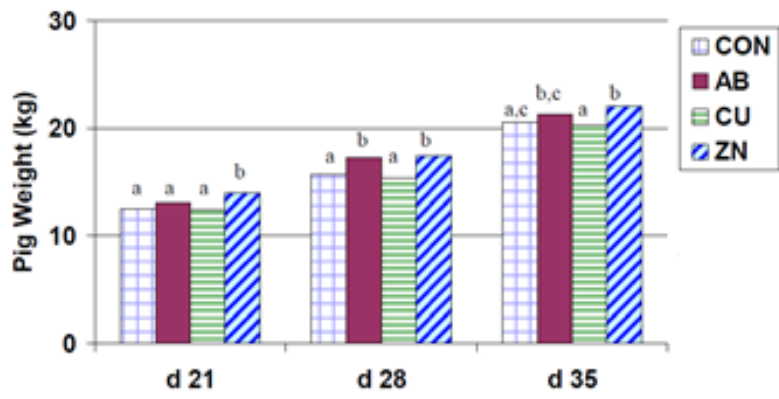
Ook de dagelijkse voederopname was hoger in vergelijking met de controleproef en met de antibioticaproef. Deze steeg met 0,06 kg/dag en 0,02 kg/dag, in vergelijking met respectievelijk de controleproef en de antibioticaproef. Uiteindelijk kon men vaststellen dat de voederefficiëntie wel hoger was in vergelijking met de controleproef en antibioticaproef. Deze steeg 0,06 en 0,02 eenheden in vergelijking met respectievelijk de controleproef en antibioticaproef. Tevens kon men zien dat zink resulteerde in een daling van  $2,449 \times 10^3$  coliformen tot  $1,303 \times 10^3$ . Het aantal coliformen was zelf lager in vergelijking met antibiotica, daar was het aantal coliformen  $2,624 \times 10^3$ . Daarnaast ziet men wel een toename van het aantal enterococconen ten opzichte van antibiotica.

Biggen gevoerd met 3.000 mg/kg zinkoxide hadden een grotere stijging in dagelijkse gewichtstoename en voederopname in vergelijking met biggen gevoerd met 3.000 mg/kg zinksulfaat of zink – methionine (Jonathan Paul Holt, 2008). In het onderzoek van Hill et al. (2001) leverde het voederen van 1.500 mg/kg zinkoxide dezelfde resultaten op als het voederen van een antibiotica (hier carbadox).

Jonathan Paul Holt (2008) onderzocht tevens de invloed van zink op het gewicht van de biggen (zie grafiek 22). Men ziet op deze grafiek dat de biggen na spenen starten op een gelijk gewicht. Na 7 dagen ziet men dat de biggen met zink een iets hoger gewicht halen dan koper en antibiotica die ongeveer een gelijk gewicht halen. Na 14 dagen ziet men duidelijkere verschillen. De groep met zink haalt het hoogste gewicht, gevolgd door koper en antibiotica. Op dag 21 ziet men dat de groep van antibiotica de groep van koper heeft ingehaald (grafiek 23). Wanneer men de gewichten bekijkt 5 weken na spenen ziet men dat zink de hoogste eindgewichten haalt, daarna komt antibiotica. De controle proef en de groep met koper halen ongeveer dezelfde eindgewichten.



Grafiek 22: Effect van AB, Cu en Zn op de het gewicht van biggen (Jonathan Paul Holt, 2008)



Grafiek 23: Effect van AB, Cu en Zn op het gewicht van biggen (Jonathan Paul Holt, 2008)

# **Hoofdstuk 2: Proefopzet**

## Lijst van de gebruikte afkortingen

G 1: biggewicht bij opzet van de proef in kg

G 2: biggewicht bij het wegen na fase 1 in kg

G 3: biggewicht bij het wegen na fase 2 in kg

G 4: biggewicht bij het wegen na fase 3, dus het eindgewicht in kg

GR 1: de gemiddelde dagelijkse gewichtstoename in g/dag in de eerste fase

GR 2: de gemiddelde dagelijkse gewichtstoename in g/dag in de tweede fase

GR 3: de gemiddelde dagelijkse gewichtstoename in g/dag in de derde fase

GR T: de gemiddelde dagelijkse gewichtstoename in g/dag over de volledige periode

VO 1: de gemiddelde dagelijkse voederopname in g/dag in de eerste fase

VO 2: de gemiddelde dagelijkse voederopname in g/dag in de tweede fase

VO 3: de gemiddelde dagelijkse voederopname in g/dag in de derde fase

VO T: de gemiddelde dagelijkse voederopname in g/dag over de volledige periode

VC 1: de gemiddelde voederconversie in de eerste fase

VC 2: de gemiddelde voederconversie in de tweede fase

VC 3: de gemiddelde voederconversie in de derde fase

VC T: de gemiddelde voederconversie over de volledige periode

# 1. MATERIAAL EN METHODEN

## 1.1. Inleiding

Doel van de proef was om na te gaan wat de mogelijke reductie is van antibioticagebruik door het gebruik van organische zuren. Het zuurmengsel dat werd gebruikt bestaat uit volgende zuren: mierenzuur, azijnzuur, citroenzuur, benzoëzuur en ammoniumformiaat. Verder bevat het mengsel volgende aanvullingen: lactulose, vitamine C, koper en zink. In welke verhoudingen deze zuren en aanvullingen aanwezig zijn in het mengsel mocht niet worden vrijgegeven.

Er werden twee proeven uitgevoerd waarvan op het einde een gemiddelde werd berekend. In de eerste proef werden de biggen apart bekeken, dit was dus een proef op bigniveau. De tweede proef werd uitgevoerd op hokniveau. Deze twee proeven worden eerst apart behandeld. Daarna neemt men een gemiddelde van de proef op bigniveau en voegt men dit samen met de resultaten van de tweede proef op hokniveau. In beide proeven werden er twee groepen gemaakt. De eerste groep kreeg een voeder met antibiotica en zuiver water, de tweede groep kreeg een voeder zonder antibiotica maar werd aangevuld met de gepaste hoeveelheid van het zuurmengsel. Indien nodig werd bij de tweede groep een hoeveelheid antibiotica toegediend.

Beide groepen biggen kregen een 3 – fase voeder toegediend in de batterijperiode. Het voeder voor beide groepen had dezelfde samenstelling, zodat deze invloedsfactor werd uitgeschakeld. De biggen werden handmatig gevoederd door het voeder af te tappen en te wegen voor gebruik in de droogvoederbakken. Na iedere fase werden in de eerste proef de biggen afzonderlijk gewogen. In de tweede proef werden de biggen op hokniveau gewogen. Het resterende voeder na iedere fase werd afgewogen, per groep wist men op die manier het voederverbruik waardoor het mogelijk was ook de voederconversie vast te stellen. Het antibioticaverbruik per groep werd ook nauwkeurig opgevolgd om de reductie in de zuurgroep te kunnen vaststellen. Als laatste werd ook de sterfte per groep opgenomen in de resultaten.

## 1.2. Huisvesting

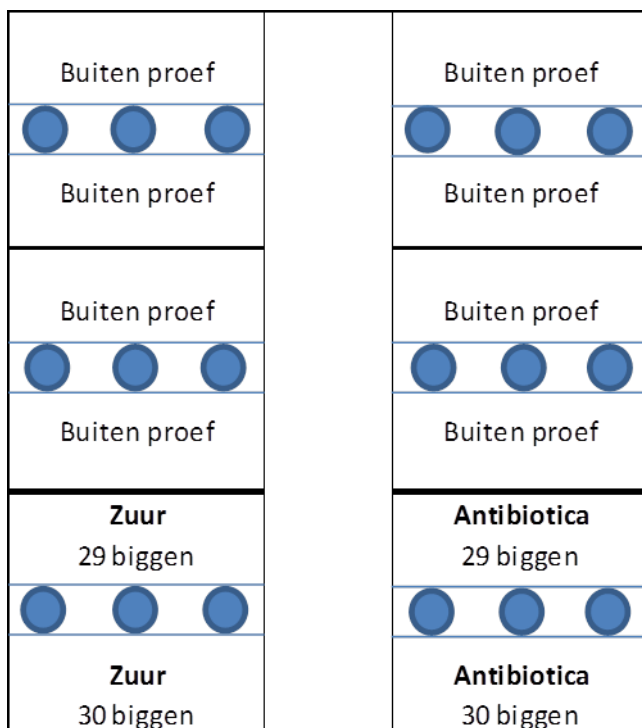
### 1.2.1 Algemeen

De proef werd uitgevoerd op het bedrijf van Wim Aelvoet, Izegemstraat 105, 9800 Deinze. Een compartiment in de batterijafdeling bestaat uit 6 hokken (3 aan beide zijden) met een breedte van 6,6 m en een diepte van 5 m. Ieder hok bestaat uit 2 delen, aan beide zijden van de voederbakken. Per hok zijn er 3 voederbakken voorzien. De hokken zijn uitgerust met kunststofroosters. Voor de dieren was er onbeperkt water en voeder ter beschikking.

Het compartiment wordt verwarmd via centrale verwarming met deltabuizen. In het begin van de batterijperiode wordt een temperatuur aangehouden van 29 °C, om dan geleidelijk af te bouwen tot 25 °C op het einde van de batterijperiode (ongeveer 6 weken na spenen). De ventilatie gebeurt via plafondventilatie met rotswol. De lucht komt via een oversteek in de

nok binnen en wordt zo door de rotswol getrokken. De aanzuiging gebeurt door een ventilator die zich in het midden van de gang bevindt en een diameter heeft van 60 cm. Voor beide proeven was er dus één groep die alleen water kreeg en een andere groep die water kreeg dat werd aangevuld met zuur. Bij de groep waar het water werd aangevuld met zuur werd ervoor gekozen om de hoofdleiding in het compartiment te onderbreken. Zo werd het mogelijk de ene zijde van het compartiment van water te voorzien en de andere zijde met water + zuur. In de tweede proef (die over het volledige compartiment werd uitgevoerd) werd tevens een debietmeter geplaatst om zo het waterverbruik voor de groep met enkel water op te meten. Voor de groep met zuur werd het verbruik via een debietmeter bij het vat met zuur opgemeten.

### 1.2.2 Proef 1



**Figuur 5: Grondplan proef 1**

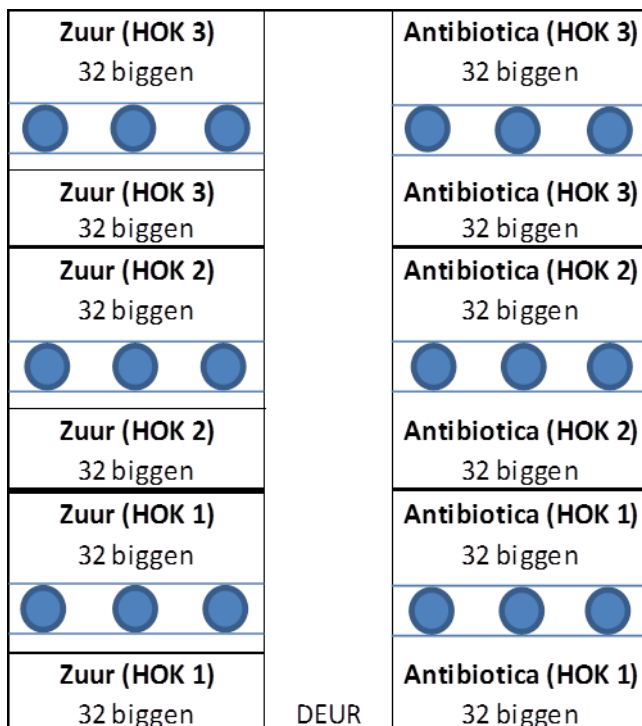
De eerste proef werd zoals eerder vermeld niet over het volledige compartiment uitgevoerd. Enkel hok 1 aan beide zijden van het compartiment werd als proef gebruikt.

De eerste proef werd uitgevoerd met 118 biggen. Deze werden opgesplitst in twee groepen van 59 biggen, die nog eens werden opgedeeld in twee groepen die aan beide zijden van de voederbakken gehuisvest werden. De biggen werden allen op een leeftijd van 28 dagen gespeend. De speengewichten (= begingewichten) waren voor beide groepen zo goed als dezelfde, voor de groep met antibiotica was dit 6,74 kg en voor de groep met zuur 6,77 kg. Alle 118 biggen werden bij het spenen afzonderlijk gewogen en gelijk verdeeld over de zuurgroep en de antibioticagroep. Daarna werden de biggen voor een periode van 55 dagen opgevolgd. De biggen kregen 14 dagen een fase één voeder, 18 dagen een fase twee voeder en tenslotte 23 dagen een fase drie voeder. Na iedere fase werden de biggen

afzonderlijk gewogen. Zo bekomt men in totaal 4 gewichten per big. Op die manier kon men de groei bepalen de eerste 14 dagen na spenen om zo het starteffect op te meten. Ook de groei tijdens de tweede en derde fase kon worden vastgesteld. Uiteindelijk kon men ook de groei over de volledige batterijperiode vaststellen.

Bij iedere weegbeurt werd tevens het voederverbruik vastgesteld. Voor het wegen werden alle voederbakken leeggemaakt en afgewogen, dit werd afgetrokken van het totale gewicht voeder dat reeds werd gebruikt. Op die manier bekwam men de voederopname per fase per hok, waardoor men ook de voederconversie kon berekenen. De voederconversie (dit is de hoeveelheid voederopname per kg lichaamsaanzet) werd na iedere fase vastgesteld.

### 1.2.3 Proef 2



**Figuur 6: Grondplan proef 2**

De tweede proef werd uitgevoerd met 384 biggen. Dit betekent 192 biggen voor de zuurgroep en antibioticagroep. Deze 192 biggen werden verdeeld over 3 hokken. Op die manier kreeg men 64 biggen per hok, die nog eens werden onderverdeeld in 2 x 32 biggen voor zowel de zuurgroep als antibioticagroep. Er werd zoveel mogelijk geprobeerd om de tegenoverstaande hokken met dezelfde speengewichten te laten starten (op die manier kreeg men hier dus 3 onderverdelingen). In hok één noteerde men volgende begingewichten 6,65 kg en 6,67 kg voor respectievelijk de zuurgroep en antibioticagroep. In hok twee was dit respectievelijk 6,75 kg en 6,60 kg. In hok drie werden de lichtere biggen gehuisvest met respectievelijk 5,46 kg en 5,30 kg. De gewichtstoename en de voederopname werden allemaal uitgedrukt op hokniveau. In deze proef werd het waterverbruik bepaald met als doel het effect op waterverbruik na te gaan door aanzuren van het water. Hiervoor werden twee debietmeters gebruikt. Ook deze biggen kregen een 3 – fase voeder. De biggen kregen

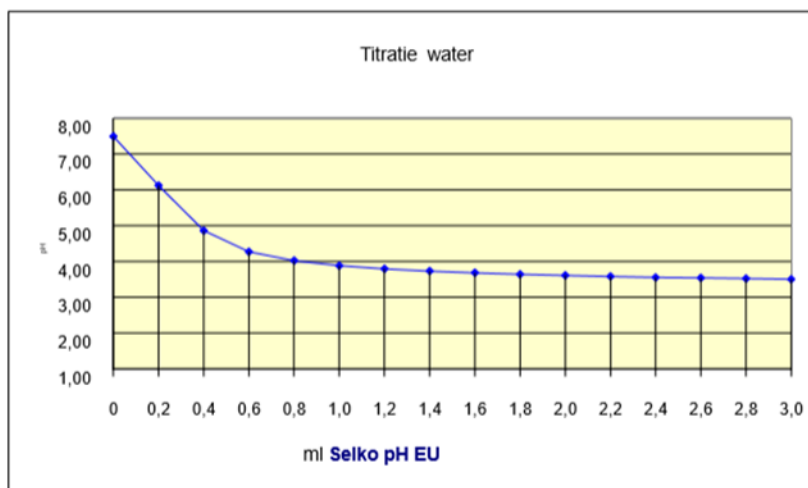


14 dagen het fase één voeder, 16 dagen het fase twee voeder en 23 dagen het fase drie voeder. De overige waarnemingen verlopen analoog met de eerste proef die werd uitgevoerd.

### 1.3. Voeder en water

De eerste twee fasen van het voeder werden geleverd door Bi-Feed. Het derde fase voeder werd geleverd door AVEVE. Deze voeders werden allemaal geleverd zonder enige aanwezigheid van antibiotica. De voeders werden in de silo geblazen, afgetapt en gewogen vooraleer het werd gevoederd aan de dieren. De antibiotica werd toegevoegd via een molen die zich in de voederleiding bevindt. Bij de zuurgroep werd standaard geen antibiotica toegevoegd. Het eerste fase voeder bevatte voor beide proeven 2.500 ppm zink.

Het zuurmengsel voor de ene groep werd via een pomp in de waterleiding gebracht. Om de juiste concentratie te bepalen van het zuurmengsel dat in de proef nodig was werd eerst een analyse gedaan van het bronwater (zie grafiek 24). Zonder toevoeging van het zuurmengsel was de pH 7,49. Voor een goede werking van het mengsel word gestreefd naar een pH – waarde van het water van 3,8 - 4. Daarom werd in de proef een concentratie van 1,2 ml Selko pH gebruikt.



Grafiek 24: Titratiecurve Selko pH

Tabel 18: Analyse van het water

Monsteromschrijving			pH-waarde	Gisten	Schimmels	Enterobacteria
Type monster	Omschrijving	Zuur-gebruik				
Water	Bron	Nee	7,49	< 100	< 100	< 100
Water	Met zuur biggen	Ja	3,83	> 100.000	< 100	< 100
Water	Zonder zuur biggen	Nee	7,38	1.000	< 100	1.000
	Norm Water			<5000	<100	<100

In tabel 18 ziet men een analyse van het water. Er werden drie stalen genomen: één aan de bron, één aan de nippel bij de zuurgroep en één aan de nippel bij de antibioticagroep. Hieruit kan men zien dat de pH – waarde van de bron met 7,49 aan de hoge kant is, maar voor het overige wat betreft het aantal gisten, schimmels en enterobacteriën een goede kwaliteit heeft. Het water van de zuurgroep heeft een pH van 3,83 wat wijst op een juiste dosering van het zuurmengsel. Er werd wel een te hoge hoeveelheid van gisten vastgesteld, dit zullen waarschijnlijk de zuurminnende gisten zijn. Bij de antibioticagroep was de pH aan de nippel 7,38. Er werd een teveel aan enterobacteriën vastgesteld, dit wijst op een verontreinigde leiding.

## **2. ZOÖTECHNISCHE RESULTATEN**

### **2.1. Proef 1**

In de eerste proef werd het gewicht van elke big apart opgemeten (zie bijlagen 1 en 2). Het begingewicht, de gewichten na fase één, fase twee en fase drie werd statistisch bekeken. Ook de dagelijkse gewichtstoename kon statistisch worden verwerkt. De voederopname kon niet individueel, maar enkel op hokniveau worden opgemeten. De voederopname kon daarom niet statistisch worden verwerkt. Aangezien men voor de voederconversie ook slechts één waarde heeft per groep was een statistische verwerking ook hier niet mogelijk. Voor de voederconversie werd gerekend met de kleinste kwadratenmethode van de dagelijkse gewichtstoename. Bij de zuurgroep is één big gestorven op 22 oktober (bij de overgang van fase 1 naar fase 2) ten gevolge van Hemolytische coli. Deze big werd voor de statistische verwerking vanaf de tweede fase uit de proef gelaten.

Vier dagen voor het einde van de tweede fase, dus na 28 dagen heeft men besloten om gelijktijdig de behandeling met zuur en antibiotica stop te zetten. Vanaf dit moment was er tussen beide groepen geen verschil meer.

Men heeft er tevens voor gekozen om bij de antibioticagroep de groei tussen de zeugjes en de baren statistisch te vergelijken. Deze worden verder hieronder weergegeven. Daarnaast werd ook de invloed van het begingewicht op de groei nagegaan.

Via de statistische verwerking kon men besluiten dat de gegevens van groei en begingewicht niet allemaal normaal verdeeld zijn. De gewichten na de tweede fase, de gewichtstoename in de eerste fase, de gewichtstoename in de tweede fase en de gewichtstoename in de derde fase zijn niet normaal verdeeld (zie bijlage 14). Voor de gegevens die normaal verdeeld zijn werden de gemiddelden voor groei en begingewicht van beide groepen vergeleken via een independent samples t – test. Voor de gegevens die niet normaal waren verdeeld werd een Wilcoxon Signed Rank Test uitgevoerd. Bij de gecorrigeerde resultaten werd de factor begingewicht uitgeschakeld, zodat deze resultaten de invloed teruggeven van de behandeling zuur of antibiotica. Voor het bekomen van de gecorrigeerde resultaten werd GLM toegepast.

## 2.1.1 Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename

Tabel 19: Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 1

	Zuurgroep	ABgroep	p - waarde
<b>g 1</b>	6,769 ± 0,632	6,738 ± 0,614	0,7852
<b>g 2</b>	8,087 ± 0,943	8,298 ± 0,971	0,2337
<b>g 3</b>	14,637 ± 1,756	15,294 ± 1,783	0,047
<b>g 4</b>	28,345 ± 3,337	27,186 ± 2,883	0,0467
<b>gr 1</b>	94,128 ± 52,207	111,441 ± 40,649	0,0468
<b>gr 2</b>	363,554 ± 72,861	388,653 ± 60,336	0,0446
<b>gr 3</b>	595,990 ± 115,432	517,060 ± 69,625	0,0001
<b>gr T</b>	392,132 ± 57,577	371,787 ± 48,414	0,0407

## 2.1.2 Kleinste kwadratenmethode dagelijkse gewichtstoename

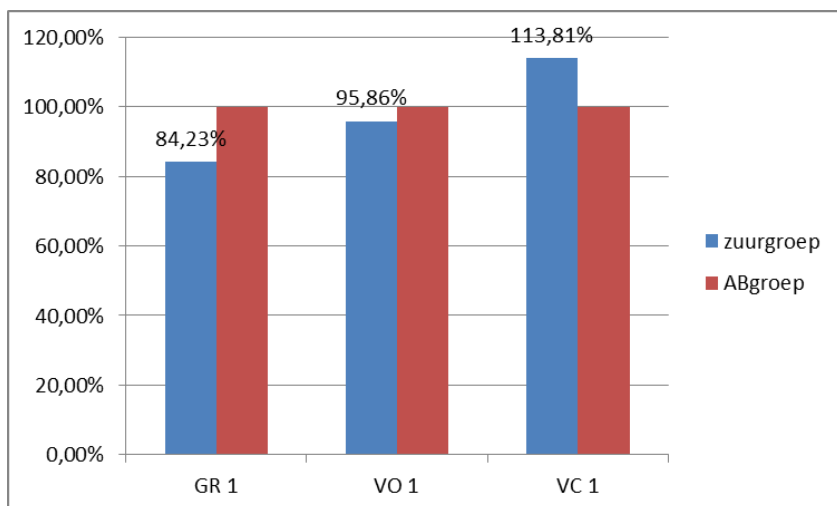
Tabel 20: Gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 1

	Zuurgroep	ABgroep	p - waarde
<b>g 2</b>	8,070 ± 0,085	8,316 ± 0,085	0,0428
<b>g 3</b>	14,607 ± 0,198	15,323 ± 0,197	0,0117
<b>g 4</b>	28,305 ± 0,377	27,225 ± 0,374	0,0443
<b>gr 1</b>	93,986 ± 6,073	111,583 ± 6,073	0,0428
<b>gr 2</b>	363,151 ± 8,658	389,049 ± 8,584	0,0359
<b>gr 3</b>	595,560 ± 12,422	517,482 ± 12,316	0,0001
<b>gr T</b>	391,773 ± 6,853	372,140 ± 6,795	0,0443

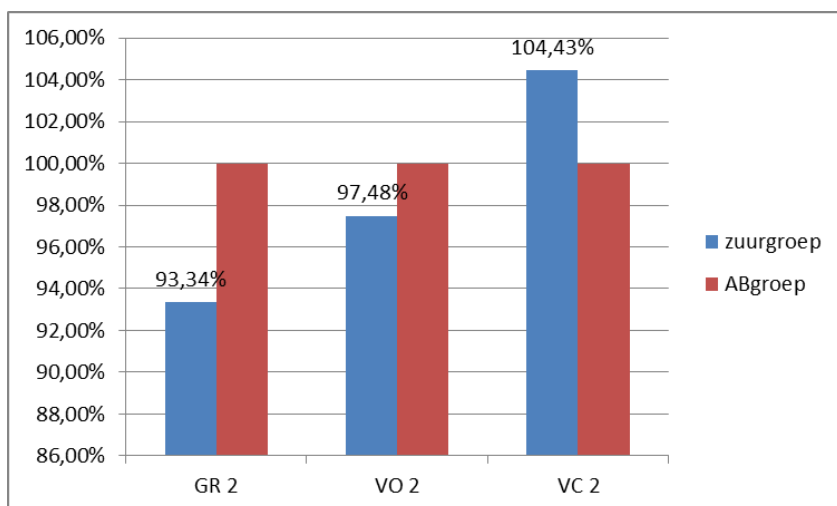
## 2.1.3 Technische resultaten

Tabel 21: Overzicht technische resultaten proef 1

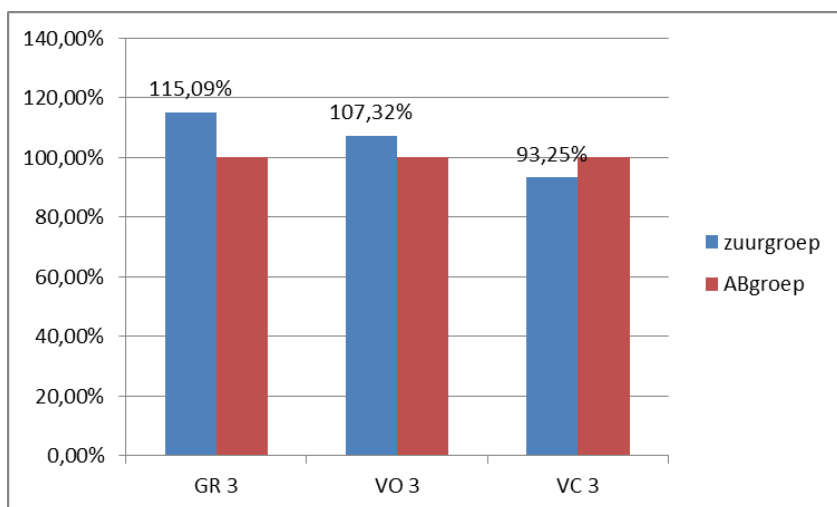
	Zuurgroep	ABgroep
GR 1	93,99	111,58
VO 1	171,00	178,39
VC 1	1,82	1,60
GR 2	363,15	389,05
VO 2	552,97	567,26
VC 2	1,52	1,46
GR 3	595,56	517,48
VO 3	919,42	856,67
VC 3	1,54	1,66
GRT	391,77	372,14
VOT	608,98	589,30
VCT	1,55	1,58



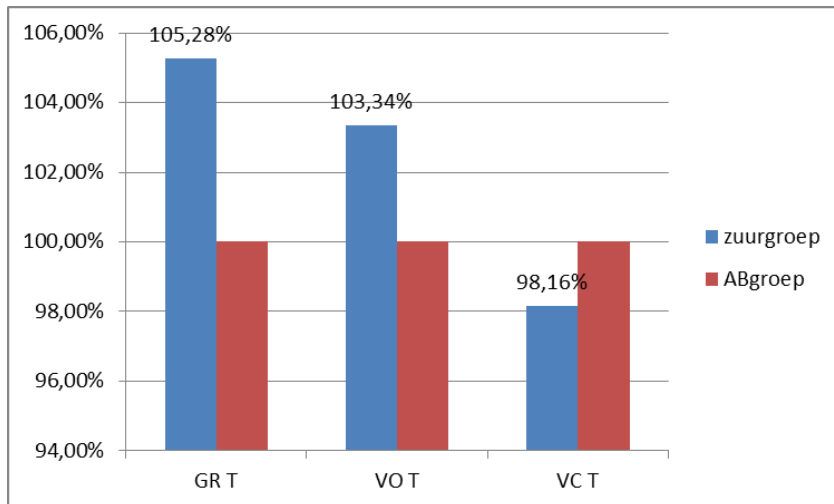
**Grafiek 25: Vergelijking van de technische resultaten uit de eerste fase van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 1)**



**Grafiek 26: Vergelijking van de technische resultaten uit de tweede fase van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 2)**



**Grafiek 27: Vergelijking van de technische resultaten uit de derde fase van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 3)**



**Grafiek 28: Vergelijking van de technische resultaten uit het overzicht van proef 1 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR T)**

Wat betreft het begingewicht van de biggen uit de eerste proef ziet men zo goed als geen verschil tussen de zuurgroep en de antibioticagroep (tabel 19). De begingewichten bedragen respectievelijk  $6,769 \pm 0,632$  kg en  $6,735 \pm 0,614$  kg. Dit komt neer op een hoger begingewicht voor de zuurgroep van 0,50 %.

In tabel 20 en bovenstaande grafieken kan men zien dat de dagelijkse gewichtstoename in de eerste fase significant hoger ( $p = 0,0428$ ) is voor de antibioticagroep. De gewichtstoename bedraagt 93, 986 gram voor de zuurgroep en 111,583 gram voor de antibioticagroep. Dit komt neer op een hogere gewichtstoename van 15,77 % voor de antibioticagroep. Dit resulteert in een 2,96 % hoger gewicht voor de biggen van de antibioticagroep op het einde van de eerste fase. Ook in de tweede fase is de gewichtstoename significant hoger ( $p = 0,0359$ ) voor de antibioticagroep hoger, hier bedraagt het verschil 6,66 %. Logischerwijze zal het verschil in het gewicht op het einde van de tweede fase ook toenemen. Het gewicht voor de antibioticagroep is significant 4,67 % hoger ( $p = 0,0117$ ) in vergelijking met de antibioticagroep. In de derde fase ziet men een totale ommekeer. In deze fase is de dagelijkse gewichtstoename voor de zuurgroep hoger. De gewichtstoenames bedragen  $595,560 \pm 12,422$  en  $517,482 \pm 12,316$  voor respectievelijk de zuurgroep en antibioticagroep. Dit resulteert in een significant hogere ( $p = 0,0001$ ) groei voor de zuurgroep van 15,09 %. Wegens de grote invloed van de derde fase op het totale eindgewicht van de biggen, ziet men dat de biggen van de zuurgroep een significant hogere ( $p = 0,0443$ ) eindgewicht hebben. Het eindgewicht van de zuurgroep is 3,97 % hoger dan de antibioticagroep. Als laatste wat betreft de dagelijkse gewichtstoename kan men vaststellen dat de toename in gewicht voor de zuurgroep over de volledige periode significant hoger ( $p = 0,0443$ ) is, het verschil bedraagt 5,28 %. De gewichtstoenames over de volledige periode bedragen voor de zuurgroep en antibioticagroep respectievelijk  $391,773 \pm 6,853$  gram en  $372,140 \pm 6,795$  gram.

Voor de voederopname worden de resultaten weergegeven tabel 21 en bovenstaande grafieken. De voederopname in de eerste fase is 4,14 % hoger voor de antibioticagroep. In de tweede fase wordt het verschil kleiner en bedraagt dit nog 2,52 %. Men ziet in de derde

fase een ommekeer, in deze fase is de voederopname maar liefst 7,32 % hoger voor de zuurgroep. Dit resulteert in een hogere voederopname over de volledige periode van 3,34 % voor de zuurgroep.

Door de 15,77 % lagere gewichtstoename en 4,14 % lagere voederopname ziet men in de eerste fase een hogere voederconversie voor de zuurgroep van 13,81 % ten opzichte van de antibioticagroep. In de tweede fase is het verschil tussen gewichtstoename en voederopname bij de zuurgroep minder uitgesproken waardoor de voederconversie voor de zuurgroep nog slechts 4,83 % hoger is in vergelijking met de 15,77 % in de eerste fase. Logischerwijze ziet men ook hier in de derde fase een totale ommekeer, de voederconversie voor de zuurgroep is nu 6,75 % lager in vergelijking met de antibioticagroep. Over de volledige periode resulteert dit in een voederconversie van 1,55 en 1,58 voor respectievelijk de zuurgroep en antibioticagroep. Dit komt neer in een lagere voederconversie van 1,84 % voor de zuurgroep.

#### 2.1.4 Verschil groei zeugen en baren

Tabel 22: Gemiddelde groei zeugen en baren proef 1

<b><i>Gem. Groei</i></b>	<b>Zeugen</b>	<b>Baren</b>	<b>p - waarde</b>
<b>Fase 1</b>	121,92	101,31	0,334
<b>Fase 2</b>	378,54	398,43	0,609
<b>Fase 3</b>	499,55	533,99	0,871
<b>Volledige periode</b>	363,82	379,49	0,682

In de eerste fase is in tegenstelling met de literatuur de groei van de zeugen hoger dan de baren, het verschil is aanzienlijk en bedraagt 20,34 %. Dit verschil is echter niet significant ( $p = 0,334$ ). De groei van de zeugen bedraagt 121,92 gram en van de baren 101,31 gram. In de tweede fase ziet men wel een bevestiging van de literatuur. De groei van de baren is hier 5 % hoger dan de zeugen. Ditzelfde verloop ziet men ook in de derde fase, waar de groei van de baren 6,45 % hoger is dan de zeugen. Zo bekomt men over de volledige periode een hogere groei van 4,13 % voor de baren. Geen enkel verschil was significant (tabel 22). Dit is een fenomeen dat ook in de literatuur wordt waargenomen. Een proef van AVEVE voeding in Poppel toonde bijvoorbeeld een hogere groei van de baren aan van 1,2 % in de fase van 20 kg – 120 kg.

## 2.1.5 De invloed van begingewicht

Tabel 23: Verklaring groei door begingewicht proef 1

<b><i>Verklaring groei door begingewicht</i></b>		
<b><i>Gem.</i></b>	<b>Zuurgroep</b>	<b>ABgroep</b>
<b>Fase 1</b>	0,22%	12%
<b>Fase 2</b>	0,70%	10,30%
<b>Fase 3</b>	3,20%	0,80%
<b>Volledige periode</b>	3,10%	6,60%

De verklaring van de groei door het begingewicht wordt in tabel 23 weergegeven. Deze parameter werd enkel statistisch onderzocht in de eerste proef omdat hiervoor voldoende resultaten waren. In de tweede proef zijn er onvoldoende resultaten om een mogelijke conclusie te trekken. Wanneer men tabel 23 bekijkt ziet men dat in de eerste fase voor de zuurgroep de groei voor 0,22 % verklaard kan worden door het begingewicht, voor de antibioticagroep ligt dit duidelijk hoger en bedraagt 12 %. In de tweede fase ziet men een lichte toename voor de zuurgroep tot 0,70 % en een afname voor de antibioticagroep tot 10,3 %. In laatste fase neemt de verklaring van de groei door het begingewicht bij de zuurgroep toe tot 3,20 %, bij de antibioticagroep ziet men een sterke daling tot 0,80 %. Over de volledige periode kan men concluderen dat bij de zuurgroep 3,10 % van de groei wordt verklaard door het begingewicht, en voor de antibioticagroep 6,60 %. Het valt op dat deze cijfers allemaal laag zijn, dit betekent dat er vele andere factoren van invloed zijn op de groei. Tevens is het opvallend dat men voor de zuurgroep een stijging ziet en voor de antibioticagroep een daling. Hier kan men mogelijks besluiten dat bij de zuurgroep het begingewicht minder bepalend is voor het verdere verloop van de groei. Dit is een positieve vaststelling, aangezien landbouwers vaak meer antibiotica gebruiken wanneer de biggen een lager begingewicht hebben.

## 2.2. Proef 2

In de tweede proef werden er meer biggen opgevolgd. Er werden drie hokken gebruikt voor de zuurgroep en drie hokken voor de antibioticagroep. Per groep waren er 192 biggen in proef, dit betekent 64 biggen per hok. Deze 64 biggen werden nog eens onderverdeeld in twee groepen van 32 biggen. Zodoende bekwam men voor de dagelijkse gewichtstoename zes resultaten voor zowel de zuurgroep als de antibioticagroep (zie bijlagen 6 en 7). Deze resultaten werden statistisch verwerkt. Wat betreft de voederopname (zie bijlage 9) en de voederconversie kon geen statistische verwerking worden uitgevoerd omdat er voor de zuurgroep en antibioticagroep elk slechts drie resultaten ter beschikking waren. Voor de voederopname en voederconversie werd per fase een gemiddelde genomen van alle drie de hokken. Tenslotte werd ook de voederopname en voederconversie over de volledige periode bekeken. Voor de dagelijkse gewichtstoename werd gerekend met de kleinste

kwadratenmethode. Er werd rekening gehouden met de sterfte van de biggen door deze uit de resultaten te laten voor de statistische verwerking.

Vier dagen voor het einde van de tweede fase, dus na 26 dagen heeft men besloten om gelijktijdig de behandeling met zuur en antibiotica stop te zetten. Vanaf dit moment was er tussen beide groepen geen verschil meer.

Via de statistische verwerking kon men besluiten dat de gegevens van groei en begingewicht normaal verdeeld zijn, dit zowel voor de zuurgroep als antibioticagroep (zie bijlage 15). Daarna werden de gemiddelden voor groei en begingewicht van beide groepen vergeleken via een independent samples t – test. Bij de gecorrigeerde resultaten werd de factor begingewicht uitgeschakeld, zodat deze resultaten de invloed teruggeven van de behandeling zuur of antibiotica. Voor het bekomen van de gecorrigeerde resultaten werd GLM toegepast.

### 2.2.1 Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename

Tabel 24: Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 2

	Zuurgroep	ABgroep	p - waarde
<b>g 1</b>	6,192 ± 0,713	6,289 ± 0,792	0,8292
<b>g 2</b>	7,860 ± 0,759	8,141 ± 1,093	0,6177
<b>g 3</b>	13,203 ± 1,061	13,983 ± 1,762	0,3753
<b>g 4</b>	24,424 ± 2,159	25,134 ± 2,484	0,6088
<b>gr 1</b>	119,146 ± 14,778	132,254 ± 26,267	0,3117
<b>gr 2</b>	333,892 ± 23,600	365,119 ± 42,936	0,1495
<b>gr 3</b>	487,885 ± 54,302	484,856 ± 31,912	0,9086
<b>gr T</b>	343,994 ± 29,262	355,569 ± 32,530	0,5316

### 2.2.2 Kleinste kwadratenmethode dagelijkse gewichtstoename

Tabel 25: Gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht proef 2

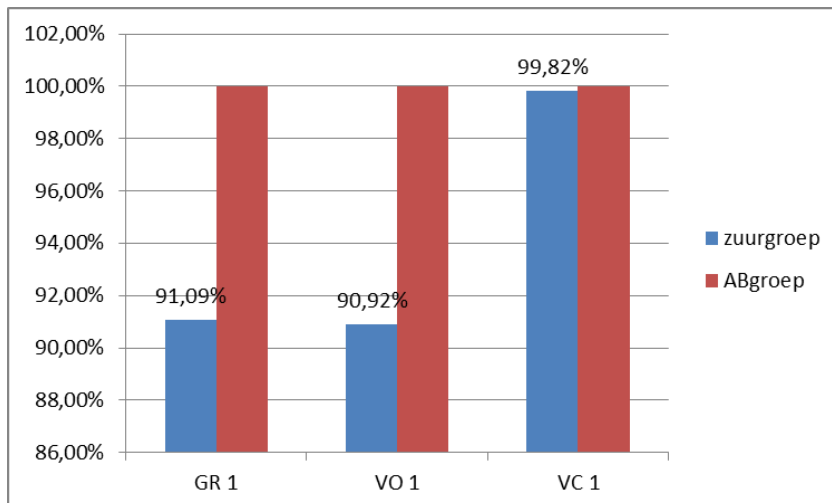
	Zuurgroep	ABgroep	p - waarde
<b>g 2</b>	7,919 ± 0,110	8,083 ± 0,111	0,3223
<b>g 3</b>	13,289 ± 0,232	13,896 ± 0,232	0,0981
<b>g 4</b>	24,564 ± 0,344	24,995 ± 0,344	0,4001
<b>gr 1</b>	119,838 ± 7,906	131,562 ± 7,906	0,3223
<b>gr 2</b>	335,674 ± 8,867	363,338 ± 8,867	0,055
<b>gr 3</b>	490,204 ± 11,132	482,538 ± 11,132	0,6383
<b>gr T</b>	345,721 ± 6,495	353,842 ± 6,495	0,4001



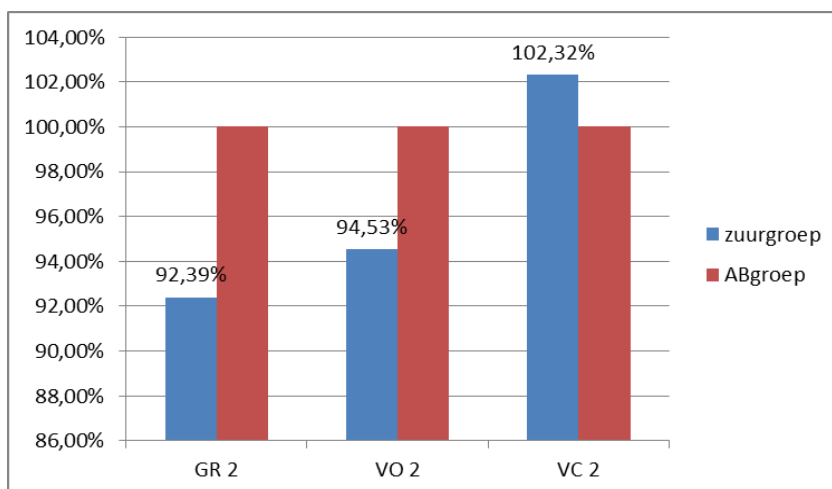
## 2.2.3 Technische resultaten

Tabel 26: Overzicht technische resultaten proef 2

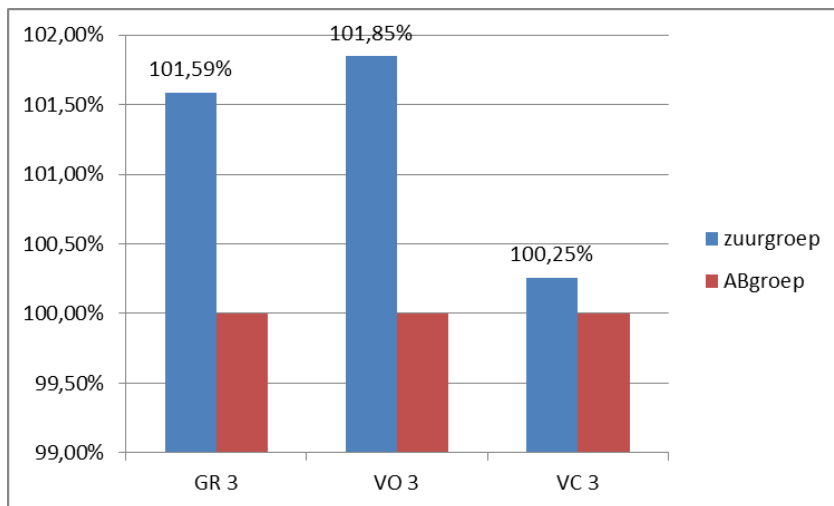
	Zuurgroep	ABgroep
<b>GR 1</b>	119,84	131,56
<b>VO 1</b>	198,35	218,15
<b>VC 1</b>	1,66	1,66
<b>GR 2</b>	335,67	363,34
<b>VO 2</b>	500,70	529,69
<b>VC 2</b>	1,49	1,46
<b>GR 3</b>	490,20	482,54
<b>VO 3</b>	779,87	765,73
<b>VC 3</b>	1,59	1,59
<b>GRT</b>	345,72	353,84
<b>VOT</b>	541,98	549,47
<b>VCT</b>	1,57	1,55



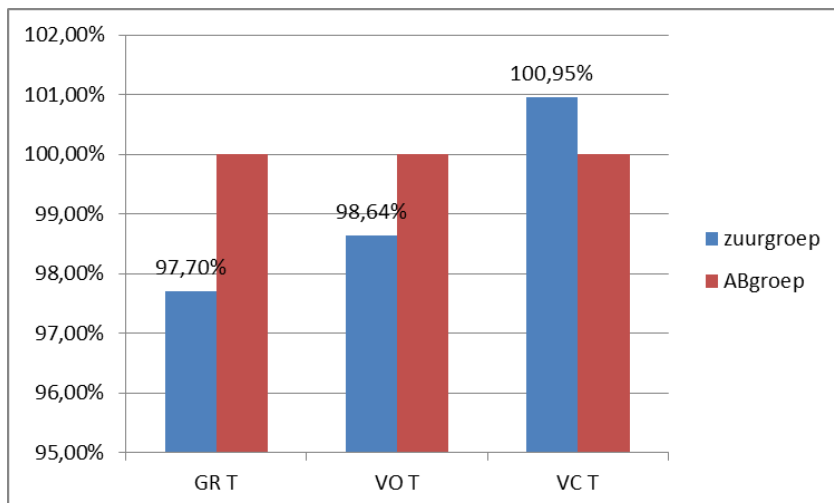
Grafiek 29: Vergelijking van de technische resultaten uit de eerste fase van proef 2 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 1)



Grafiek 30: Vergelijking van de technische resultaten uit de tweede fase van proef 2 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 2)



**Grafiek 31: Vergelijking van de technische resultaten uit de derde fase van proef 2 ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 3)**



**Grafiek 32: Vergelijking van de technische resultaten voor de volledige periode van proef 2 ten opzichte van de antibioticagroep (= 100 %) (Gecorrigeerde waarden voor GR T)**

Wanneer men tabel 24 bekijkt ziet men dat het begingewicht van de antibioticagroep 1,54 % hoger ligt in vergelijking met de zuurgroep. Wanneer men nu tabel 25 en bovenstaande grafieken bekijkt ziet men dat de biggen van de antibioticagroep een hogere dagelijkse gewichtstoename hebben van 8,9 %. Dit resulteert in een 2,03 % hoger gewicht voor de biggen van de antibioticagroep op het einde van de eerste fase. In de tweede fase is de dagelijkse gewichtstoename voor de antibioticagroep nog steeds hoger, in deze fase is het verschil 7,61 %. Logischerwijze neemt het verschil in gewicht op het einde van de tweede fase ook toe. Op het einde van de tweede fase is het gewicht van de biggen van de antibioticagroep 4,37 % hoger in vergelijking met de zuurgroep. In de derde fase ziet men net zoals bij de eerste proef een ommekeer, in deze fase is de dagelijkse gewichtstoename van de zuurgroep 1,59 % hoger in vergelijking met de antibioticagroep. Dit doet het verschil in gewicht dalen van 4,37 % tot 1,72 % op het einde van de tweede proef. Over de volledige periode ziet men voor de zuurgroep en antibioticagroep een dagelijkse gewichtstoename van respectievelijk 345,72 gram en 353,84 gram. Dit betekent dat over de volledige periode van

53 dagen de dagelijkse gewichtstoename van de antibioticagroep 2,3 % hoger is. Tevens kon men bij het bekijken van de p – waarden uit tabel 3 vaststellen dat er tussen de zuurgroep en antibioticagroep zowel voor begingewicht als dagelijkse gewichtstoename geen significante verschillen vast te stellen zijn. Enkel voor de dagelijkse gewichtstoename in de tweede fase zijn de verschillen zo goed als significant. In deze fase is gewichtstoename voor de zuurgroep 335,67 gram en voor de antibioticagroep 363,34 gram. Voor de dagelijkse voederopname worden de resultaten weergegeven in tabel 26 en bovenstaande grafieken. In de eerste fase is het verschil in dagelijkse voederopname het hoogst, de voederopname is 9,08 % hoger voor de antibioticagroep. In de tweede fase ziet men dat het verschil kleiner wordt maar nog steeds hoger is voor de antibioticagroep, het verschil bedraagt nog 5,47 %. In de derde fase is er net zoals bij de eerste proef ook een ommekeer in de dagelijkse voederopname. In deze fase is dagelijkse voederopname voor de zuurgroep 1,58 % hoger. Door de grote invloed van de derde fase op de volledige periode, ziet men dat het verschil in dagelijkse voederopname beperkt is. Er is een hogere dagelijkse voederopname van 1,36 % voor de antibioticagroep.

Voor de voederconversie ziet men dat de verschillen in elke fase zeer klein zijn. In de eerste fase is de voederconversie voor de zuurgroep 0,18 % lager in vergelijking met de antibioticagroep. In de tweede fase is de voederconversie voor de zuurgroep echter 2,32 % hoger. Ook in de derde fase is het verschil bijna te verwaarlozen, de zuurgroep heeft hier een hogere voederconversie van 0,25 %. Zo bekomt men over de volledige periode een 0,95 % hogere voederconversie voor de zuurgroep.

Over de volledige ziet men dus een lagere dagelijkse gewichtstoename van 3,3 % voor de antibioticagroep, tevens een lagere voederopname van 1,36 %. Dit resulteert in een hogere voederconversie van 0,95 % voor de zuurgroep. De voederconversie voor de zuurgroep bedraagt 1,57 en voor de antibioticagroep 1,55.

### **2.3. Algemeen overzicht**

Hieronder vind men de gemiddelde resultaten voor beide proeven. Het is een gemiddelde van telkens acht resultaten om zo een beeld te krijgen over de algemene invloed van het zuur op de zoötechnische resultaten.

### 2.3.1 Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename

Tabel 27: Niet gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht algemeen overzicht

	Zuurgroep	ABgroep	p - waarde
<b>g 1</b>	6,337 ± 0,661	6,401 ± 0,703	0,8522
<b>g 2</b>	7,917 ± 0,651	8,180 ± 0,936	0,5236
<b>g 3</b>	13,561 ± 1,117	14,307 ± 1,606	0,2992
<b>g 4</b>	25,403 ± 2,572	25,646 ± 2,310	0,8457
<b>gr 1</b>	112,841 ± 18,091	127,048 ± 24,870	0,2124
<b>gr 2</b>	341,392 ± 24,884	370,784 ± 38,192	0,0896
<b>gr 3</b>	514,881 ± 67,996	492,990 ± 32,195	0,4243
<b>gr T</b>	356,041 ± 33,341	359,586 ± 28,787	0,8232

### 2.3.2 Kleinste kwadratenmethode dagelijkse gewichtstoename

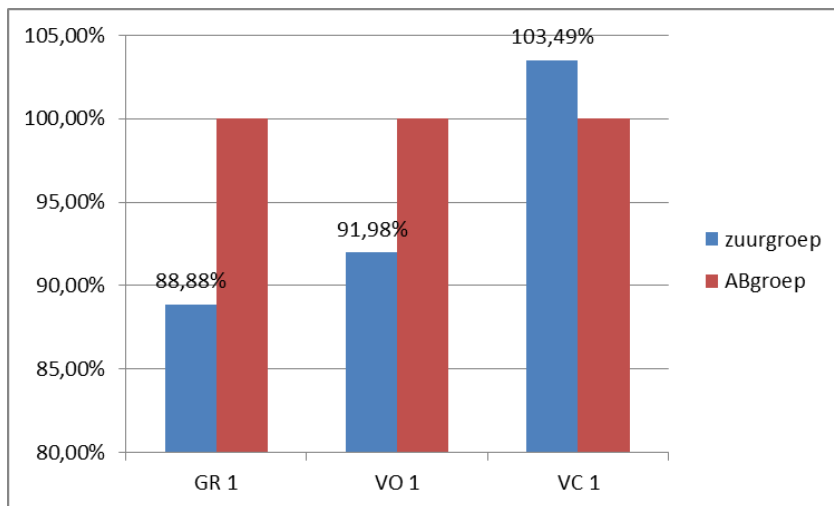
Tabel 28: Gecorrigeerde resultaten dagelijkse gewichtstoename en begingewicht algemeen overzicht

	Zuurgroep	ABgroep	p - waarde
<b>g 2</b>	7,850 ± 0,097	8,036 ± 0,097	0,1657
<b>g 3</b>	13,730 ± 0,190	14,361 ± 0,191	0,0258
<b>g 4</b>	25,870 ± 0,333	25,925 ± 0,336	0,9015
<b>gr 1</b>	105,772 ± 6,904	119,010 ± 6,972	0,1657
<b>gr 2</b>	344,436 ± 7,612	371,446 ± 7,686	0,0186
<b>gr 3</b>	527,890 ± 11,886	502,796 ± 12,002	0,1325
<b>gr T</b>	360,634 ± 6,233	361,863 ± 6,294	0,8823

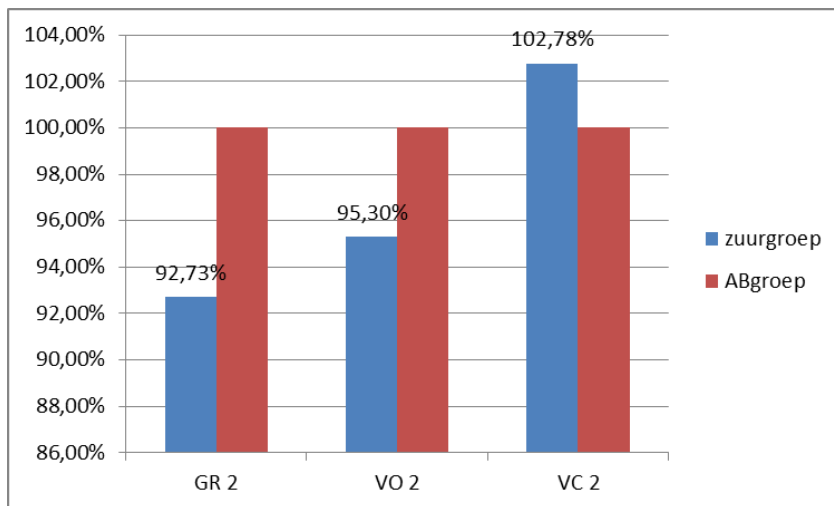
### 2.3.3 Technische prestaties

Tabel 29: Overzicht technische resultaten algemeen overzicht

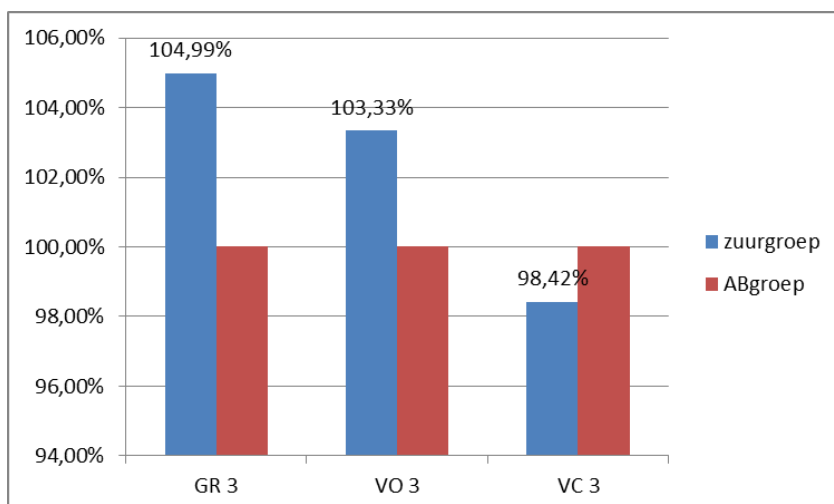
	Zuurgroep	ABgroep
<b>GR 1</b>	105,772	119,010
<b>VO 1</b>	191,516	208,214
<b>VC 1</b>	1,811	1,750
<b>GR 2</b>	344,436	371,446
<b>VO 2</b>	513,766	539,086
<b>VC 2</b>	1,492	1,451
<b>GR 3</b>	527,890	502,796
<b>VO 3</b>	814,759	788,464
<b>VC 3</b>	1,543	1,568
<b>GRT</b>	360,634	361,863
<b>VOT</b>	558,734	559,427
<b>VCT</b>	1,549	1,546



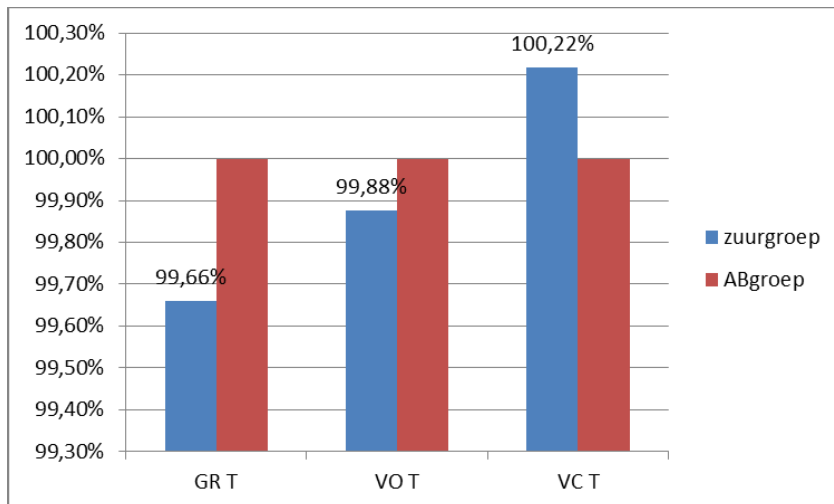
**Grafiek 33: Vergelijking van de technische resultaten uit de eerste fase van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 1)**



**Grafiek 34: Vergelijking van de technische resultaten uit de tweede fase van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 2)**



**Grafiek 35: Vergelijking van de technische resultaten uit de derde fase van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR 3)**



**Grafiek 36: Vergelijking van de technische resultaten van de volledige periode van het algemeen overzicht ten opzichte van antibioticagroep (= 100 %) (gecorrigeerde waarden voor GR T)**

Wanneer men de gemiddelde resultaten bekijkt van beide proeven ziet men dat het speengewicht van de biggen van de antibioticagroep 1,00 % hoger ligt, dit komt neer op een verschil van 64 gram. In de eerste fase ziet men voor de biggen van de zuurgroep een dagelijkse gewichtstoename van 105,772 gram ten opzichte van 119,010 gram bij de antibioticagroep. Mogelijke reden voor deze hogere groei van 11,12 % is terug te vinden onder 2.1.5. In de eerste fase wordt voor de antibioticagroep 12,00 % van de groei verklaard door het begingewicht, terwijl dit bij de zuurgroep slechts 0,22 % is. De biggen van de antibioticagroep hebben een hoger begingewicht, wat dus de mogelijke oorzaak kan zijn van de groei in de eerste fase.

In de tweede fase ziet men hetzelfde verloop, een hogere groei voor de antibioticagroep van 7,27 %. Dit mogelijk ook te verklaren door de hogere invloed van het begingewicht op de groei voor de antibioticagroep. De gewichtstoenames in deze fase zijn significant verschillend ( $p = 0,0186$ ) en bedragen 344,436 gram en 371,446 gram voor respectievelijk de zuurgroep en antibioticagroep. Dit resulteert in een significant hoger ( $p = 0,0258$ ) gewicht voor de antibioticagroep op het einde van de tweede fase.

In de derde fase ziet men logischerwijze net als in proef 1 en proef 2 een ommekeer in de gewichtstoename. In deze fase is de gewichtstoename voor de zuurgroep hoger in vergelijking met de antibioticagroep met respectievelijk 527,890 gram en 502,796 gram (geen significant verschil). Mogelijke reden kan men vinden door het stopzetten van beide behandelingen op de gewichtstoename van de biggen. Zoals vermeld onder 2.1 en 2.2 werd vier dagen voor het overschakelen van het fase twee voeder naar het fase drie voeder de behandeling met zowel zuur als antibiotica stopgezet. Door de behandeling met antibiotica verstoort je de darmflora waardoor het langer duurt na antibiotica dat de biggen terug goed verder groeien. Bij de behandeling met zuur is de darmflora goed en krijg je een goede doorgroei. Tevens onderdrukt de behandeling met antibiotica de werking van de pathogenen. Wanneer de behandeling met antibiotica wegvault, krijgen deze pathogenen terug de kans om hun werk te doen. Een andere reden voor de ommekeer in de derde fase is mogelijk de

waterkwaliteit. Het water aan de nippel voor de antibioticagroep is verontreinigd met enterobacteriën, bij de zuurgroep is dit niet geval omdat deze enterobacteriën in de leiding vernietigd worden door het zuurmengsel. Zolang antibiotica aan de biggen wordt gevoerd, ondervinden deze geen last van deze enterobacteriën, omdat antibiotica net de schadelijke bacteriën afdood. Na het stopzetten van de behandeling met antibiotica kunnen deze bacteriën dus resulteren in een negatieve invloed op de groei en voederopname van de biggen (zie tabel 18).

Verder is het opvallend dat over de volledige periode eigenlijk geen verschil is waar te nemen ( $p = 0,8823$ ) in de dagelijkse gewichtstoename van de zuurgroep en antibioticagroep. Er is een hogere gewichtstoename voor de antibioticagroep van 0,34 % wat dus te verwaarlozen is.

Wat betreft de voederopname ziet men de grootste verschillen in de eerste fase. De antibioticagroep kent hier een hogere voederopname van 8,12 %. De voederopname voor zuurgroep en antibioticagroep bedraagt respectievelijk 191,516 gram en 208,214 gram. In de tweede fase daalt dit tot 4,7 %. De derde fase resulteert in een hogere voederopname voor de zuurgroep, het verschil bedraagt 3,33%. Door de hoge invloed van de derde fase op de totale voederopname ziet men dat het verschil in totale voederopname zo goed als te verwaarlozen is.

Ook het verschil tussen de voederconversies is het hoogst in de eerste fase, de zuurgroep heeft een hogere voederconversie van 3,49 %. In de tweede fase daalt dit verschil tot 2,78 %. Logischerwijze is ook hier een ommekeer in de derde fase, de voederconversie voor de zuurgroep is hier 1,58 % lager in vergelijking met de antibioticagroep. Ook voor de voederconversie is over de volledige periode het verschil te verwaarlozen. De voederconversie voor de zuurgroep is 0,22 % hoger.

### **3. ANTIBIOTICAGEBRUIK**

In het algemeen werd bij de zuurproef slechts antibiotica toegediend wanneer dit noodzakelijk was om de gezondheid van de biggen niet in het gedrang te brengen. Voor de antibioticagroep werd bij elke voederbeurt de gepaste hoeveelheid antibiotica toegediend. Ook werd in beide proeven de behandeling met antibiotica en zuur vier dagen voor het overschakelen naar de derde fase gelijktijdig stopgezet. In de eerste proef was dit 28 dagen na spenen, in de tweede proef 26 dagen.

#### **3.1. Proef 1**

Om het gemiddeld gebruik per big te vinden werd voor de zuurgroep gedeeld door 58,5 biggen en voor de antibioticagroep 59 biggen (er was geen sterfte). In de zuurgroep is er 1 big gestorven op dag 14, door volgende berekening bekomt men dus gemiddeld 58,5 biggen:  $((14 \times 59) + (14 \times 58)) / 28$  dagen. Er wordt gedeeld door 28 dagen omdat dit de duur van de periode is dat de biggen antibiotica kregen.

In het eerste fase voeder werd gekozen voor de combinatie amoxicilline 70 % en doxycycline 75 %. Deze twee antibiotica werden aan de gepaste hoeveelheid ingemengd in het voeder. Voor de zuurgroep werd in de eerste fase geen antibiotica gebruikt. Tijdens de tweede fase werd gekozen voor de combinatie amoxicilline 70 % en apralan. Deze combinatie werd gevoederd tot 28 dagen na spenen (zie bijlage 5). Voor de zuurgroep werd in de tweede fase twee maal doxycycline 75 % gebruikt. De reductie zal dus geen 100 % bedragen. Het geven van doxycycline aan de zuurgroep werd uit voorzorg gedaan omdat dit voor dit bedrijf steeds een moeilijk te overbruggen periode was. Deze werden toegediend op dag 18 en dag 20 na spenen. Naast het verschaffen van antibiotica in het voeder was een individuele behandeling bij een aantal biggen noodzakelijk. In de eerste fase werd daarvoor gebruik gemaakt van draxxin. Bij de zuurgroep werden 5 injecties gebruikt en bij de antibioticagroep 2. In de tweede fase werd floxaline gebruikt voor de individuele behandeling. Bij de zuurgroep waren 3 injecties nodig, bij de antibioticagroep slechts 1 injectie.

Voor de hoeveelheid antibiotica te berekenen dat werd gebruikt, werd gerekend met de toegelaten dosis van de antibiotica soort. De toegelaten dosis voor amoxiciline is 700 gram/ton, voor doxycycline 14 mg/kg lichaamsgewicht en voor apralan 1000 gram/ton. Voor de injecties met antibiotica is de toegelaten dosis voor draxxin 0,2 cc/big en voor floxaline 1 cc/big. Deze toegelaten dosis werd dan gebruikt om via de hoeveelheid voeder die werd gebruikt per voederbeurt het totaal aantal kg gebruikte antibiotica te bepalen. Voor doxycycline werd uitgegaan van de gemiddelde groei (zie bijlage 5 proef 1 gewichten en dan verloop groei) op de dag van de antibiotica toediening.

tabel 30 geeft het gemiddeld antibioticagebruik terug voor de zuurgroep en antibioticagroep en de reductie die daaruit volgt. De reductie bedraagt in deze proef 97,82 %; dit is de hoogste reductie in vergelijking met de drie andere resultaten van proef 2. De oorzaak is omdat men in deze proef slechts éénmaal een behandeling met antibiotica heeft toegediend, terwijl in tweede proef twee behandelingen met antibiotica bij de zuurgroep nodig waren waardoor de reductie daalde.

### **3.2. Proef 2**

Ook hier werd het gemiddeld antibioticagebruik per big uitgedrukt. Er werd gedeeld door het gemiddeld aantal biggen dat aanwezig was na 26 dagen (zie bijlage 13).

In het eerste fase voeder werd gekozen voor de combinatie amoxicilline 70 % en doxycycline 75 %. Deze twee antibiotica werden aan de gepaste hoeveelheid ingemengd in het voeder. Voor de zuurgroep werd in de eerste fase na 4 dagen doxycycline gebruikt. Tijdens de tweede fase werd gekozen voor de combinatie amoxicilline 70 % en apralan. Deze combinatie werd gevoederd tot 26 dagen na spenen. Voor de zuurgroep werd in de tweede fase (20 dagen na spenen) amoxicilline 70 % gegeven. De reductie zal dus geen 100 % bedragen (zie bijlagen 10, 11 en 12).

Tabel 30 toont het antibioticagebruik voor hok één, hok twee en hok drie. In hok drie werd voor de zuurgroep het minst antibiotica gebruikt omdat dit de lichtere biggen waren. Deze kennen een lagere voederopname en aangezien antibiotica in het voeder wordt toegevoegd

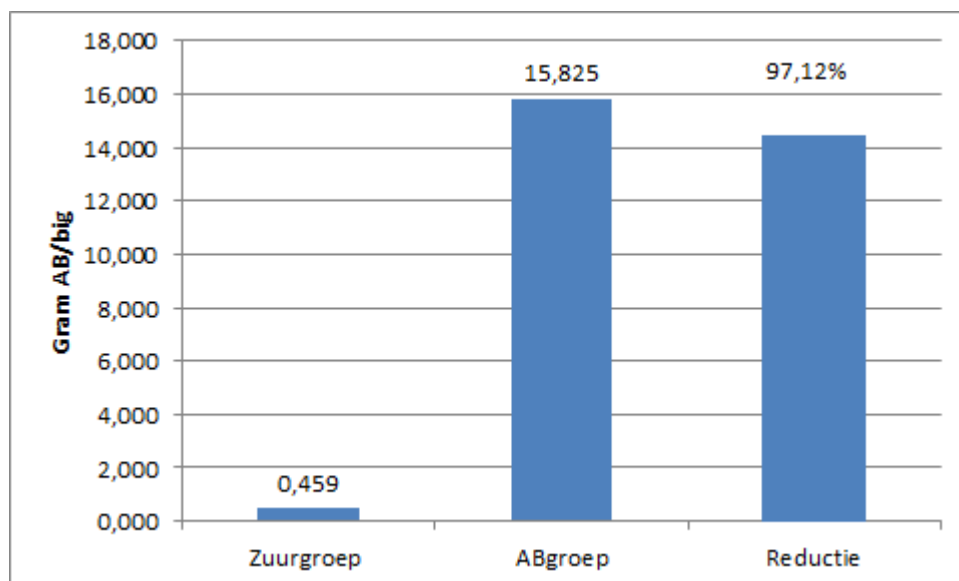


is er een lagere opname van antibiotica. Voor de tweede proef bedraagt de reductie gemiddeld 96,85 %. De reductie is dus iets lager in vergelijking met de eerste proef maar nog steeds zeer hoog. Tevens is in tabel 31 te zien dat het gemiddeld antibioticagebruik bij de antibioticaproef voor de eerste proef hoger is in vergelijking met de tweede proef, de oorzaak hiervan is waarschijnlijk omdat twee dagen langer antibiotica werd gevoederd in de eerste proef (28 dagen t.o.v. 26 dagen). Voor de zuurgroep is het antibioticagebruik in de tweede proef hoger in vergelijking met de eerste proef omdat hier amoxicilline werd gebruikt, wat aan een hogere hoeveelheid wordt ingemengd in vergelijking met doxycycline in de eerste proef.

Tabel 30: Overzicht antibioticagebruik

<b>ABgebruik</b>	<b>Zuurgroep (gram/big)</b>	<b>ABgroep (gram/big)</b>	<b>Reductie</b>
<b>Proef 1</b>	0,348	15,998	97,82%
<b>Proef 2 hok 1</b>	0,574	15,845	96,38%
<b>Proef 2 hok 2</b>	0,523	16,813	96,93%
<b>Proef 2 hok 3</b>	0,389	14,645	97,34%
<b>Gemiddelde</b>	0,459	15,825	97,12%

### 3.3. Overzicht

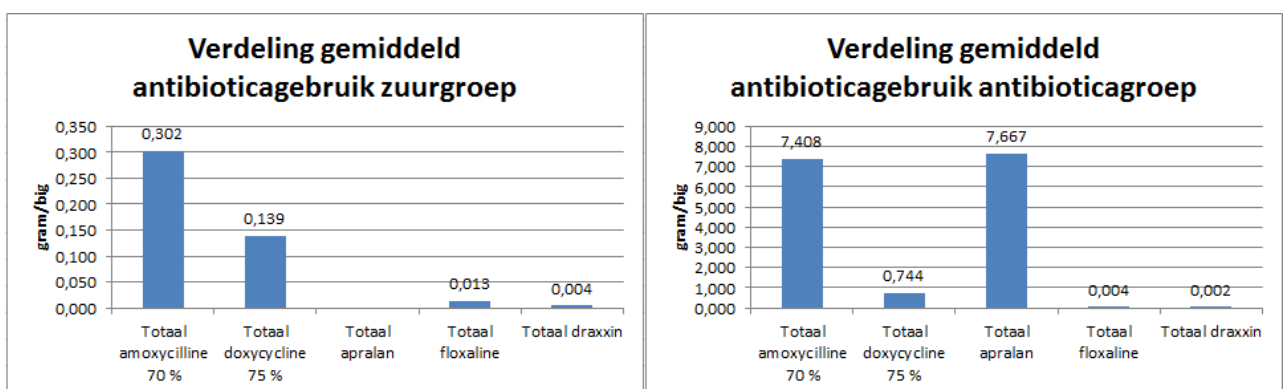


Grafiek 37: Gemiddelde reductie antibioticagebruik

Tabel 31: Overzicht antibioticagebruik, voederopname en groei

	Antibioticagebruik (gram/big)		Voederopname (gram)		Groei (gram)		Voederconversie	
	Zuurgroep	Abgroep	Zuurgroep	Abgroep	Zuurgroep	Abgroep	Zuurgroep	Abgroep
<b>Proef 1</b>	0,348	15,998	608,98	589,3	391,77	372,14	1,55	1,58
<b>Proef 2</b>	0,496	15,767	541,98	549,47	345,72	353,84	1,57	1,55

Over beide proeven heen werd voor de zuurgroep gemiddeld 0,459 gram/big en voor de antibioticagroep 15,825 gram/big. Dit komt overeen met een reductie van 97,12 % (grafiek 37). Tevens toont tabel 31 aan dat de technische resultaten bij de antibioticagroep niet altijd hoger liggen. In de eerste proef ziet men zelf dat alle technische resultaten voor de zuurgroep beter scoren in vergelijking met de antibioticagroep. Echter mag men dit niet veralgemenen want volgens Jonathan Paul Holt (2008) is het effect op het gebruik van antibiotica groter wanneer deze worden toegediend aan biggen die zijn gehuisvest in een verontreinigde stal in vergelijking met een gereinigde stal. Aangezien deze proeven werden uitgevoerd in een goed gereinigde ruimte kan dit een vertekend beeld geven. Belangrijk om te onthouden is echter dat het gebruik van antibiotica niet noodzakelijk hoeft te zijn en een reductie mogelijk kan zijn.



**Grafiek 38: Verdeling gemiddeld antibioticagebruik**

Grafiek 38 geeft een overzicht van welke antibiotica het vaakst werden ingezet voor zowel de zuurproef als antibioticaproef. Bij de zuurproef werd het vaakst amoxicilline 70 % gebruikt, er werd gemiddeld 0,302 gram/big gebruikt. Doxycycline 75 % werd daarna het vaakst gebruikt, met een gemiddelde van 0,139 gram/big. De hoeveelheden floxaline en draxxin zijn te verwaarlozen. Van apralan werd in de zuurproef geen gebruikt gemaakt. Bij de antibioticaproef werd apralan met gemiddeld 7,667 gram/big het vaakst ingezet, kort gevolgd door amoxicilline 70 % met 7,408 gram/big. Van doxycycline 75 % heeft men gemiddeld 0,744 gram/big gebruikt. De hoeveelheden floxaline en draxxin zijn net als bij de zuurproef te verwaarlozen. Wanneer men beide groepen optelt, wordt amoxicilline 70 % het vaakst gebruikt gevolgd door apralan. Volgens callens et al. (2012) wordt amoxicilline voor 5 % ingezet als antimicrobiële groeibevorderaar tegen spendiarree.

## 4. ZUUR EN WATERVERBRUIK

Tabel 32: Zuur en waterverbruik proef 2

Praktisch			Theoretisch		
Dag	zuurproef	Abproef	Dag	zuurproef	Abproef
1	149	148	1	148	149
2	310	300	2	298	300
3	472	453	3	448	453
4	628	608	4	601	607
5	789	765	5	755	762
6	953	923	6	910	919
7	1125	1082	7	1066	1078
8	1280	1242	8	1224	1238
9	1440	1404	9	1382	1399
10	1603	1568	10	1543	1562
11	1768	1732	11	1705	1726
12	1940	1897	12	1869	1892
13	2095	2062	13	2033	2059
14	2278	2228	14	2198	2228
15	2435	2400	15	2369	2402
16	2642	2575	16	2542	2579
17	2848	2753	17	2719	2761
18	3030	2938	18	2901	2947
19	3179	3127	19	3086	3137
20	3392	3320	20	3276	3332
21	3610	3518	21	3469	3536
22	3800	3720	22	3669	3745
23	4010	3931	23	3876	3962
24	4240	4148	24	4090	4187
25	4490	4370	25	4308	4417
26	<b>4750</b>	<b>4597</b>	26	<b>4535</b>	<b>4655</b>
<i>Per big</i>	<i>24,740</i>	<i>23,940</i>	<i>Per big</i>	<i>23,620</i>	<i>24,246</i>
<i>Per big per dag</i>	<i>0,952</i>	<i>0,921</i>	<i>Per big per dag</i>	<i>0,908</i>	<i>0,933</i>

In tabel 32 is de wateropname weergegeven voor de zuur – en antibioticagroep. De linkse tabel geeft de praktische wateropname weer, dit is de hoeveelheid die werd vastgesteld door de debietmeters die in de proef werden gebruikt. De rechtste tabel geeft de theoretische wateropname weer. Deze is gebaseerd op cijfers van Brede (2006) die drie richtwaarden meegeeft. Dit is een wateropname van 0,7 l bij een lichaamsgewicht van 5 kg, 1 l bij 10 kg en 2 l bij 20 kg. De theoretische waarden zijn dus berekend op basis van het lichaamsgewicht (zie bijlage 8 voor het lichaamsgewicht). Dit is de reden waarom de wateropname over de volledige periode hoger is voor de antibioticagroep. De resultaten in het vetgedrukt zijn de waarden voor 192 biggen. Om de waarden per big per dag te bekomen wordt gedeeld door de periode van 26 dagen.

Bij de praktische wateropname ziet men dat de zuurgroep een iets hogere wateropname heeft in vergelijking met de antibioticagroep. Deze verschillen zijn echter niet groot genoeg

om een besluit te kunnen nemen. De wateropname voor de zuurgroep bedraagt gemiddeld 0,952 l/big/dag voor de periode waarin zuur werd gegeven (de eerste 26 dagen na spenen). De wateropname bij de antibioticaproef is lager en bedraagt 0,921 l/big/dag. Het is met deze praktische wateropname dat later in de economische benadering zal verder gerekend worden.

## **5. STERFTE**

In de eerste proef is de sterfte beperkt. In de antibioticagroep is er geen enkele big gestorven in de loop van de proef. In de zuurgroep is op 22 oktober één big gestorven als gevolg van een beenbreuk. De reden van sterfte is dus onafhankelijk van de proef. De sterfte in de zuurgroep is 1,7 % en in de antibioticagroep 0 %.

In de eerste fase van de tweede proef werd er na 6 dagen één big dood terugvonden in hok 2 van de zuurgroep, reden van sterfte is onbekend. In de tweede fase zijn drie biggen gestorven, daarvan één in hok drie van de antibioticagroep na 25 dagen en twee in hok één van de zuurgroep na 18 dagen. Ook in de derde fase werd sterfte vastgesteld, dit in hok drie van de antibioticagroep, na 32 dagen. In de zuurgroep zijn dus in totaal drie biggen gestorven en in de antibioticagroep twee biggen. Zo bekomt men het sterftepercentage van de zuurgroep en antibioticagroep dat respectievelijk 1,56 % en 1,0 % bedraagt.

In vergelijking met de eerste proef ziet men voor de zuurgroep een sterftepercentage dat hier iets lager ligt (1,56 % t.o.v. 1,7 %). Voor de antibioticagroep is het sterftepercentage in deze proef logischerwijze hoger aangezien er geen sterfte werd opgemeten in proef 1.

## 6. ECONOMISCHE BENADERING

Tabel 33: Economische benadering

	Zuurgroep	Antibioticagroep
<b>Kosten (euro/big)</b>	<u>Voederopname</u>	
<i>Fase 1</i>	1,973	2,145
<i>Fase 2</i>	4,909	5,150
<i>Fase 3</i>	6,699	6,483
<i>Totaal</i>	13,581	13,779
<b>Kosten (euro/big)</b>	<u>Zuur</u>	
<i>Liter</i>	0,031	0,000
<i>Totaal</i>	0,066	0,000
<b>Kosten (euro/big)</b>	<u>Antibiotica</u>	
Totaal amoxicilline 70 %	0,019	0,470
Totaal doxycycline 75 %	0,009	0,048
Totaal apralan	0,000	0,274
Totaal floxaline	0,003	0,001
Totaal draxxin	0,008	0,003
<i>Totaal</i>	0,039	0,797
<b><i>TOTAAL KOSTEN (euro/big)</i></b>	13,686	14,576
<b>Opbrengst (euro/big)</b>		
Begingewicht (kg)	6,337	6,401
Eindgewicht (kg)	25,870	25,952
Sterfte	1,63%	0,50%
Correctie met sterfte	25,448	25,822
<b><i>TOTAAL OPBRENGST (euro/big)</i></b>	47,724	47,911
<b><i>OPBRENGST - KOSTEN (euro/big)</i></b>	34,038	33,335
<b><i>MEEROPBRENGST ZUUR (euro/big)</i></b>	0,703	

In tabel 33 werden eerst de kosten bekeken voor beide groepen. Als eerste kost werd gekeken naar de voederopname. De gemiddelde voederopnames werden uit tabel 29 gehaald. Deze werden vermenigvuldigd met de kostprijs van het voeder. (Voor de prijzen: zie bijlage 16). Wanneer men deze drie fasen samen telt, ziet men dat de kostprijs voor de antibioticaproef 13,779 EUR/big bedraagt en dus iets hoger ligt in vergelijking met de zuurproef waar dit 13,581 EUR/big is.

Als tweede parameter werd gekeken naar de kostprijs voor het gebruik van zuur. Uiteraard zal deze factor enkel een invloed hebben op de zuurproef. Zoals eerder vermeld wordt verder gerekend met de 0,952 l/dag die de biggen aan water hebben opgenomen. Zoals men kan zien op de titratiecurve van grafiek 24 is het zuurmengsel van Selko pH gebruikt aan een

hoeveelheid van 0,12 %. Dit betekent dat iedere big per dag  $0,952 \times 0,12 \% = 0,00114$  liter zuur opneemt. Dit wordt vermenigvuldigt met 27 dagen. Dit is de gemiddelde periode van de twee proeven, in de eerste proef werd 28 dagen zuur gegeven, in de tweede proef 26 dagen. Wanneer men deze 0,00114 liter vermenigvuldigt met 27 dagen bekomt men de totale kostprijs van 0,031 l/big voor de volledige zuurperiode. Dit wordt vermenigvuldigt met de kostprijs van Selko pH dat 2,13 EUR/kg bedraagt. Zodoende bekomt men een kost van 0,066 EUR/big voor de zuurgroep. Voor de antibioticagroep is de kostprijs uiteraard 0 EUR/big.

De volgende kost die werd berekend is het gebruik van antibiotica. Zowel voor de zuurgroep als antibioticagroep zal er een kostprijs zijn. Voor de prijzen die werden gebruikt in de berekening, zie bijlage 16. Bij de zuurgroep ziet men dat de hoogste kostprijs is weggelegd voor het gebruik van amoxicilline, deze bedraagt 0,019 EUR/big. Verder bedraagt de kostprijs voor doxycycline, floxaline en draxxin respectievelijk 0,009; 0,003 en 0,008 EUR/big. In de zuurgroep werd geen apralan gebruikt. Zo bekomt men een totale kostprijs van 0,039 EUR/big voor de zuurgroep. Bij de antibioticagroep ziet men dat ondanks het hoogste gebruik van apralan de prijs beduidend lager is dan amoxicilline. De kostprijs is daarmee het hoogst voor amoxicilline met 0,470 EUR/big, gevolgd door apralan, doxycycline, draxxin en floxaline met respectievelijk 0,247; 0,049; 0,003 en 0,001 EUR/big. Zo bekomt men kostprijs voor het antibioticagebruik in de antibioticagroep, deze bedraagt 0,797 EUR/big.

Wanneer men deze kosten samentelt bekomt men een totale kostprijs voor de zuurgroep en antibioticagroep van respectievelijk 13,686 en 14,576 EUR/big. Dit betekent dat de kostprijs bij de antibioticagroep 0,89 EUR/big hoger ligt in vergelijking met de zuurgroep.

De opbrengsten bestaan enkel uit de verkoop van de biggen. Er werd uitgegaan van de Vlaamse biggenprijzen op 30 april 2014, deze bedroeg op dat moment 43 EUR/big. Dit is de prijs voor biggen van 20 kg. Voor biggen van 20 kg – 23 kg wordt 1 EUR/kg meer betaald. Van 23 kg – 25 kg is dit 0,75 EUR/kg en van 25 kg – 30 kg is dit 0,5 EUR/kg. De speengewichten (begingewichten) bedragen voor de zuurgroep en antibioticagroep respectievelijk 6,34 kg en 6,40. Vanwege deze kleine verschillen werd hier verder geen rekening met gehouden. De eindgewichten bedragen respectievelijk 25,870 kg en 25,952 kg. Hier werd de sterfte in rekening gebracht, deze bedraagt respectievelijk 1,63 % en 0,5 % voor de zuurgroep en antibioticagroep. De opbrengst voor de zuurgroep en antibioticagroep bedragen hierdoor respectievelijk 47,724 EUR/big en 47,911 EUR/big. Dit is een meeropbrengst voor de antibioticagroep van 0,187 EUR/big.

Wanneer men de meeropbrengst van 0,187 EUR/big aftrekt van de hogere kost die 0,890 EUR/big bedraagt voor de antibioticagroep, bekomt men een hogere kost voor de antibioticagroep van 0,703 EUR/big.

## 7. DISCUSSIE

Wat betreft de dagelijkse gewichtstoename is er steeds een hogere toename in de eerste twee fasen voor de antibioticagroep. Het verschil bedraagt in de eerste fase 11,12 % en in de tweede fase 7,27 %. Uit de analyse is aangetoond dat voor de antibioticagroep de groei in de eerste twee fasen meer bepaald wordt door het begingewicht in vergelijking met de zuurgroep. Aangezien de biggen van de antibioticagroep een iets hoger speengewicht (= begingewicht) hadden, kan dit een mogelijke verklaring zijn. De invloed van begingewicht werd onder andere door van der Peet Schwering et al., (2013) aangetoond. Zij stelden vast dat biggen met een hoog geboortegewicht van spenen tot vijf weken na spenen 0,06 kg voeder per dag meer opnemen en 50 g/d sneller groeien dan biggen met een laag geboortegewicht. Er werd geen verschil in voederconversie vastgesteld tussen biggen met een laag of een hoog geboortegewicht. Daarnaast werd ook door Gaskins et al., (2002) een hoger effect van antibiotica vastgesteld in de eerste fase in vergelijking met de volgende fasen. Dit komt volgens Van Lunen (2003) omdat jongere biggen gevoeliger zijn voor infecties. De gewichtstoenames in de tweede fase zijn significant verschillend ( $p = 0,0186$ ) en bedragen 344 gram en 371 gram voor respectievelijk de zuurgroep en de antibioticagroep, wat tevens resulteert in een significant hoger gewicht van de biggen op het einde van de tweede fase.

In de derde fase ziet men een ander verloop in vergelijking met de eerste twee fasen. De gewichtstoename is hier hoger voor de zuurgroep (niet significant). Mogelijk is het stopzetten van beide behandelingen op de gewichtstoename van de biggen een reden. Het behandelen van de biggen met antibiotica zorgt ervoor dat de schadelijke bacteriën hun werk niet kunnen doen. Daarnaast zorgt het gebruik van antibiotica voor een verlenging van de villi. Dit resulteert in een betere vertering en absorptie van de voedingsmiddelen (Vandenbussche, 2004). Hierdoor wordt dus een hogere gewichtstoename bekomen zolang antibiotica wordt gegeven. Wanneer de behandeling met antibiotica wegvalt, krijgen de schadelijke bacteriën terug de kans om de biggen negatief te beïnvloeden, wat resulteert in een lagere toename van gewicht. Dit werd ook aangetoond in een onderzoek van Estienne et al., (2005). In de eerste zeven dagen met het gebruik van antibiotica werd een hogere groei bekomen voor de antibioticagroep van 3,05 %. Na het stopzetten van antibiotica werd voor de antibioticagroep een lagere groei van 10,93 % vastgesteld. Een andere reden voor de ommekeer in de derde fase is mogelijk te verklaren door de waterkwaliteit (zie tabel 18). Het water aan de nippel bij de antibioticagroep is verontreinigd met enterobacteriën. Bij de zuurgroep is dit niet geval omdat deze enterobacteriën in de leiding vernietigd worden door het zuurmengsel. Zolang antibiotica aan de biggen wordt gevoerd ondervinden deze geen last van de enterobacteriën, omdat antibiotica net de schadelijke bacteriën afdood. Na het stopzetten van de behandeling met antibiotica kunnen de bacteriën dus resulteren in een negatieve invloed op de groei en voederopname van de biggen.

Over de volledige periode is zo goed als geen verschil waar te nemen tussen beide groepen ( $p = 0,8823$ ). Dit kan ook vaak uit de literatuur worden afgeleid. Tsiloyiannis et al., (2001) merkten bijvoorbeeld bij het gebruik van mierenzuur een hogere dagelijkse gewichtstoename van 33 gram op. Dit is gelijkaardig met onderzoek van Jonathan Paul Holt (2008) die bij het gebruik van tylosine een gewichtstoename van 25 gram vaststelde. Natuurlijk is het moeilijk om beide te vergelijken aangezien Selko pH een mengsel is van zuren, er vaak andere antibiotica werden gebruikt en bijvoorbeeld de proefomstandigheden verschillend zijn. Dit kan echter wel een indicatie geven waarom er weinig verschil is in deze resultaten. Het voeder voor beide groepen bevatte in de eerste fase 2.500 ppm zink, de mogelijke invloed van zink wordt daarom misschien onderschat. Uit verschillende studies waaronder die van Cromwell (2013) kon men een hogere gewichtstoename en een hogere dagelijkse voederopname vaststellen in vergelijking met de controle. Ook Jonathan Paul Holt (2008) kon dit in zijn onderzoek aantonen. Wanneer men de proeven had uitgevoerd zonder zink, kon men misschien niet tot dezelfde conclusie komen.

Ook voor de voederopname ziet men de grootste verschillen in de eerste twee fasen van de proef. In deze twee fasen is de voederopname voor de antibioticagroep hoger. Daarentegen ziet men in de derde fase een hogere voederopname voor de zuurgroep. De grote invloed van de derde fase op de volledige periode resulteert in een zo goed als gelijke voederopname over de volledige periode. Ook hier bevestigt de literatuur weinig verschillen. Mroz (2005) noteerde een hogere voederopname van 50 gram bij het gebruik van mierenzuur, bij het gebruik van tylosine in het onderzoek van Jonathan Paul Holt (2008) was dit 40 gram. Ook hier moeten deze cijfers gerelativeerd worden. Hetzelfde ziet men voorkomen wat betreft de voederconversie.

Wanneer men de zuurgroep apart bekijkt en vergelijkt met een proef die werd uitgevoerd door Selko pH waar biggen werden opgevolgd vanaf spenen tot vier weken na spenen, ziet men een dagelijkse gewichtstoename van 224 gram, een voederopname van 314 gram en een voederconversie van 1,40. In deze proef bekomt men op het einde van de tweede fase (na gemiddeld 31 dagen) een dagelijkse gewichtstoename van 238 gram en een voederopname van 275 gram wat resulteert in een voederconversie van 1,16. Hierdoor kan men besluiten dat Selko pH in deze proef de verwachte resultaten heeft opgeleverd. Om aan te tonen dat resultaten ook bedrijfsafhankelijk zijn werd in een andere proef van Selko pH bijvoorbeeld een voederopname vastgesteld die 0,2 % lager was in vergelijking met de controle.

Men ziet een gemiddelde antibioticareductie van 97,12 %. Tevens toont tabel 29 aan dat de technische resultaten bij de antibioticagroep niet altijd hoger liggen. Ook mag men niet vergeten dat in de eerste proef voor de zuurgroep zelfs een significant hogere ( $p = 0,0443$ ) gewichtstoename werd vastgesteld. Men mag dit echter niet veralgemenen, want volgens Jonathan Paul Holt (2008) is het effect bij het gebruik van antibiotica groter wanneer deze worden toegediend aan biggen die zijn gehuisvest in een verontreinigde stal in vergelijking met een gereinigde stal. Aangezien deze proeven werden uitgevoerd in een goed gereinigde ruimte kan dit een vertekend beeld geven. Belangrijk om te onthouden is dat het gebruik van antibiotica niet noodzakelijk hoeft te zijn en een reductie mogelijk is.



Voor de economische berekening ziet men dat een big bij de antibioticagroep 0,703 EUR minder oplevert in vergelijking met de zuurgroep. Men ziet dat het grootste verschil wordt gemaakt in de kost van de antibiotica. Men moet hier wel een kanttekening bij plaatsen. Bij de antibioticaproef werd bij iedere voederbeurt tot dag 27 de juiste hoeveelheid antibiotica aan het voeder toegevoegd. In praktijk gebeurt dit echter niet vaak, waardoor de meeropbrengst van 0,703 EUR/big voor de zuurproef in praktijk niet zal behaald worden. Wanneer men dit vergelijkt met een uitgevoerde proef van Selko pH waar zuur werd toegediend aan de biggen tot een gewicht van 12,2 kg in vergelijking met een controleproef, ziet men een meeropbrengst van 0,12 EUR/big. Wanneer men voor deze proef de kosten voor antibiotica hierbij optelt zou de meeropbrengst van 0,703 EUR/big een logische uitkomst kunnen zijn.

Om deze resultaten meer statistisch te onderbouwen had het misschien beter geweest de tweede proef met minder biggen uit te voeren, maar wel een individuele weging uit te voeren zoals in de eerste proef. Het zou aangeraden zijn om ook de voederopname per big individueel te bepalen, maar in de praktijk is dit zo goed als onmogelijk.

Wanneer men deze resultaten bekijkt kan men zich misschien afvragen of het preventief gebruik van antibiotica bij biggen na spenen een noodzaak is. Misschien is het meer aangewezen om antibiotica te gaan gebruiken op het moment dat het nodig is. Dit vraagt echter een aanpassing in het management van de landbouwers, er moet veel meer controle worden uitgevoerd op de gezondheid van de biggen. Landbouwers gebruiken vaak antibiotica omdat dit zekerheid geeft op de gezondheid van de biggen. Ze zien antibiotica als een investering op goede resultaten van hun biggen. Uit deze resultaten blijkt dat het met veel minder antibiotica ook mogelijk is en dat zo goed als gelijke zoötechnische behaald worden. Dit laatste moet echter zoals eerder aangegeven genuanceerd worden omdat bedrijfsafhankelijkheid hier een belangrijke factor is (Van Lunen, 2003).

## 8. BESLUIT

Tabel 34: Gemiddelde resultaten

<b>Gem. Cijfers</b>	<b>Zuurgroep (gram/dag)</b>	<b>Antibioticagroep (gram/dag)</b>
<b><u>Groei</u></b>		
<i>Fase 1</i>	105,77	119,01
<i>Fase 2</i>	344,44	371,45
<i>Fase 3</i>	527,89	502,80
<i>Volledige periode</i>	360,63	361,86
<b><u>Voederopname</u></b>		
<i>Fase 1</i>	191,52	208,21
<i>Fase 2</i>	513,77	539,09
<i>Fase 3</i>	814,76	788,46
<i>Volledige periode</i>	558,73	559,43
<b><u>Voederconversie</u></b>		
<i>Fase 1</i>	1,81	1,75
<i>Fase 2</i>	1,49	1,45
<i>Fase 3</i>	1,54	1,57
<i>Volledige periode</i>	1,55	1,55
<b><u>Begingewicht</u></b>		
	6,34	6,40
	<b>gram/big</b>	<b>gram/big</b>
<b><u>Antibioticagebruik</u></b>		
	0,459	15,825
<i>Totaal amoxicilline 70 %</i>	0,302	7,408
<i>Totaal doxycycline 75 %</i>	0,139	0,744
<i>Totaal apralan</i>	0,000	7,667
<i>Totaal floxaline</i>	0,013	0,004
<i>Totaal draxxin</i>	0,004	0,002
<b><u>Relatie groei, begingewicht</u></b>		
	Groei verklaard door begingewicht	
<i>Fase 1</i>	0,22%	12,00%
<i>Fase 2</i>	0,70%	10,30%
<i>Fase 3</i>	3,20%	0,80%
<i>Volledige periode</i>	3,10%	6,60%
<b><u>Sterfte</u></b>		
	1,63%	0,50%

In tabel 34 ziet men de gemiddelde resultaten voor groei, voederopname, voederconversie, begingewicht, antibioticagebruik, relatie groei en begingewicht en de sterfte. Dit zijn gemiddeldes voor beide proeven die zijn uitgevoerd.

Zoals men kan zien is de dagelijkse gewichtstoename in de eerste twee fasen hoger voor de antibioticagroep, respectievelijk 11,22 % en 7,27 %. Mogelijke reden voor deze hogere groei van 11,12 % en 7,27 % is terug te vinden onder 2.1.5. In de eerste fase wordt voor de antibioticagroep 12,00 % van de groei verklaard door het begingewicht, terwijl dit bij de zuurgroep slechts 0,22 % is. De biggen van de antibioticagroep hebben een hoger begingewicht, wat dus de mogelijke oorzaak kan zijn van de hogere groei in de eerste fase. Ook in de tweede proef wordt voor de antibioticagroep de groei meer verklaard door het

begingewicht (10,30 % t.o.v. 0,70 %). In de tweede fase zijn de gewichtstoenames significant verschillend ( $p = 0,0186$ ) en bedragen 344,436 gram en 371,446 gram voor respectievelijk de zuurgroep en antibioticagroep. Dit resulteert in een significant hoger ( $p = 0,0258$ ) gewicht voor de antibioticagroep. In de derde fase ziet men een ommekeer in de dagelijkse gewichtstoename. In deze fase is de gewichtstoename voor de zuurgroep 5,00 % hoger in vergelijking met de antibioticagroep (geen significant verschil). Mogelijke reden kan het gezocht worden door de invloed van het stopzetten van beide behandelingen op de gewichtstoename van de biggen. Andere oorzaken zijn het wegvallen van antibiotica zodat de pathogenen terug hun werk kunnen doen en zo een negatieve invloed uitoefenen. Daarnaast kan ook de waterkwaliteit hier een invloed op uitoefenen. Over de volledige periode ziet men echter zo goed als geen verschil tussen de dagelijkse gewichtstoename bij de zuurgroep en antibioticagroep.

Wat betreft de voederopname kan men besluiten dat net als bij de dagelijkse gewichtstoename een hogere voederopname werd bekomen voor de antibioticagroep in de eerste twee fasen. Tevens is hierbij het verschil groter in de eerste fase in vergelijking met de tweede fase, met respectievelijk 8,12 % en 4,7 %. In de derde fase is de voederopname voor de antibioticagroep 3,33 % hoger. Door de hoge invloed van de derde fase op de totale voederopname ziet men dat het verschil in totale voederopname zo goed als te verwaarlozen is. Ook hier bevestigt de literatuur weinig verschillen.

Het verschil tussen de voederconversies is ook het hoogst in de eerste fase. De zuurgroep heeft een hogere voederconversie van 3,43 %. In de tweede fase daalt dit verschil tot 2,76 %. Logischerwijze is ook hier een ommekeer in de derde fase. De voederconversie voor de zuurgroep is hier 1,91 % lager in vergelijking met de antibioticagroep. Ook voor de voederconversie is over de volledige periode het verschil te verwaarlozen. De voederconversie voor de zuurgroep is 0,22 % hoger.

Wanneer men verder het antibioticagebruik vergelijkt, ziet men een duidelijk verschil. In de zuurgroep was slechts 0,459 gram/big nodig om bovenstaande technische resultaten te behalen, terwijl dit in de antibioticagroep 15,825 gram was. Hierdoor bekomt men een aanzienlijke reductie van 97,1 %. Ondanks de aanzienlijke vermindering van antibioticagebruik zijn er weinig verschillen waar te nemen in de technische resultaten.

Men kan verder nog bekijken welke antibiotica het vaakst werden gebruikt. Voor de zuurgroep is dit amoxicilline 70 % met een hoeveelheid van 0,302 gram/big. Daarna komt doxycycline 75 % met 0,140 gram/big. Floxaline en draxxin werden enkel in de eerste proef gebruikt en komen dus in beperkte hoeveelheden voor, respectievelijk 0,013 en 0,004 gram/big. In de tweede proef werd apralan met 7,667 gram/big het vaakst gebruikt. Daarnaast werd per big 7,408 gram amoxyilline gebruikt. In minder mate werd doxycycline gebruikt, dit was 0,744 gram/big. In vergelijking met de zuurgroep werd nog minder gebruikt gemaakt van floxaline en draxxin met respectievelijk 0,004 en 0,002 gram/big.

Een ander belangrijk punt is de relatie tussen de groei en begingewicht bij de zuurgroep en antibioticagroep. In tabel 34 onderaan staat weergegeven voor welk percentage de groei kan verklaard worden door het begingewicht. Wanneer men deze tabel bekijkt ziet men dat in de eerste fase voor de zuurgroep slechts 0,22 % van de groei door het begingewicht verklaard wordt, terwijl dit voor de antibioticagroep 12,00 % is. Hieruit kan men besluiten dat het begingewicht in de eerste fase bij het gebruik van zuur zo goed als geen invloed heeft op de groei. Dit is een belangrijk gegeven in de toekomst aangezien de speengewichten steeds lager zullen worden door de grotere tomen. Bij de antibioticagroep is het begingewicht dus veel belangrijker. Zelfs in de tweede fase (er wordt nog steeds zuur gegeven aan de biggen) is dit percentage met 0,70 % voor de zuurgroep nog steeds lager in vergelijking met de 10,30 % van de antibioticagroep. In de derde fase ziet men ook hier een ommekeer. Voor de zuurgroep bedraagt de verklaring van de groei door het begingewicht nu 3,20 %, terwijl dit voor de antibioticagroep 6,60 % is. Over de volledige periode ziet men dat de groei voor 3,10 % en 6,60 % door het begingewicht kan verklaard worden voor respectievelijk de zuurgroep en antibioticagroep. Wanneer men er hier de begingewichten bij betreft van respectievelijk 6,34 kg en 6,40 kg, ziet men de mogelijke verklaring voor de iets hogere groei van de antibioticagroep in de eerste twee fasen.

De sterfte is zowel voor de zuurgroep en antibioticagroep laag. Deze bedragen respectievelijk 1,63 % en 0,50 %. Het verschil tussen beide groepen is dus zo goed als te verwaarlozen. Hieruit kan men tevens concluderen dat het gebruik van antibiotica niet noodzakelijk hoeft te zijn op dit bedrijf.

Verder is het nog interessant om te vermelden dat over de volledige periode in de eerste proef de groei van de baren 4,3 % hoger was dan de zeugen.

Uiteindelijk kan men besluiten dat zowel voor groei, voederopname, en voederconversie de verschillen zo goed als te verwaarlozen zijn. Tevens ziet men telkens hetzelfde terugkomen, een hogere gewichtstoename en voederopname en een betere voederconversie in de eerste twee fasen bij de antibioticagroep waarbij het verschil in de eerste fase hoger is. In de derde fase doet de zuurgroep het op alle parameters beter. Door de grote invloed van de derde fase op de totale resultaten bekomt men zo goed als gelijke zoötechnische resultaten. Tevens mag men niet vergeten dat in de eerste proef de gewichtstoename voor de zuurgroep significant hoger was in vergelijking met de antibioticagroep. Men kan dus besluiten dat men zo goed als gelijke technische resultaten bekomt, met een gemiddelde reductie van antibioticagebruik van 97,1% en een sterfte die 1,13 % hoger ligt in vergelijking met de antibioticagroep. Na het in rekening brengen van alle kosten en opbrengsten resulteert de zuurproef in een meeropbrengst van 0,703 EUR/big. Ondanks de gelijklopende technische resultaten levert het gebruik van zuren toch een meeropbrengst op voor de landbouwer. Aangezien de reductie van antibiotica zich opdringt in de toekomst, behoort het gebruik van zuren zeker tot de mogelijkheden.

Tot slot moet men zeker weten dat deze resultaten een groot deel bedrijfsafhankelijk zijn. Op dit bedrijf behaalde men met zuur goede resultaten, maar dezelfde proef op een ander bedrijf zou echter andere resultaten kunnen opleveren. Toch is er een positieve trend op het gebruik van zuren als reductiemiddel voor antibiotica. In de toekomst is bijkomend onderzoek zeker een noodzaak om tot een eenduidig besluit te komen en te kunnen zeggen of zuren nu inderdaad antibiotica kunnen vervangen en zo kunnen bijdragen aan de doelstellingen van het AMCRA tegen 2020.

## 9. BIJLAGEN

### Literatuurlijst

- AARESTRUP, F. M., CAVACO, L., HASMAN, H. (2010). Decreased susceptibility to zinc chloride is associated with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in Danish swine. *Vet. Mic.* 142: 455-457.
- AARESTRUP, F. M., HASMAN, H. (2004). Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Vet. Mic.* 100: 83-89.
- AARESTRUP, F.M., E.M. NIELSON, M. MADSEN, EN J. ENGBERG (1997). Antimicrobial susceptibility patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. from humans, pigs, cattle, and broilers in Denmark. *Antimicrob. Agents Chemo.* 41: 2244 – 2250.
- ABO – AMER, A. E., MOHAMED, R. M. (2006). Heavy metals resistant plasmid-mediated utilization of solar by *Pseudomonas aeruginosa* AA301. *Rom. Arch. Microbiol. Immunol.* 65: 113-119.
- ADEOLA, O., KING, D. E. (2006). Developmental changes in morphometry of the small intestine and jejunal sucrose activity during the first nine weeks of postnatal growth in pigs. *Journal of Animal Science.* 84: 112 – 118.
- AGUDELO, J.H., M.D. LINDEMANN, G.L. CROMWELL, M. C. NEWMAN, EN R. D. NIMMO. (2007). Virginiamycin improves phosphorus digestibility and utilization by growing – finishing pigs fed a phosphorus – deficient, corn – soybean meal diet. *J. Anim. Sci.* 85: 2173 – 2182.
- AMCRA. (2013). Het gebruik van zinkoxide (ZnO) bij gespeende biggen in België ter preventie van speendiarree.
- ANDERSON, A. D, J. M. NELSON, S.ROSSITER? EN F. J. ANGULO (2003). Public health consequences of use antimicrobial agents in food animals in United States. *Micro. Drug Resist.* 9: 373 – 379.
- ANDERSON, A.D, J.M. NELSON, S; ROSSITER, EN F.J. ANGULO (2003). Public health consequences of use of antimicrobial agent in food animals in the United States.
- ANON (2005). Advantages of controlled fermented liquid feed. *Pig Progress*, 14 – 6.
- BACH KNUDSEN, K. E. (2001). Development of antibiotic resistance and options to replace antimicrobials in animal diets. *Proceedings of the Nutrition Society.* 60: 291 – 299.
- BARROW, PA., FULLER, R., NEWPORT, MJ (1977). Changes in the microflora and physiology of the anteriorintestinal tract of pig weaned at 2 days with special reference to the pathogenesis of diarrhea. *Infect. Immun.* 18: 586 – 595.
- BASMACIOGLU MALAYOGLU, H., BAYSAL, S., MISTRIOGLU, M., POLAT, H., YILMAZ, N., TURAN, N. (2010). Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on a wheat – soybean meal diets. *Brit. Poult. Sci.* 52: 67 – 80.
- BEAL, J.D., NIVEN, S.J., BROOKS, P.H. EN GILL, B.P (2005). Variation in short chain fatty acid and ethanol concentration resulting from the natural fermentation of wheat and barley for inclusion in liquid diets for pigs. *J. Sci. Food Agric.* 85, 433 – 440.
- BEAL, J.D., NIVEN, S.J., CAMPBELL, A., BROOKS, P.H (2002). The effect of temperature on the growth and persistence of *Salmonella* in fermented liquid pig feed. *Int. J. Food. Microbiol.* 79, 99 – 104.
- BEMEFA. (2013). Convenant zink.

- BERGEVOET. (2013). Analyzing antibiotic use in Dutch livestock sectors using panel data, Poster presentation at the 13th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Maastricht.
- BIAGI, G., AND PIVA, A. (2007). In vitro effects of some organic acids on swine cecal microflora. Italian Journal of Animal Science. Vol 6, No 4, pp. 361 – 374, ISSN 1594 – 4077.
- BIAGI, G., PIVA, A., MOSCHINI, M., VEZZALI, E., AND ROTH, F. (2007). Performance, intestinal microflora, and wall morphology of weanling pigs fed sodium butyrate. Journal of Animal Science, Vol. 85, No. 5, pp. 1184 – 1191, ISSN 0021 – 8812.
- BIKKER, P. (2012). Copper and zinc in diets of growing pigs: New insights in requirements. Productschap Diervoeder, Themabijeenkomst “ koper en zink in de varkenshouderij”.
- BLANCHARD, P. J., TOPLIS, P., TAYLOR, L., AND MILLER, H. M. (2000). Liquid diets fed prior to weaning enhance performance of weaned piglets. In: Proceedings of the British Society of Animal Science. p. 119.
- BLANK, R., MOSENTHIN, R., SAUER, WC., HUANG, S (1999). Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on heal and fecal amino acid digestibilities in early – weaned pigs. J. Anim. Sci. 77: 2974 – 2984.
- BOSI, P., SARLI, G., CASINI, L., DE FILIPPI, S., TREVISI, P., MAZZONI, M., AND MERIALDI, G. (2005). Effect of dietary addition of free or fat – protected calcium formate on growth, intestinal morphology and health of *Escherichia coli* K88 challenged weaning pigs. Italian Journal of Animal Science, Vol. 4, No.2, pp. 452 – 454, ISSN 1594 – 4077.
- BOSI, P., SARLI, G., CASINI, L., DE FILIPPI, S., TREVISI, P., MAZZONI, M., AND MERIALDI, G. (2007). The influence of fat protection of calcium formate on growth and intestinal defence in *Escherichie coli* K88 – challenged weanling pigs. Animal Feed Science and Technology, Vol. 139, No. 9, pp. 170 – 185, ISSN: 0377 – 8401.
- BOSI,P., JUNG, HJ., HAN, K., PERINI, S., CACCIAVILLANI, JA., CASINI, L., CRESTON, D., GREMOKOLINI, C., MATTUZZI, S (1999). Effects of dietary buffering characteristic and protected of unprotected acids on piglet growth, digestibility and characteristics of gut content. Asian – Aust. J. Anim. Sci. 12(7): 1101 – 1110.
- BOUDRY, G., GUERIN, S., MALBERT, C. H. (2004a). Effect of an abrupt switch from a milkbased to a fibre based diet on gastric emptying rates in pigs: difference between origins of fibre. British Journal of Nutrition. 92: 913 – 920.
- BOUDRY, G., PERON, V., LE HUEROU – LURON, I., LALLES, J. P., SEVE, B. (2004b). Weaning induces both transient and long – lasting modification of absorptive, secretory, and barrier properties of piglet intestine. The Journal of Nutrition. 134: 2256 – 2262.
- BOZKURT, M., KÜÇUKYILMAZ, A. U., CATLIL, M., CINAR, M., CABUK, M., AND ALCICEK, A. (2012). Effects of administering an essential oil mixture and an organic acid blend separately and combined to diets on broiler performance. Arch. Geflügelk. 76: 81 – 87. ISSN 0003 – 9098.
- BROOKS, P. H., BEAL, J.D., NIVEN, S (2001). Liquid feeding of pigs: potential for reducing environmental impact and for improving productivity and food safety. Recent Adv. Anim. Nutr. Aust. 13, 49 – 63.
- BROOKS, P.H. (2003). Liquid feeding as a means to promote pig health. London Swine Conference: Maintaining your competitive edge. 83 – 103.
- BROOKS, P.H. (2008). Fermented liquid feed for pigs. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science. Nutrition and Natural Resources. 3,1 – 18.

- BROOKS, P.H., BEAL, J.D., NIVEN, S (2003a). Liquid feeding of pigs. Potential for reducing environmental impact and for improving productivity. Animal science papers and Reports 21, supplement 1, 7 – 22.
- BROOKS, P.H., BEAL, J.D., NIVEN, S., DEMECKOVA, V (2003b). Liquid feeding of pigs. Potential for improving pig health and food safety. Animal science papers and reports. Presented at the conference: Effect of genetic and non – genetic factors on carcass and meat quality of pigs. 21: 23 – 39.
- BROOKS, PH., MORAN, CA., BEAL, JD., DEMECKOVA, V., CAMPBELL, A (2001). Liquid feeding for the young piglet. In the weaner pig: nutrition and management. Pp. 153 – 178 (MA Varley and J. Wiseman, editors). Wallingford. Oxon: CAB International.
- BROOM, L. J., MILLER, H. M., KERR, K. G., AND KNAPP, J. S. (2006). Effects of zinc oxide and Enterococcus faecium SF 68 dietary supplementation on the performance, intestinal microbiota and immune status of weaned piglets. Res. Vet. Sci. 80: 45 – 54.
- BRUININX, E. M. A., BINNENDIJK, G. P., VAN DER PEET SCHWERING, M. C., SCHRAMA, J. W., DEN HARTOG, L. A., EVERTS, H., AND BEYNEN, A. C. (2002). Effect of feed consumption on individual feed intake characteristics and performance of group – housed weanling pigs. J. Anim. Sci. 80: 1413 – 1418.
- BRUMM, M. C., ELLIS, M., JOHNSTON, L. J., ROZEBOOM, D. W., ZIMMERMAN AND THE NCR – 89 COMMITTEE ON SWINE MANAGEMENT (2001). Interaction of swine nursery and grow – finish space allocation on performance. J. Anim. Sci. 79: 1967 – 1972.
- BÜHLER, K., BUCHER, B., WENK, C., AND BROZ, J. (2009). Influence of benzoic acid in high fibre diets on nutrient digestibility and VFA production in growing / finishing pigs. Archives of Animal Nutrition, Vol. 63, No. 2, pp. 127 -136, ISSN 1477 – 2817.
- BUNKOVA, L., BUNKA, F., JANIS, R., KREJCI, J., DOLEZALKOVA, I., POSPISIL, Z., RUZICKA, J., TREMLOVA, B. (2011). Comparison of antibacterial effect of seven 1 – monoglycerides on food – borne pathogens or spoilage bacteria. Acta Veterinaria. 80: 29 – 39.
- BUNNER, C. A., B. NORBY, P.C. BARTLETT, R.J. ERSKINE, F.P. DOWNES, EN J.B. KANEENE (2007). Prevalence and pattern of antimicrobial susceptibility in *Escherichia coli* isolated from pigs reared under antimicrobial – free and conventional production methods. J. Am. Vet. Med. Assoc. 231: 275 – 283.
- CALLENS, B., PERSOONS, D., MAES, D., LAANEN, M., POSTMA, M., BOYEN, F., HAESEBROUCK, F., BUTAYE, P., CATRY, B., DEWULF, J. Prophylactic and metaphylactic antimicrobial use in Belgian fattening pig herds. Preventive Veterinary Medicine. 106: 53 – 62.
- CALLESEN, J., HALAS, D., THORUP, F., BACH KNUDSEN, K. E., KIM, J. C., MULLAN, B. P., HAMPSON, D. J., WILSON, R. H., PLUSKE, J. R. ( 2007). The effects of weaning age, diet composition, and categorization of creep feed intake by piglets on diarrhea and performance after weaning. Livestock Science. 120 – 123.
- CANIBE, N., HOJBERG, O., BADSBERG, J. H., JENSEN, B.B (2007a). Effect of feeding fermented liquid feed and fermented grain on gastrointestinal ecology and growth performance in piglets. Journal of Anim. Sci. 85: 2959 – 2971.
- CANIBE, N., JENSEN, B.B (2003). Fermented and nonfermented liquid feed to growing pigs: effect on aspects of gastrointestinal ecology and growth performance. J. Anim. Sci. 81: 2019 – 2031.
- CANIBE, N., STEIEN, SH., OVERLAND, M., JENSEN, BB (2001). Effect of K – diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglet, and on gastric alterations. J. Anim. Sci. 79: 2123 – 2133.



- CANIBE, N., VIRTANEN, E., JENSEN, B.B (2007). Microbial and nutritional characteristics of pig liquid feed during fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 134: 108 – 123.
- CANIBE, N., PEDERSEN, A. O., JENSEN, B. B. (2010). Impact of acetic acid concentration of fermented liquid feed on growth performance of piglets. Volume 133. Pages 117 – 119.
- CARSTENSEN, L., KJAER, A., JENSEN, K. H., NIELSEN, J. P. (2005). *Escherichia coli* post – weaning diarrhoea occurrence in piglets with monitored exposure to creep feed. *Vet. Microbiol.* 110: 113 – 123.
- CASTILLO, M., MARTIN – ORUE, S. M, NOFRARIAS, M., MANZANILLA, E. G., GASA, J. (2007). Changes in caecal microbiota and mucosal morphology of weaned pigs. *Veterinary Microbiology*. 124: 239 – 247.
- CASTRO, M. (2005). Use of additives on the feeding of monogastric animals. *Cuban Journal of Agricultural Science* 39, p.439, ISSN 0253 – 5815.
- CATRY, B., H. LAEUVENS, L. A. DEVRIESE, G. OPSOMER, EN A. DE KRUIF (2003). Antimicrobial resistance in livestock. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 26: 81 – 93.
- CHAVEERACH, P., KEUZENKAMP, D. A., URLINGS, H. A. P., LIPMAN, J. A., AND VAN KNAPEN, F. (2002). In vitro study on the effect of organic acids on *Campylobacter jejuni* / coli populations in mixtures of water and feed. *Poultry Science*, Vol. 81, No.5, pp. 621 – 628, ISSN 1537 – 0437.
- CLAY, S. A., LIU, Z., THALER, R., KENNOUCHE, H. (2005). Tylosin sorption to silty clay loam soils, swine manure, and sand. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 40: 841-850.
- COLE, D.J.A., R., M. BEAL AND J. R. LUSCOMBE (1968). The effect on performance and bacterial flora of lactic acid, propionic acid, calcium propionate and calcium acrylate in the drinking water of weaned pigs. *Veterinary Record* 459 – 464.
- COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE (2009). Revised reflection paper on the use of 3rd and 4th generation cephalosporins in food producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health, European medicines agency.
- CONWAY, P. L. (1997). Development of intestinal microbiota. *Gastrointestinal microbes and host interactions*. *Gastrointestinal Microbiol*, Vol 2. Chapman and Hall, London.
- COTTER, P. D., AND HILL, C. (2003). Surviving the acid test: responses of gram – positive bacteria to low pH. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67: 429 – 453.
- COX JR., L. A. (2005). Potential human health benefits of antibiotics used in food animals: a case study of virginiamycin. *Environment International*. 31: 549-563.
- CRANWELL, P.D (1995). Development of the neonatal gut and enzyme systems. In: Varley, M.A. (Ed.), *The Neonatal Pig: Development and Survival*. 99 – 154.
- CREUS, E., PEREZ, J. F., PERALTA, B., BAUCCELLS, F., AND MATEU, E. (2007). Effect of acidified feed on the prevalence of *Salmonella* in market – age pigs. *Zoonoses and Public Health*, Vol. 54, No 8, pp. 314 – 319, ISSN 1863 – 2378.
- CROMWELL, G. (2002). Why and how antibiotics are used in swine production. *Animal Biotechnology*. 13: 7 – 27.
- CROMWELL, G. L. (1991). Antimicrobial agents. In *Swine nutrition*. Stoneham, MA, 297.
- CROMWELL, G. L. (2002). Why and how antibiotics are used in swine production. *Anim. Biotech.* 13: 7 – 27.
- CROMWELL, G.L. (2001). Antimicrobial and promicrobial. In: *Swine Nutrition*, 2nd Ed., A. J. Lewis en L. L. Southern (EDS.), CRC Press, Washington, D. C. pp. 401 – 426.

- CUNHA, T. J., BURNSIDE, J. E., MEADOWS, G. B., EDWARDS, H. M., BENSON, R. H., PEARSON, A. M., AND CLASSOCK, R. S. (1950). Effect of APF supplement on efficiency of feed utilization for the pig. *Journal of Animal Science*. 9: 615.
- DANIELS, C. N. (1983). Control of post – weaning diarrhea in pigs by water acidification. *Mod. Vet. Pract.* 64: 1004 – 1005.
- DAVIDSON, P. M. (2001). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. Chap 29. : 593 – 627.
- DE BUSSEER, E. V., DEWULF, J., DE ZUTTER, L., HAESEBROUCK, F., CALLENS, J., MEYNS, T., MAES, W., MAES, D. (2011). Effect of administration of organic acids in drinking water on faecal shedding of *E. coli*, performance parameters and health in nursery pigs. *The Veterinary Journal* 188: 184 – 188.
- DELSOL, A. A., L. RANDALL, S. COOLES, M. J. WOODWARD, J. SUNDERLAND, EN J. M. ROE. (2005). Effect of the growth promoter avilamycin on emergence and persistence of antimicrobial resistance in enteric bacteria in the pig. *Journal of Applied Microbiology*. 98: 564 – 571.
- DESAI, D., PATWARDHAN, D., RANADE, A (2007). Acidifiers in poultry diets and poultry production. In: *Acidifiers in animal nutrition – A guide for feed preservation and acidification to promote animal performance*, ed. Luckstadt C) pp. 63 – 69. Nottingham University Press, Nottingham.
- DGZ VIAANDEREN (2012). Onderzoek naar pathogenen betrokken bij speendiarree bij biggen in Vlaanderen. *Veepeiler Varken*.
- DIBNER, J. J., AND BUTTIN, P. (2002). Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *J. Appl. Poult. Res.* 11: 453 – 463.
- DIBNER, J. J., EN RICHARDS, J. D. (2005). Antibiotica growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science* 84 (4): 634 – 643.
- DONG YONG KIL (2011). Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. Department of animal Science and Technology, Chung – Ang University Anseong. GyeonGi – Do: 456 – 756.
- DOPPENBERG, J., VAN DER AAR, P. (2010). Gut physiology in pigs around weaning: recent findings and implications for rearing practice. *Dynamics in animal nutrition*. Wageningen Academic Publishers.
- DOURMAD, J. Y., JONDREVILLE, C. (2007). Improvement of balance of trace elements in pig farming systems. *Pancosca Symposium*.
- DOYLE, ME (2001). Alternatives to antibiotic use for growth promotion in animal husbandry. *Food research*. April: 1 – 17.
- DUNG, N. N. X., MANH, L.H., OGLE, B. (2005). Effects of fermented liquid feeds on the performance, digestibility, nitrogen retention and plasma urea nitrogen (PUN) of growing – finishing pigs. *Livestock Res. Rural Dev.* 17, 102.
- DURIEZ, P EN TOPP, E. (2007). Temporal dynamics and impact of manure storage on antibiotic resistance patterns and population structure of *Escherichia coli* isolates from a commercial swine farm. *Applied and Environmental Microbiology*. 73: 5486 – 5493.
- DYBKJAER, L., JACOBSEN, A. P., TOGERSEN, F. A., POULSEN, H. D. (2006). Eating and drinking activity of newly weaned piglets: effects of individual characteristics, social mixing, and addition of extra zinc to the feed. *Journal of Animal Science*. 84: 702 – 711.
- ECKEL, B., KIRCHGESNNER, M., ROTH, FX. (1992). Influence of formic acid on daily weight gain, feed intake, feed conversion rate and digestibility. 1. The nutritive value of organic acids in the rearing of piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1992. 62: 93 – 100.
- EIDELSBURGER, U., ROTH, FX., KIRCHGESSNER, M. (1992). Influence of formic acid, calcium formate and sodium bicarbonate on daily weight gain, feed intake, feed conversion rate and digestibility. 7. Nutritive value of organic acids in piglet rearing. *J. Anim. Physiol. Anim.* 67: 258 – 267.

- EISEMANN, J. H., AND VAN HEUGTEN, E. (2007). Response of pigs to dietary inclusion of formic acid and ammonium formate. *Journal of Animal Science*. 85: 1530 – 1539.
- ESTIENNE, J. M., HARTSOCK, T. G., HARPER, A. F. (2005). Effect of antibiotics and probiotics on suckling pig and weaned pig performance. Department of Animal and Poultry Sciences. *Intern J. Appl. Res. Vet. Med.* Vol 3, No. 4.
- FAIRBROTHER, J.M., NADEAU, E., GYLES, C. L (2005). *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim. Health Res. Rev.* 6: 17 – 39.
- FAN, M. Z., ADEOLA, O., ASEM, E. K., KING, D. (2002). Postnatal ontogeny of kinetics of porcine jejunal brush border membrane – bound alkaline phosphatase, aminopeptidase N and sucrose activities. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular and Integrative Physiology*. 132: 599 – 607.
- FAVIER, C. F., VAUGHAN, E. E., DE VOS, W. M., AND AKKERMANS, A. D. (2002). Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 219 – 226.
- FEVRIER, C., GOTTERBARM, G., JAGHELIN – PEYRAUD, Y., LEBRETON, Y., LEGOUEVEC, F., AUMAITRE, A. (2001). Effects of adding potassium diformate and phytase excess for weaned piglet. In: *Digestive physiology of pigs*, Ed. by Lindberg J. E., Ogle, B., CABI publishing, pp 136 – 138.
- FOSTER, J. W. (1995). Low pH adaptation and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *Crit. Rev. Microbiol.* 21: 215 – 237.
- FRANCO, L. D., FONDEVILA, M., LOBERA, M. B., AND CASTRILLO, C. (2005). Effects of combinations of organic acids in weaned pig diets on microbial species of digestive tract contents and their response on digestibility. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Vol. 89, no. 3 – 6, pp. 88 – 93, ISSN 1439 – 0396.
- FRANKLIN, M.A., MATHEW, A.G., VICKERS, J.R., CLIFT, R.A (2002). Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. *J. Anim. Sci.* 80: 2904 – 2910.
- FREMAUT, D. (2012). *Varkensvoeding*. Cursus. Hogeschool Gent. Department BIOT 2013 – 2014, 265 blz.
- FULLER, R (1977). The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *Br. Pout. Sci.* 18: 89 -94.
- GALFI, P., BOKORI, J (1990). Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n – butyrate. *Acta. Vet. Hung.* 38: 3 – 17.
- GASKINS, H. R., C. T. COLLIER, EN D. B. ANDERSON (2002). Antibiotics as growth promotants: Mode of action. *Animal Biotechnology*. 13: 29 – 42.
- GEBREYES, W.A., S. THAKUR, EN W.E.M. MORROW (2005). *Campylobacter coli* : prevalence and antimicrobial resistance in antimicrobial – free (ABF) swine production systems. *J. Antimicrob. Chemo.* 56: 765 – 768.
- GERRITSEN, R., VAN DIJK, A. J., RETHY, K., BIKKER, P. (2010). The effect of blends of organic acids on apparent faecal digestibility in piglets. *Livestock Science*. 134: 246 – 248.
- GIESTING, DW., EASTER, RA (1985). Response of starter pigs to supplementation of corn soybean meal diets with organic acids. *J. Anim. Sci* 60: 1288 – 1294.
- GLATZ, P. C. (2001). Effect of cool drinking water on feed intake and shell quality of laying hens in summer. *Asian – Australian Journal of Animal Science*.
- GOEMINNE, S. (2010). *Bedrijfsreportage: Piggy – Saver*. *Quartes Pig – info*. Nr. 1 2010.

- GRAVES, A. K., HAGEDORN, C., TEETOR, A., MAHAL, M., BOOTH, A. M., AND RENEAU, R. B. (2002). Antibiotic resistance profiles to determine sources of fecal contamination in a rural Virginia watershed. *J. Environ. Qual.* 31: 1300-1308.
- GRILLI, E., MESSINA, MR., TEDESCHI, M., PIVA, A (2010). Feeding a microencapsulated blend of organic acids and nature identical compounds to weaning pigs improved growth performance and intestinal metabolism. *Livest. Sci.* 133: 173 – 175.
- GUGGENBUHL, P., SOON, A., QUINTANA, A. P., NUNES, C. S. (2007). Effects of dietary supplementation with benzoic acid on the zootechnical performance, the gastrointestinal microflora en the ileal digestibility of the young pig. *Livest. Sci.* 108: 218 – 221.
- HALAS, D., HANSEN, CF., HAMPSON, DJ., MULLAN, BP., KIM, JC., WILSON, RH., PLUSKE, JR (2010). Dietary supplementation with benzoic acid improves apparent ileal digestibility of total nitrogen and increases villous height and caecal microbial diversity in weaner pigs. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 160: 137 – 147.
- HANSEN, C. F., KNUDSEN BACH, K. E., JENSEN, B. B. (2004). The stomach as a barrier against *Salmonella* in finishers fed with coarsely ground meal feed. Vol. 661. The National Committee for Pig Production. Danish Bacon and Meat Council
- HANSEN, C. F., RIIS, A. L., BRESSON, S., HOJBJERG, O., JENSEN, B. B. (2007). Feeding organic acids enhances the barrier function against pathogenic bacteria of the piglet stomach. *Livestock Science* 108: 206 – 209.
- HARADA, E., KIRIYAMA, H., KOBAYASHI, E., TSUCHITA, H (1988). Postnatal development of biliary and pancreatic exocrine secretion in piglets. *Comparative Biochem. Physiol.* 91: 43 – 51.
- HARADE, E. M., NIIYAMA, M., SYUTO, B. (1986). Comparison of pancreatic exocrine secretion via endogenous secretin by intestinal infusion of hydrochloric acid and monocarboxylic acid in anaesthetized piglets. *Jpn. J. Physiol.* 36: 843 – 856.
- HARDY, B. (2000). The issue of antibiotic use in the livestock industry. What have we learned? *Anim. Biotechnol.* 13: 129 – 147.
- HARDY, B. (2002). The issue of antibiotic use in the livestock industry: what have we learned? *Anim. Biotech.* 13: 129 – 147.
- HEDEMANN, M. S., HOJSGAARD, S., JENSEN, B. B. (2003). Small intestinal morphology and activity of intestinal peptidases in piglets aroud weaning. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 87: 32 – 41.
- HEDEMANN, M. S., JENSEN B. B. (2004). Variations in enzyme activity in stomach and pancreatic tissue and digesta in piglets aroud weaning. *Archives of Animal Nutrition.* 58: 47 – 59.
- HEDEMANN, M. S., JENSEN, B. B., POULSEN, H. D. (2006). Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. *Journal of Animal Science.* 84: 3310 – 3320.
- HENDERSON, R., AND HUGHES, P. E. (1984). The effect of partial weaning, movement and boar contact on the subsequent reproductive performance of lactating sows. *Anim. Prod.* 39: 131 – 135.
- HEO, J. M., OPAPEJUL, F. O., PLUSKE, J. R., KIM, J. C., HAMPSON, D. J., AND NYACHOTI, C. M. (2013). Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post – weaning diarrhea without using in – feed antimicrobial compounds. *Journal of animal physiology and animal nutrition.*
- HILL, G. M., MAHAN, D. C., CARTER, S. D., CROMWELL, G. L., EWAN, R. C., HARROLD, R. L., LEWIS, A. J., MILLER, P. S., SHURSON, G. C., VEUM, T. L. (2001). Effect of pharmalogical concentrations of zinc oxide with or without the inclusion of an antibacterial agent on nursery pig performance. *Committee on Swine Nutrition. J. Anim. Sci.* 79: 934 – 941.

- HOANG HUONG, G., TRAN QUOC, V., BRIAN, O., JAN ERIK, LINDBERG (2010). Growth performance, digestibility, gut environment and health status in weaned piglets fed a diet supplemented with potentially probiotic complexes of lactic acid bacteria. *Livest. Sci.* 129: 95 – 103.
- HOFFMAN, L., D'ARGENIO, D., BADER, M., AND MILLER, S. (2007). Microbial recognition of antibiotics: ecological, physiological, and therapeutic implications. *Microbe.* 2:175-182.
- HÖGBERG, A., LINDBERG, J.E (2004). Influence of cereal non – starch polysaccharides and enzyme supplementation on digestion site and gut environment in weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 116: 113 – 128.
- HOLT, JONATHAN PAUL (2008). Growth Performance and the Development of Antibiotic Resistant Bacteria in Swine Fed Growth-promoting Antimicrobials. *Animal Science and Poultry Science North Carolina*, 3 – 13, 21 – 24, 31 – 35.
- HONG, T. T.T., LINDBERG, J.E (2007). Effect of cooking and fermentation of a pig diet on gut environment and digestibility in growing pigs. *Livestock Sci.* 109(1 – 3), 135 – 7.
- HOPWOOD, D. E., AND HAMPSON, D. J. (2003). Interactions between the intestinal microflora, diet and diarrhea, and their influences on piglet health in the immediate post – weaning period. In: Pluske, J. R., Le Dividich, J., Verstegen, M. W. A. (eds), *Weaning the pig: Concepts and consequences*. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 199 – 217.
- HTOO, J. K., ARAIZA, B. A., SAUER, W. C., RADEMACHER, M., ZHANG, Y., CERVANTES, M., ZIJLSTRA, R. T. (2007). Effect of dietary protein content on ileal amino acid digestibility, growth performance, and formation of microbial metabolites in ileal and cecal digesta of early – weaned pigs. *Journal of Animal Science.* 85: 3303 – 3312.
- HUGUET, A., SEVE, B., LE DIVIDICH, J., LE HUËROU – LURON, I. (2006). Effect of a bovine colostrum – supplemented diet on some gut parameters in weaned piglets. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 167 – 178.
- INOUE, R., TSUKAHARA, T., NAKANISHI, N., USHIDA, K. (2005). Development of the intestinal microbiota in the piglet. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 51: 257 – 265.
- JACKSON, C. R., P. J. FEDORKA – CRAY, J. B. BARRETT, EN S. R. LADELY (2004). Effects of tylosine use on erythromycin resistance in enterococci isolated from swine. *App. Environ. Microbiol.* 70: 4205 – 4210.
- JEAUROND, E. A., RADEMACHER, M., PLUSKE, J. R., ZHU, C. H., DE LANGE, C. F. M. (2008). Impact of feeding fermentable proteins and carbohydrates on growth performance, gut health and gastrointestinal function of newly weaned pigs. *Canadian Journal of Animal Science.* 88: 271 – 281.
- JENSEN, B. B., MIKKELSEN, L. L., CANIBE, N., AND HOYBERG, O. (2001). *Salmonella* in slaughter pigs. Annual report 2001 from the Danisch Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Foulum. p 23.
- JENSEN, B.B (1998). The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 7: 45 – 64.
- JENSEN, H. (2004). How I wean more than 30 pigs/sow on my farm. *Danbred North America. Proceedings of Nov – Dec Producer Meetings.*
- JENSEN, M. S., JENSEN, S. K., JAKOBSEN, K. (1997). Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. *Journal of Animal Science.* 75: 437 – 445.
- JONGBLOED, AW (1987). In: *Phosphorus in the feeding of pigs*. Agricultural University of Wageningen. P. 343.

- JONGBLOED, AW., MROZ, Z., VAN DER WEIJ – JONGBLOED, R., KEMME, PA (2000). The effects of microbial phytase, organic acids and their interaction in diets for growing pigs. *Livest. Prod. Sci.* 67: 113 – 122.
- KASPROWICZ – POTOCKA, M., FRANKIEWICZ, A., SELWET, M., AND CHILOMER, K. (2009). Effect of salts and organic acids on metabolite production and microbial parameters of piglets' digestive tract. *Livestock Production Science*, Vol. 126, No. 1 – 3, pp. 310 – 313, ISSN 1871 – 1413.
- KATOULI, L., KÜHN, I., SÖDERLIND, O., MÖLBLBY, R. Metabolic fingerprinting and fermentative capacity of the intestinal flora of pigs during pre – and post – weaning.
- KEESECKER, D. (2004). Later weaning is a no brainer. *National Hog Farmer*.
- KELLY, D., SMITH, J. A., AND MCCRACKEN, K. J. (1991b). Digestive development in the early – weaned pig. Effect of level of food intake on digestive enzyme activity during the immediate post – weaning period. *Br. J. Nutr.* 65: 181 – 188.
- KEMME, PA., JONGBLOED, AW., MROZ, Z., KOGUT, J., BEYNEN, AC (1999). Digestibility of nutrients in growing – finishing pigs is affected by *Aspergillus niger* phytase, phytate and lactic acid levels 2. apparent total tract digestibility of phosphorus, calcium and magnesium and ileal degradation of phytic acid. *Livest. Prod. Sci.* 58: 119 – 127.
- KHACHATRYAN, A. R., HANCOCK, D. D., BESSER, T. E., AND CALL, D. R. (2006). Antimicrobial drug resistance genes do not convey a secondary fitness advantage to calf- adapted *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:443-448.
- KHAN, A. R., KHAZANOVICH – BERNSTEIN, N., BERGMANN, E. M., JAMES, M. N. G. (1999). Structural aspects of activation pathways of aspartic protease zymogens and viral 3C protease precursors. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America.* 96: 10968 – 10975.
- KIL, DY., PIAO, LG., LONG, HF., LIM, JS., YUN, MS., KONG, CS., JU, WS., LEE, HB., KIM, YY (2006). Effects of organic or inorganic acid supplementation on growth performance, nutrient digestibility and white blood cell counts in weanling pigs. *Asian – Aust J. Anim. Sci.* 19: 252 – 261.
- KIM, J. C., HANSEN, C., PLUSK, J. R., MULLAN, B. P. (2010). Evaluating the replacement of zinc oxide with an encapsulated zinc oxide product as a means of controlling post – weaning diarrhoea in piglets. *Animal Research and Development, Department of Agriculture and Food, Locked.*
- KIM, J.C., HANSEN, C. F., MULLAN, B. P., PLUSKE, J. R. (2012). Nutrition and pathology of weaner pigs: nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. *Anim. Feed Sci. Technol.* 173: 3-16.
- KIM, Y. G., LOHAKARE, J. D., CHAE, B. J. (2006). Growth performance, nutrient digestibility and intestinal morphology in weaned piglets fed fungal and bacterial fermented soya proteins. *Journal of Animal and Feed. Sciences.* 15: 213 – 224.
- KIRCHGESSNER, M., ROTH, FX (1982). Fumaric acid as a fed additive in pig nutrition. *Pig news info.* 3: 259.
- KIRCHGESSNER, M., ROTH, F. X. (1987). Zum einsatz von formiaten in der ferkelfütterung. *Mitteilung. Natriumformiat. Landwirtsch. Forsch.* 40: 287 – 294.
- KLARE, I., KONSTABEL, C., BADSTUBNER, D., WERNER, G., WITTE, W. (2003). Ossurance and spread of antibiotic resistance in *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology.* 88: 269 – 290.
- KLUGE, H., BROZ, J., EDER, K (2006). Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal microflora and parameter of microbial metabolism in piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 90: 316 – 324.

- KNARREBORG, A., LAURIDSEN, C., ENGBERG, R. M., AND JENSEN, S. K. (2004). Dietary antibiotic growth promoters enhance the bioavailability of  $\alpha$ -tocopheryl acetate in broilers by altering lipid absorption. *J. Nutr.* 134: 1487 – 1492.
- KNARREBORG, A., MIQUEL, N., GRANLI, T., JENSEN, B.B (2002). Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. *Animal Feed Sci. and Technology.* 99: 131 – 140.
- KOLZ, A. C., ONG, S. K., AND MOORMAN, T. B. (2005). Sorption of tylosin into swine manure. *Chemosphere.* 60: 284-289.
- KULLER, W. I., SOEDE, N. M., AND LANGENDIJK, P., VAN BEERS – SCHREURS, H. M. G., TAVERNE, M. A. M., KEMP, B. AND VERHEIJDEN, J. H. M. (2004a). Effect of intermittent suckling on follicular development during lactation. *Int. Pig. Vet. Soc., Hamburg.* P. 472.
- KULLER, W. I., SOEDE, N. M., VAN BEERS – SCHREURS, H. M. G., LANGENDRIJK, P., TAVERNE, M. A. M., KEMP, B., VERHEIJDEN, J. H. M. (2007). Effects of intermittent suckling and creep feed intake on pig performance from birth to slaughter. *J. Anim. Sci.* 85: 1295 – 1301.
- LALLES, J. P., BOSI, P., SMIDT, H., STOKES, C. R. (2007a). Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Prod. Nutr. Soc.* 66: 260 – 268.
- LALLES, J. P., BOUDRY, G., FAVIER, C., LE FLOC'H, N., LURON, I., MONTAGNE, L., OSWALD, I. P., PIE, S., PIEL, C., SEVE, B. (2004). Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim. Res.* 53: 301 – 316.
- LAMBERT, R.J., STRATFORD, M (1999). Weak acid preservatives: modeling microbial inhibition and response. *J. Applied Microbiol.* 86: 157 – 164.
- LAWLOR, P.G., LYNCH, P.B., GARDINER, G.E., CAFFREY, P.J., O'DOHERTY, J. V. (2002). Effect of liquid feeding weaned pigs on growth performance to harvest. *J. Anim. Sci.* 80: 1725 – 1735.
- LAWLOR, P.G., LYNCH, P.B., CAFFREY, P.J. (2006). Effect of fumaric acid, calcium formate and mineral levels in diets on the intake and growth performance of newly weaned pigs. *Irish. J. Agric. Food. Res.* 45: 61 – 71.
- LE GALL, M., GALLOIS, M., SEVE, B., LOUVEAU, I., HOLST, J. J., OSWALD, I. P., LALLES, J. P., AND GUILLOTEAU, P. (2009). Comparative effect of orally administered sodium butyrate before or after weaning on growth and several indices of gastrointestinal biology of piglets. *British Journal of Nutrition*, Vol. 102, No. 9, pp. 1285 – 1296, ISSN 1475 – 2662.
- LEE, D.N., LIU, S.R., CHEN, Y.T., WANG, R.C., LIN, Y.S., WENG, C.F. (2007). Effects of diets supplemented with organic acids and nucleotides on growth, immune responses and digestive tract development in weaned pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 91: 508 – 518.
- LI, X. L., DONG, B., LI, D. F., YIN, J. D. (2010). Mechanisms involved in the growth promotion of weaned piglets by high-level zinc oxide. *J. Anim. Sci. Biot.* 1: 59-67.
- LI, Z., YI, G., YIN, J., SUN, P., LI, D., KNIGHT, C (2008). Effect of organic acids on growth performance, gastrointestinal pH, intestinal microbial populations and immune responses of weaned pigs. *Asian – Aust J. Anim. Sci.* 21: 252 – 261.
- LIEDTKE, J., VAHJEN, W. (2012). In vitro antibacterial activity of zinc oxide on a broad range of reference strains of intestinal origin. *Vet. Microbiol.*
- LIEM, A., PESTI, G.M., EDWARDS, JR HM (2008). The effect of several organic acids on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chicks. *Poultry Science.* 87(4): 689 – 693.
- LIZARDO, R. (2004). Interaction between high dosed ZnO and phytase. The Institute for Food Research and Technology, Spain. Expert talk Pig Progress.

- LLYOD, D. A. J., GABE, S. M. (2008). Intestinal morphology: intestinal regeneration and the promise of tissue engineering. *Intestinal failure: diagnosis, Management and transplantation*. Wiley – Blackwell, Maiden. pp. 13
- LORDELO, M. M., GASPAR, A. M., LE BELLEGRO, L., FREIRE, J. P. B. (2008). Isoleucine and valine supplementation of a low protein corn wheat soybean meal based diet for piglets: growth performance and nitrogen balance. *Journal of Animal Science*. 86: 2936 – 2941.
- LYBERG, K., LUNDH, T., PEDERSEN, C., LINDBERG, J.E (2006). Influence of soaking, fermentation and phytase supplementation on nutrient digestibility in pigs offered a grower diet based on wheat and barley. *Anim. Sci*. 82: 853 – 858.
- LYBERG, K., OLSTORPE, M., PASSOTH, V., SCHNURER, J., LINDBERG, J. E (2007). Biochemical and microbiological properties of a cereal mix fermented with whey, wet wheat distillers' grain or water at different temperatures. *Anim. Feed Sci. Technol*. 144: 137 – 148.
- M.V.A.N. SURYANARAYANA., SURESH, J., RAJASEKHAR, M.V (2012). Organic acids in swine feeding – a review. *Agri. Sci. Research Journ*. Vol. 2(9): 523 – 533.
- MAKKINK, C. A., NEGULESCU, G. P., QIN, G. X., AND VERSTEGEN, M. W. A. (1994). Effect of dietary protein source on feed intake, growth, pancreatic enzyme activities and jejunal morphology in newly – weaned pigs. *Br. J. Nutr*. 72: 353 – 368.
- MAKKINK, C.A. (1993). Of piglets, dietary proteins and pancreatic proteases. Wageningen agricultural University.
- MANERO, A., X. VILANOVA, M. CERDA – CUELLAR, EN A. R. BLANCH (2006). Vancomycin – and erythromycin – resistant enterococci in a pig farm and its environment. *Environ. Microbiol*. 8: 667 – 674.
- MANZANILLA, E. G., NOFRARIAS, M., ANGUITA, M., CASTILLO, M., PEREZ, J. F., MARTIN – ORUE, S. M., KAMEL, C., AND GASA, J. (2006). Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early – weaned pigs. *J. Anim. Sci*. 84: 2743 – 2751.
- MANZANILLA, EG., PEREZ, JF., MARTIN, M., KAMEL, C., BAUCCELLS, F., GASA, J (2004). Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early – weaned pigs. *J. Anim. Sci*. 82: 3210 – 3218.
- MARIBO, H., JENSEN, BB., HEDEMANN, MS (2000). Different doses of organic acids to piglets. *Danish Bacon and Meat Council*, no 469.
- MARION, J., PETERSEN, Y. M., ROME, V., THOMAS, F., SANGILD, P. T., DIVIDICH, J. L., HUE ROU – LURON, I. L. (2005). Early weaning stimulates intestinal brush border enzyme activities in piglets, mainly at the posttranscriptional level. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 41: 401 – 410.
- MARION, J., ROME, V., SAVARY, G., THOMAS, F., LE DIVIDICH, J., LE HUEROU – LURON, I. (2003). Weaning and feed intake alter pancreatic enzyme activities and corresponding mRNA levels in 7 – d – old piglets. *J. Nutr*. 133: 362 – 368.
- MARTIN, L., PIEPER, R., VAHJEN, W., ZENTEK, J. (2012). Influence of high level dietary zinc oxide on performance and small intestine gene expression in weaned piglets. XII International symposium on digestive physiology in pigs.
- MARTINEZ, V., WANG, L., MILLION, M., RIVIER, J., TACHE, Y. (2004). Urocortins and the regulation of gastrointestinal motor function and visceral pain. *Peptides* 25, 1733 – 1744.
- MATHEW, A. G. (2003). Development of antibiotic resistance in livestock production. pp. 78-92. In: *Proceedings of the 64th Minnesota Nutrition Conference*. St. Paul. 16-17.



- MATHEW, A. G., D. B. ARNETT, P. CULLEN, EN P. D. EBNER (2003). Characterization of resistance patterns and detection of apramycin resistance genes in *Escherichia coli* isolated from swine exposed to various environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 89: 11 – 20.
- MATHEW, A. G., JONES, T., AND FRANKLIN, M.A. (1994). Effect of creep feeding on selected microflora and short – chain fatty acids in the ileum of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 72: 1363 - 1368
- MAVROMICHALIS, I. (2011). The search for alternatives to zinc oxide. *Pig Progress*.
- MAZONNI, M., LE GALL, M., DE FILIPPI, S., MINIERI, L., TREVISI, P., WOLINSKI, J., LALATTA – COSTERBOSA, G., LALLES, J. P., GUILLOTEAU, P., AND BOSI, P. (2008). Supplemental sodium butyrate stimulates different gastric cells in weaned pigs. *Journal of Nutrition* 138, No. 8, pp. 1426 – 1431, ISN 1541 – 6100.
- MCCRACKEN, B. A., SPURLOCK, M. E., ROOS, M. A., ZUCKERMANN, F. A., GASKINS, H. R. (1999). Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine: *Journal of Nutrition*. 129: 613 – 619.
- MCDERMOTT, P.F., ZHAO, S., WAGNER, D. D., SIMJEE, S., WALKER, R. D., AND WHITE, D. G. (2002). The food safety perspective of antibiotic resistance. *Animal Biotechnology*. 13: 71-84.
- MCEWAN, S. A., AND FEDORKA – CRAY, P. J. (2004). Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Diseases*. 34(Suppl. 3): S93-106.
- MCKEON, D. M., CALABRESE, J. P., AND BISSONNETTE, G. K. (1995). Antibiotic resistant gram-negative bacteria in rural groundwater supplies. *Wat. Res.* 29(8): 1902-1908.
- METZLER – ZEBELI, BU., RATRIYANTO, A., JEZIERNY, D., SAUER, N., EKLUND, M., MOSENTHIN, R (2009). Effects of betaine, organic acids and inulin as single feed additives or in combination on bacterial populations in the gastrointestinal tract of weaned pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 63: 427 – 441.
- METZLER, B., MOSENTHIN, R (2007). Effects of organic acids on growth performance and nutrient digestibilities in pigs. In: *Acidifiers in Animal nutrition – A guide for Feed preservation and Acidification to Promote Animal Performance*, (ed. Luckstadt, C) pp. 39 -54. Nottingham University Press, Nottingham.
- MILLER, B. G., SKADHAUGE, E. (1997). Effect of weaning in the pig on ileal ion transport measured in vitro. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 44: 289 – 299.
- MISSOTTEN, J. A., MICHIELS, J., OVYN, A., DE SMET, S., DIERICK, A. D. (2010). Fermented liquid feed for pigs: a review. *Archives of Animal Nutrition*. Ghent University, Belgium.
- MOESER, A. J., KLOK, C. V., RYAN, K. A., WOOTEN, J. G., LITTLE, D., COOK, V. L., BLIKSLAGER, A. T. (2007). Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*. 292: G173 – G 181.
- MOONEN, H., BAS, H. (2004). Mono – and diglycerides. In: Whitehurst RJ (Ed): *Emulsifiers in Food Technology*. Blackwell Publishing, Oxford. pp. 40 – 57.
- MORO, M. H., G. W. BERAN, R. W. GRIFFITH, EN L. J. HOFFMAN (2000). Effects of heat stress on the antimicrobial drug resistance of *Escherichia coli* of the intestinal flora of swine. *J. App. Microbiol.* 88: 836 – 844.
- MORTENSEN, S. R., CHANDA, S. M., HOOPER, M. J., AND PADILLA, S. (1996). Maturation differences in chlorpyrifos – oxonase activity may contribute to age – related sensitivity to chlorpyrifos. *J. Biochem. Toxicol.* 11: 279 – 287.
- MROZ, Z. (2005). Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. *Adv. Pork prod.* 16: 269 – 129.

- MROZ, Z., JONGLBOED, AW., VON DER WEIJ – JONGBLOED, R., OVERLAND, M (2001). Effects of adding potassium diformate and phytase excess for weaned piglet. In: Digestive physiology of pigs, Ed. by Lindberg, J. E., Ogle, B., CABI publishing, p 305 – 307.
- MURPHY, D. P., O'DOHERTY, J. V., BOLAND, T. M., O'SHEA, C. J., CALLAN, J. J., PIERCE, K. M. AND LYNCH, M. B. (2011). The effect of benzoic acid concentration on nitrogen metabolism, manure ammonia and odour emissions in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 163: 194 – 199.
- NABUURRS, M. J. A. (1991). Etiologic and pathogenic studies on post – weaning diarrhea. PhD dissertation, State university.
- NAGY, B., AND FEKETE, P. Z. (2005). Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 295: 443 – 454.
- NAMKUNG, H., LI, M., GONG, J., YU, H., COTTRIL, M., DE LANGE CFM (2004). Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 84: 697 – 704.
- NAUGHTON, P. J., AND JENSEN, B. B. (2001). A bioreactor system to study survival of *Salmonella typhimurium* in pig gut content. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 114: 1 – 4.
- NEWMAN, M. C. EN S. M. SCHEUREN – PORTOCARRERO (2005). Multiple antibiotic resistance: what is the cure? pp. 201 – 212. In: *Biotechnology in the Feed Industry*. Nottingham University Press.
- NIELSEN, H. (2012). History of zinc in agriculture. *Adv. Nutr.* Vol. 3: 783-789.
- NIVEN, S.J., BEAL, J.D., BROOKS, P.H. (2006). The effect of controlled fermentation on the fate of synthetic lysine in liquid diets for pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 129: 304 – 315.
- NORGAARD, J. V., FERNANDEZ, J. A. (2009). Isoleucine and valine supplementation of 466 crude protein reduced diets for pigs aged 5 – 8 weeks. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 154: 248 – 253.
- NORGAARD, J. V., FERNANDEZ, J. A., ERIKSEN, J., OLSEN, O. H., CARLSON, D., POULSEN, H. D. (2010a). Urine acidification and mineral metabolism in growing pigs fed diets supplemented with dietary methionine and benzoic acid. *Livestock Science*. 134: 113 – 115.
- NOUSIAINEN, J. (1991). Comparative observations on selected probiotics and olaquinox used as feed additives for piglets around weaning. Effect on villus height and crypt depth in the jejunum, ileum, caecum and colon. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 66: 224 – 230.
- NYACHOTI, C. M., OMOGBENIGUN, F. O., RADEMACHER, M., BLANK, G. (2006). Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early – weaned pigs fed low – protein amino acid – supplemented diets. *Journal of Animal Science*. 84: 125 – 134.
- OLSTORPE, M., LYBERG, K., LINDBERG, J.E., SCHNÜRER, J., PASSOTH, V. (2008). Population diversity of yeasts and lactic acid bacteria in pig feed fermented with whey, wet wheat distillers' grains, or water at different temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*. 74: 1696 – 1703.
- OMOGBENIGUN, FO., NYACHOTI, CM., SLOMINSKI, BA (2003). The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn – soybean based diet fed to early – weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 81: 1806 – 1813.
- OPAPEJU, F. O., KRAUSE, D. O., PAYNE, R. L., RADEMACHER, M., NYACHOTI, C. M. (2009). Effect of dietary protein level on growth performance, indicators of enteric health, and gastrointestinal microbial ecology of weaned pigs induced with postweaning colibacillosis. *Journal of Animal Science*. 87: 2635 – 2643.
- OPAPEJU, F. O., RADEMACHER, M., PAYNE, R. L., KRAUSE, D. O., NYACHOTI, C. M. (2010). Inflammation: associated response in piglets induced with post – weaning colibacillosis are influenced by dietary protein level. *Livestock Science*. 131: 58 – 64.

- OVERLAND, M., GRANLI, T., KJOS, NP., FJETLAND, O., STEIEN, SH., STOKSTAD, M (2000). Effect of dietary formats on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora, and stomach alterations in growing – finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 78: 1875 – 1884.
- OVERLAND, M., KJOS, N. P., BORG, M., AND SORUM, H. (2007). Organic acids in diets for entire male pigs. *Livestock Production Science*, Vol. 109, No. 1 – 30, pp. 170 – 173, ISSN 1871 – 1413.
- OWSLEY, W. F., ORR, D. E., AND TRIBBLE, L.F. JR. (1986). Effects of age and diet on the development of the pancreas and the synthesis and secretion of pancreatic enzymes in the young pig. *Journal of Animal Science*. 63: 497 – 504.
- PACHA, J. (2000). Development of intestinal transport function in mammals. *Physiological Reviews*. 80: 1633 – 1667.
- PAJOR, E. A., FRASER, D., AND KRAMER, D. L. (1991). Consumption of solid food by suckling piglets: Individual variation and relation to weight gain. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 32: 139 – 155.
- PAPATSIROS, V. G., BILLINIS, C. (2012). The prophylactic use of acidifiers as antibacterial agent in swine. School of Veterinary Medicine, University of Thessaly.
- PAPATSIROS, V. G., TASSIS, P. D., TZIKA, E. D., PAPAIOANNOU, D. S., PETRIDOU, E., ALEXOPOULOS, C., AND KYRIAKIS, S. C. (2011). Effect of benzoic acid and combination of benzoic acid with probiotic containing *Bacillus cereus* var. Toyoi in weaned pig nutrition. *Polish Journal of Veterinary Science*, Vol. 14, No. 1, pp. 117 – 125, ISSN 1505 – 1773.
- PARTANEN, K. (2001). Organic acids – Their efficacy and modes of action in pigs. In: *Gut environment of pigs*, Piva, A., Bach Knudsen, K. E., and Lindberg, J.E. (Eds), pp. 201 – 218, ISBN, 978 – 1 – 897 – 676 – 77 – 6, Nottingham University Press.
- PARTANEN, K., JALAVA, T., VALAJA, J., PERTTILA, S., SILJANDER – RASI, H., AND LINDEBERG, H. (2001b). Effect of dietary carbadox or formic acid and fibre level on ileal and faecal nutrient digestibility and microbial metabolite concentration in ileal digesta of the pig. *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 93, No. 3, pp. 137 – 155, ISSN 1365 – 2052.
- PARTANEN, K., SILJANDER – RASI, H., PENTIKÄINEN, J., PELKONEN, S., AND FOSSI, M. (2007). Effects of weaning age and formic acid – based feed additives on pigs from weaning to slaughter. *Archives of Animal Nutrition*, Vol. 61, No. 5, pp. 336 – 356, ISSN 1477 – 2817.
- PARTANEN, KH., MROZ, Z (1999). Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutr. Res. Rev.* 12: 117 – 145.
- PAYOT, S., S. DRIDI, M.LAROCHE, M; FEDERIGHI, EN C.MAGRAS (2004). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated from fattening pigs in France. *Vet. Microbiol.* 101: 91 – 99.
- PEADAR, G., LAWLOR, P., BRENDAN LYNCH, PATRICK, J CAFFREY, JAMES, J., O'REILLY, KAREN O'CONNEL, M (2005). Measurements of acid binding capacity of ingredients uses in pig diets. *Irish Vet. Jl.* 58: 447 – 452.
- PEDERSEN, A. O., MARIBO, H., AASLYNG, M. D., JENSEN, B. B., HANSEN, I. D. (2002). Fermented grain in liquid feed for heavy pigs. Report No. 547. The National Committee for Pig Production, Danish Bacon and Meat Council.
- PEDERSEN, L. J., BERG, P., JORGENSEN, E., BONDE, M. K., KONGSTED, A. G., LAURIDSEN, C., OKSBJERG, N., POULSEN, H. D. A., SORENSEN, D. G., SORENSEN, M.T., THEIL, P. K., THODBERG, K., JENSEN K. H. (2010). Possibilities of reducing piglet mortality in Denmark. DJF – Report No. 86, 87.
- PIERCE, K. M., CALLAN, J. J., MCCARTHY, P., O'DOHERTY, J.V. (2005). Performance of weanling pigs offered low or high lactose diets supplemented with avilamycin or inulin. *Animal Science*. 80: 313 – 318.

- PIVA, A., AND GRILLI, E. (2007). Role of benzoic, lactic and sorbic acid in vitro swine cecal fermentation. *Veterinary Research Communications*, Vol. 31, No. 1, pp. 401 – 404, ISSN: 1573 – 7446.
- PIVA, A., CASADEI, G., AND BIAGI, G. (2002a). An organic acid blend can modulate swine intestinal fermentation and reduce microbial proteolysis. *Canadian Journal of Animal Science*, Vol. 82, No. 4, pp. 527 – 532, ISSN 1918 – 1825.
- PIVA, A., MORLACCHINI, M., CASADEI, G., GATTA, P. P., BIAGI, G., AND PRANDINI, A. (2002b). Sodium butyrate improves growth performance of weaned piglets during the first period after weaning. *Italian Journal of Animal Science*, Vol. 1, No. 1, pp. 35 – 41, ISSN 1594 – 4077.
- PLUMED – FERRER, C., VON WRIGHT, A. (2009). Fermented pig liquid feed: nutritional, safety and regulatory aspects. *J. Appl. Microb.* 106: 351 – 368.
- PLUSKE, J. R., HAMPSON, D. J. (2005). Rice – based diets in pigs for protection against intestinal bacterial infections. Rural industries Research and Development Corporation.
- PLUSKE, J. R., HANSEN, C. F., PAYNE, H. G., MULLAN, B. P., KIM, J. C., HAMPSON, D. J. (2007). Gut health in the pig. In: J. E. Patterson, J. E. Barkes (eds), *Manipulating Pig Production XI*. Australasian Pig Science Association, Werribee. pp. 147 – 158.
- PLUSKE, J. R., KERTON, D. J., CRANWELL, P. D., CAMPBELL, R. G., MULLAN, B. P., KING, R. H., POWER, G. N., PIERZYNOWSKI, S. G., WESTROM, B., RIPPE, C., PEULEN, O., DUNSHEA, F. R. (2003). Age, sex, and weight at weaning influence organ weight and gastrointestinal development of weanling pigs. *Australian Journal of Agricultural Research*. 54: 515 – 527.
- PLUSKE, JR., HAMPSON, DJ., WILLIAMS, IH (1997). Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Live. Prod. Sci.* 51: 125 – 236.
- QUIVEY, RG., FAUSTOFERRI, R., MONAHAN, K., MARQUIS, R (2000). Shifts in membrane fatty acid profiles associated with acid adaptation of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol. Letters*. 189: 89 – 92.
- RICKE, S. C. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poult. Sci.* 82: 632 – 639.
- RISLEY, CR., KORNEGAY, ET., LINDEMANN, MD., WEAKLAND, SM (1991). Effects of organic acids with and without a microbial culture on performance and gastrointestinal tract measurements of weanling pigs. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 35: 259 – 270.
- ROSELLI, M., FINAMORE, A., GARAGUSO, I., BRITTI, M. S., AND MENGHERI, E. (2003). Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by *Escherichia coli*. *Journal of Nutrition*. 133: 4077 – 4082.
- ROZEBOOM, D. W., SHAW, D. T., TEMPELMAN, R. J., MIGUEL, J. C., PETTIGREW, J. E., AND CONNOLLY, A. (2005). Effect of mannan oligosaccharide and an antimicrobial product in nursery diets on performance of pigs reared on three different farms. *J. Anim. Sci.* 83: 2637 – 2644.
- RUDBÄCK, L (2013). Organic acids in liquid feed for pigs – palatability and feed intake. Swedish University of agricultural sciences.
- SACAKLI, P., SEHU, A., ERGÜN, A., GENÇ, B., AND SELÇUK, Z. (2006). The effect of phytase and organic acid on growth performance, carcass yield and tibia ash in quails fed diets with low levels of non – phytate phosphorus. *Asien – Aust. J. Anim. Sci.* 19: 198 – 202.
- SAKATA, T (1987). Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: A possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *Br. J. Nutr.* 58: 95 -103.

- SAKATA, T., ADACHI, M., HASHIDA, M., SATO, N., KOJIMA, T (1995). Effect of n – butyric acid on epithelial cell proliferation of pig colonic mucosa in short – term culture. Dtsch. Tieraerztl. Wochenschr. 102: 163 – 164.
- SALGADO, P., FREIRE, J. P. B., MOURATO, M., CABRAL, F., TOULLEC, R., LALLE'S, J. P. (2002). Comparative effects of different legume protein sources in weaned piglets: nutrient digestibility, intestinal morphology and digestive enzymes. Livestock Production Science. 74: 191 – 202.
- SANCHEZ, B., CHAMPOMIER – VERGES, M. C., COLLADO, M. D. C., ANGLADE, P., BARAIGE, F., SANZ, Y., DE LOS REYES – GAVILAN, C. G., MARGOLLES, A., ZAGOREC, M. (2007). Low – pH adaptation and the acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* biotype longum. Appl. Environ. Microbiol. 73 (20): 6450.
- SANDSTRÖM, B. (2001). Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. Br. J. Nutr. 85 Suppl. 2: S181-185.
- SAPKOTA, A. R., F. C. CURRIERO, K. E. GIBSON, EN K..J. SCHWAB (2007). Antibiotic – resistant enterococci and fecal indicators in surface water and groundwater impacted by a concentrated swine feeding operation. Environmental Health Perspectives. 115: 1040 – 1045.
- SAUER, W., CERVANTES, M., YANEZ, J., ARAIZA, B., MURDOCH, G., MORALES, A., ZIJLSTRA, RT (2009). Effect of dietary inclusion of benzoic acid on mineral balance in growing pigs. Livest. Sci. 122: 162 – 168.
- SCHÖNE, F., VETTER, A., HARTUNG, H., BERGMANN, H., BIERTÜMPFEL, A., RICHTER, G., MÜLLER, S., BREITSCHUH, G. (2006). Effects of essential oils from fennel (*Foeniculi aetheroleum*) and caraway (*Carvi aetheroleum*) in pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 90 (11 – 12): 500 – 10.
- SILVA, M. L. F., LIMA, J. A. D. F., SOUZA, V. D., AMARAL, C. N. D. O., ZANGERÔNIMO, M. G., F, E. T. (2010). Probiotics and antibiotics as additives for sows and piglets during nursery phase. R. Bras. Zootec., v.39, n.11, p. 2453 – 2459.
- SKIRROW, S. Z., BUDDLE, J. R., MERCY, A. R., MADEC, F., AND NICHOLLS, R. R. (1997). Epidemiological studies of pig diseases: post – weaning diarrhoea and performance in western Australian pigs. Austr. Vet. J. 75: 282 – 288.
- SMOLDERS, M.A.H.H., VAN KRIMPEN, M.M., SCHOLTEN, R.H.J., VAN DE LOO, D.J.P.H (2000). The influence of lactic acid on performance and health of weaned piglets. Proefverslag nummer P1.246.
- SNOECK, V., VERDONCK, F., COX, E., AND GODDEERIS, B. M. (2004a). Inhibition of adhesion of F 18+ *Escherichia coli* to piglet intestinal villous enterocytes by monoclonal antibody against blood group H – 2 antigen. Veterinary Microbiology. 100: 241 – 246.
- STARKE, I., VAHJEN, I., ZENTEK, J. (2012). Dietary zinc oxide leads to short and long term modification in the intestinal microbiota of piglets. XII International symposium on digestive physiology in pigs.
- STEIN, HH., AND KIL, DY (2006). Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: Dietary tools, Part 2. Anim. Biotechnol. 17: 217 – 231.
- SVENSMARK, B., JORSAL, S. E., NIELSEN, K., AND WILEBERG, P. (1989b). Epidemiological studies of piglet diarrhoea in intensively managed Danish sow herds. Post – weaning diarrhea. Acta Veterinaria Scandinavica. 30: 55 – 62.
- SWORDS, W. E., WU, C. C., CHAMPLIN, F. R., BUDDINGTON, R. K. (1993). Postnatal changes in selected bacterial groups of the pig colonic microflora. Biol. Neonate. 63: 191 – 200.
- TANG, M., LAARVELD, B., VAN KESSEL, A. G., HAMILTON, D. L., ESTRADA, A., PATIENCE, J. F. (1999). Effect of segregated early weaning on post – weaning small intestinal development in pigs. Journal of Animal Science. 77: 3191 – 3200.

- TAYEL, A. A., EL – TRAS, W. F., MOUSSA, S., EL – BAZ?, A. F., MAHROUS, H., SALEM, M. F., BRIMER, L. (2011). Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *J. Food Safety* 31: 211-218.
- THAELA, M. J., JENSEN, M. S., PIERZYNOWSKI, S. G., JAKOB, S., AND JENSEN, B.B. (1998). Effect of lactic acid supplementation on pancreatic secretion in pigs after weaning. *J. Anim. Feed. Sci.* 7: 181 – 183.
- THORMAR, H., HILMARSON, H. (2007). Antimicrobial lipids as disinfectants, antiseptics and sanitizers. *Essential oils as Antimicrobial Agents.* 179 – 201.
- TJEEN WILLINK, S. H. D. (1995). Uitgeverij, Alphen aan den Rijn. Veterinaire Hoofdinspectie van de volksgezondheid. Milieucontaminanten bij dierlijke productie in relatie tot de volksgezondheid.
- TORRALLARDONA, D., BADIOLA, I., BROZ, J (2007a). Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weanling piglets. *Livest. Sci.* 108: 210 – 213.
- TSILOYIANNIS, VK., KYRIAKIS, SC., VLEMMAS, J., SARRIS, K (2001). The effect of organic acids on the control of porcine postweaning diarrhea. *Res. Vet. Sci.* 70(3): 287 – 293.
- TUNG, C. M., PETTIGREW, J.E. (2006). Critical review of acidifiers. National Pork Board.
- TURNER, J. (2011). Antibiotics in animal farming: public health and animal welfare. *Compassion in world farming.*
- VAN DEN BROEK, W., COX, E., OUDEGA, B., AND GODDEERIS, M. (2000). The F4 fimbrial antigen of *Escherichia coli* and its receptors. *Veterinary Microbiology.* 71: 223 – 244.
- VAN DER PEET – SCHWERING, C. M. C., TROQUET, L. M. P., BINNENDIJK, G. P., KNOL, E. (2013). Effect van genetische aanleg en geboortegewicht op de technische resultaten van biggen en vleesvarkens. Live stock Research Wageningen UR, Rapport 724.
- VAN DER WOLF, P. J., ELBERS, A. R. W., WOLBERS, W. B., VAN DER HEIJDEN, H. M. J F., KOPPEN, J. M. C. C., HUNNEMAN, W. A., VAN SCHIE, F. W., TIELEN, M.J.M. (2001). Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pigs herds in The Netherlands. *Veterinary Microbiology.* 78: 205 – 219.
- VAN DIJK, A. (2009). Essential oils and acids: synergism. *Feed mix.* Vol 17. Nr. 1.
- VAN LUNEN, T. A., (2003). Growth performance of pigs fed diets with and without tylosine phosphate supplementation and reared in a biosecure all – in all – out housing system. *Can. Vet. J.* 44: 571 – 576.
- VAN LUNEN, T.A. (2003). Growth performance of pigs fed diets with and without tylosine phosphate supplementation and reared in a biosecure all – in all – out housing system. *Can. Vet. J.* 44: 571 – 576.
- VAN RIJEN, M. M. L., P. H. VAN KEULEN, EN J.A. KLUYTMANS (2008). Increase in a Dutch hospital of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* related to animal farming. *Clin. Infect. Dis.* 46: 261 – 263.
- VAN WINSEN, R. L., LIPMAN, L. J. A., BIESTERVELD, S., URLINGS, B. A. P., SNIJDERS, J. M. A., VAN KNAPEN, F. (2001). Mechanism of *Salmonella* reduction in fermented pig feed. *J. Sci. Food Agric.* 81: 342 – 346.
- VIOLA, C. EN S.J. DEVINCENT (2006). Overview of issues pertaining to the manufacture, distribution, and use of antimicrobials in animals and other information relevant to animal microbial use date collection in the United States. *Preventive Veterinary Medicine.* 73: 111 – 131.
- WALSH, M. C., SHOLLY, D. M., HINSON, R. B., SADDORIS, K. L., SUTTON, A. L, RADCLIFFE, J. S., ODGAARD, R., MURPHY, J., AND RICHERT, B. T. (2007). Effects of water and diet acidify cation with and without antibiotics on weanling pig growth and microbial shedding. *Journal of Animal Science,* Vol. 85, No. 7, pp. 1799 – 1808, ISSN 0021 – 8812.

- WANG, N. F., CHEN, Q., LE, G. W., SHI, Y. H., SUN, J. (2007). Effect of lactic acid fermented soyabean meal on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weaned piglets. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 16: 75 – 85.
- WAPNIER, R. A., TEICHBERG, S. (2002). Regulation mechanisms of intestinal secretion: implications in nutrient absorption. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 190 – 199.
- WEBER, T. E., AND KERR, B. J. (2008). Effect of sodium butyrate on growth performance and response to lipopolysaccharide in weanling pigs. *Journal of Animal Science*, Vol. 86, No. 2, pp. 442 – 450, ISSN 0021 – 8810.
- WEBER, T.E., A.P. SCHINCKEL, K. L. HOUSEKNECHT, EN B. T. RICHERT (2001). Evaluation of conjugated linoleic acid and dietary antibiotics as growth promotants in weanling pigs. *JAS*. 79: 2542 – 2549.
- WEGMANN, P. (1990). Pathology of swine – a portrait of economic loss in pig production in Switzerland. *Proc. Int. Congr. Pig Vet. Soc*. 11: 295.
- WELLOCK, I. J., FORTOMARIS, P. D., HOUDIJK, J. G. M., KYRIAZAKIS, I. (2006a). The effect of dietary protein supply on the performance and risk of post – weaning enteric disorders in newly weaned pigs. *Animal Science*. 82: 327 – 335.
- WELLOCK, I. J., FORTOMARIS, P. D., HOUDIJK, J. G. M., KYRIAZAKIS, I. (2008b). Effects of dietary protein supply, weaning age and experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection on newly weaned pigs: performance. *Animal*. 2: 825 – 833.
- WILLEY, J.M., SHERWOOD, L. M., WOOLVERTON, C.J. (2009). *Prescotts principles of microbiology*. McGraw – Hill education, New York.
- WILLIAM, T. P. E., KASORNDORKBUA, C., HALBUR, P. G., HAGSHENAS, G., GUENETTE, D. K., TOTH, T. E., MENG, X. J. (2001). Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. *Journal of Clinical Microbiology*. 39: 3040 – 3046.
- WILLIAMS, I. H. (2003). Growth of the weaned pig. In: *The Weaner Pig: Concepts and consequences*, 99. 15 – 35.
- XU, R. J. (2003). Gastrointestinal secretory function. In: R. J. Xu, P. D. Cranwell (eds), *The Neonatal Pig: Gastrointestinal Physiology and Nutrition*. Nottingham University Press, Thrumpton, Nottingham. pp. 117.
- YANG, H., S. CHEN, D. G. WHITE, S. ZHAO, P. MCDERMOTT, R. WALKER, EN J. MENG (2004). Characterization of multiple – antibiotic – resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *J. Clin. Microbiol*. 42(8): 3483 – 3489.
- YEN, J. (2000). *Anatomy of the digestive system and nutritional physiology*. Swine Nutrition, CRC Press. pp. 32
- YIN, Q., ZHENG, Q. (2005). Isolation and identification of the dominant lactobacillus in gut and faeces of pigs using carbohydrate fermentation and 16S rDNA analysis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 99: 68 – 71.
- YUE, L. Y., QIAO, S. Y. (2008). Effects of low – protein diets supplemented with crystalline amino acids on performance and intestinal development in piglets over the first 2 weeks after weaning. *Livestock Science*. 115: 144 – 152.
- YUN, J. H., KWON, I. K., LOKAHARE, J. D., CHOI, J. Y., YONG, J. S., ZHENG, J., CHO, W. T., CHAE, B. J. (2005). Comparative efficacy of plant and animal protein sources on the growth performance, nutrient digestibility, morphology and caecal microbiology of early – weaned pigs. *Asian – Aust. J. Anim. Sci*. 18: 1285 – 1293.

- YUN, MS (2005). Supplementation of potassium – diformate (formi), as an alternative of antibiotics, on growth performance, morphological changes of small intestine and immune responses in weanling pigs. MS thesis. Seoul National Univ.
- ZHANG, B., GHUO, Y. (2009). Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. *Br. J. Nutr.* 102: 687-693.
- ZHANG, Y., XU, R. J. (2003). Anatomy and histology of the gastrointestinal tract. In: R. J. Xu, P. D. Cranwell (eds), *The Neonatal Pig: Gastrointestinal Physiology and Nutrition*. Nottingham University Press. pp. 1.
- ZHOU, F., BAOPING, J., HONG, Z., HUIL, J., ZHIWEIL, Y., JINGJING, L., JIHAI, L., YALIL, R., WENJIE, Y. Synergistic effect of thymol and carvacrol combined with chelators and organic acids against *Salmonella typhimurium*. *Journal of Food Protection*. Nr. 7. pp. 1556 – 1769. pp. 1704 – 1709.



## Bijlagen proef 1

Bijlage 1: Overzicht begingewichten, groei en VC antibioticagroep proef 1

<i>HOK 1</i>			<i>Bij opzet proef</i>	<i>Na 1e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 1</i>	<i>VC fase 1</i>	<i>Na 2e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 2</i>	<i>VC fase 2</i>	<i>Na 3e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 3</i>	<i>VC fase 3</i>	<i>Totaal toegenomen.</i>	<i>VC volledig</i>
<i>Deel 1</i>	Nummer	Proef	gewicht (kg)	gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)		(kg)	
big 1	3957	ABgroep	6,600	7,300	0,700		13,250	5,950		25,000	11,750		18,400	
big 2	5012	ABgroep	6,900	7,400	0,500		12,650	5,250		24,500	11,850		17,600	
big 3	3199	ABgroep	6,600	8,800	2,200		16,750	7,950		28,500	11,750		21,900	
big 4	5009	ABgroep	6,600	8,300	1,700		15,050	8,300		27,000	11,950		20,400	
big 5	5007	ABgroep	6,000	7,700	1,700		13,700	6,000		25,000	11,300		19,000	
big 6	3991	ABgroep	6,100	7,250	1,150		15,800	8,550		28,500	12,700		22,400	
big 7	3995	ABgroep	7,400	9,600	2,200		17,050	7,450		28,500	11,450		21,100	
big 8	5016	ABgroep	6,800	8,850	2,050		18,200	9,350		33,500	15,300		26,700	
big 9	5164	ABgroep	7,250	8,950	1,700		17,100	8,150		31,000	13,900		23,750	
big 10	3953	ABgroep	6,700	8,650	1,950		15,950	7,300		29,500	13,550		22,800	
big 11	4193	ABgroep	8,150	9,800	1,650		17,550	7,750		27,000	9,450		18,850	
big 12	2964	ABgroep	5,900	6,750	0,850		13,000	6,250		22,000	9,000		16,100	
big 13	3979	ABgroep	6,600	8,250	1,650		16,100	7,850		30,500	14,400		23,900	
big 14	2919	ABgroep	6,750	8,450	1,700		14,600	6,150		26,000	11,400		19,250	
big 15	5197	ABgroep	6,450	6,300	-0,150		11,500	5,200		21,500	10,000		15,050	
big 16	5038	ABgroep	7,100	9,050	1,950		18,500	9,450		33,000	14,500		25,900	
big 17	2987	ABgroep	6,450	9,150	2,700		16,600	7,450		28,500	11,900		22,050	
big 18	2996	ABgroep	7,300	9,000	1,700		16,950	7,950		29,500	12,550		22,200	
big 19	2992	ABgroep	6,800	8,650	1,850		15,700	7,050		29,500	13,800		22,700	
big 20	5044	ABgroep	6,250	6,900	0,650		12,700	5,800		23,500	10,800		17,250	
big 21	3126	ABgroep	6,150	7,050	0,900		14,050	7,000		26,500	12,450		20,350	
big 22	4113	ABgroep	6,550	7,950	1,400		14,450	6,500		28,000	13,550		21,450	
big 23	3107	ABgroep	6,700	7,950	1,250		15,800	7,850	1,250	27,000	11,200		20,300	
big 24	3137	ABgroep	6,650	8,100	1,450		14,900	6,800		28,500	13,600		21,850	
big 25	2905	ABgroep	6,250	7,200	0,950		15,350	8,150		29,000	13,650		22,750	
big 26	5049	ABgroep	7,000	8,400	1,400		15,650	8,400	1,400	28,000	12,350		21,000	
big 27	4116	ABgroep	6,250	7,400	1,150		14,500	7,100		25,500	11,000		19,250	
big 28	4136	ABgroep	6,200	7,950	1,750		14,850	6,900		27,500	12,650		21,300	
big 29	3072	ABgroep	6,400	7,250	0,850		13,850	6,600		26,500	12,650		20,100	
big 30	3059	ABgroep	6,500	7,550	1,050		14,950	7,400		27,000	12,050		20,500	
<b>Totaal bagen</b>			<b>199,350</b>	<b>241,900</b>	<b>42,550</b>		<b>457,050</b>	<b>215,150</b>		<b>825,500</b>	<b>368,450</b>		<b>626,150</b>	

<i>HOK 1</i>			<i>Bij opzet proef</i>	<i>Na 1e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 1</i>	<i>VC fase 1</i>	<i>Na 2e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 2</i>	<i>VC fase 2</i>	<i>Na 3e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 3</i>	<i>VC fase 3</i>	<i>Totaal toegenomen (kg)</i>	<i>VC volledig</i>
<b>Deel 2</b>	Nummer	Proef	gewicht (kg)	gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)			
big 31	3996	ABgroep	6,900	8,200	1,300		14,000	5,800		26,000	12,000		19,100	
big 32	3961	ABgroep	7,350	10,000	2,650		17,950	7,950		30,000	12,050		22,650	
big 33	3969	ABgroep	6,500	8,450	1,950		15,800	7,350		28,500	12,700		22,000	
big 34	3979	ABgroep	6,350	8,600	2,250		14,500	5,900		20,500	6,000		14,150	
big 35	5040	ABgroep	6,400	7,750	1,350		12,850	5,100		24,500	11,650		18,100	
big 36	5027	ABgroep	7,400	8,900	1,500		17,750	8,850		29,500	11,750		22,100	
big 37	3984	ABgroep	7,550	9,850	2,300		16,750	6,900		28,000	11,250		20,450	
big 38	4195	ABgroep	6,250	7,950	1,700		15,000	7,050		25,500	10,500		19,250	
big 39	2942	ABgroep	6,800	8,400	1,600		15,250	6,850		25,500	10,250		18,700	
big 40	4092	ABgroep	7,000	9,700	2,700		17,500	7,800		31,500	14,000		24,500	
big 41	2985	ABgroep	5,700	7,550	1,850		14,700	7,150		28,000	13,300		22,300	
big 42	5015	ABgroep	5,750	7,000	1,250		14,200	7,200		25,500	11,300		19,750	
big 43	2912	ABgroep	5,700	7,350	1,650		13,700	6,350		25,000	11,300		19,300	
big 44	2933	ABgroep	6,200	7,700	1,500		14,000	6,300		27,000	13,000		20,800	
big 45	2918	ABgroep	7,000	8,600	1,600		15,250	6,650		27,500	12,250		20,500	
big 46	2920	ABgroep	6,600	8,450	1,850		15,000	6,550		27,000	12,000		20,400	
big 47	3967	ABgroep	6,200	7,950	1,750		15,550	7,600		29,000	13,450		22,800	
big 48	2930	ABgroep	7,050	8,700	1,650		14,600	5,900		25,500	10,900		18,450	
big 49	2922	ABgroep	7,250	8,400	1,150		15,450	7,050		24,500	9,050		17,250	
big 50	5013	ABgroep	7,700	9,100	1,400		16,800	7,700		29,000	12,200		21,300	
big 51	2988	ABgroep	7,900	9,200	1,300		14,150	4,950		24,000	9,850		16,100	
big 52	5025	ABgroep	7,750	9,850	2,100		18,650	8,800		32,000	13,350		24,250	
big 53	2971	ABgroep	6,750	7,950	1,200		14,350	6,400		26,500	12,150		19,750	
big 54	4014	ABgroep	7,900	10,550	2,650		19,300	8,750		32,000	12,700		24,100	
big 55	4121	ABgroep	7,050	8,950	1,900		15,100	6,150		26,500	11,400		19,450	
big 56	4194	ABgroep	8,200	10,500	2,300		18,800	8,300		31,500	12,700		23,300	
big 57	4190	ABgroep	6,100	6,800	0,700		12,000	5,200		21,500	9,500		15,400	
big 58	4188	ABgroep	5,600	6,950	1,350		12,600	5,650		22,000	9,400		16,400	
big 59	4179	ABgroep	7,300	8,350	1,050		13,750	5,400		25,000	11,250		17,700	
<b>Totaal zeugen</b>			<b>198,200</b>	<b>247,700</b>	<b>49,500</b>		<b>445,300</b>	<b>197,600</b>		<b>778,500</b>	<b>333,200</b>		<b>580,300</b>	
<b>TOTAAL HOK 1</b>			<b>397,550</b>	<b>489,600</b>	<b>92,050</b>	<b>1,601</b>	<b>902,350</b>	<b>412,750</b>	<b>1,460</b>	<b>1604,000</b>	<b>701,650</b>	<b>1,657</b>	<b>1206,450</b>	<b>1,585</b>

**Bijlage 2: Overzicht begingewichten, groei en VC zuurgroep proef 1**

<i>HOK 1</i>			<i>Bij opzet proef</i>	<i>Na 1e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 1</i>	<i>VC fase 1</i>	<i>Na 2e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 2</i>	<i>VC fase 2</i>	<i>Na 3e fase</i>	<i>Toegenomen na fase 3</i>	<i>VC fase 3</i>	<i>Totaal toegenomen</i>	<i>VC volledig</i>
<b>Deel 1</b>	Nummer	Proef	gewicht (kg)	gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)		(kg)	
big 1	3077	Zuurgroep	5,950	6,950	1,000		12,650	5,700		25,500	12,850		19,550	
big 2	3062	Zuurgroep	6,400	7,350	0,950		13,800	6,450		31,500	17,700		25,100	
big 3	4093	Zuurgroep	5,850	6,950	1,100		12,950	6,000		27,000	14,050		21,150	
big 4	5010	Zuurgroep	7,700	8,850	1,150		14,800	5,950		26,500	11,700		18,800	
big 5	4050	Zuurgroep	7,000	9,300	2,300		16,800	7,500		31,000	14,200		24,000	
big 6	3141	Zuurgroep	6,000	8,350	2,350		15,300	6,950		28,500	13,200		22,500	
big 7	5030	Zuurgroep	6,650	7,050	0,400		11,450	4,400		20,500	9,050		13,850	
big 8	4000	Zuurgroep	6,550	8,550	2,000		13,900	5,350		25,000	11,100		18,450	
big 9	5127	Zuurgroep	5,750	7,150	1,400		13,350	6,200		29,000	15,650		23,250	
big 10	4196	Zuurgroep	7,150	9,050	1,900		15,100	6,050		28,000	12,900		20,850	
big 11	4200	Zuurgroep	7,050	8,400	1,350		14,250	5,850		28,500	14,250		21,450	
big 12	2915	Zuurgroep	6,500	8,250	1,750		14,650	6,400		28,000	13,350		21,500	
big 13	3116	Zuurgroep	6,750	8,500	1,750		16,900	8,400		31,000	14,100		24,250	
big 14	3064	Zuurgroep	7,950	9,200	1,250		16,200	7,000		30,500	14,300		22,550	
big 15	2910	Zuurgroep	6,550	6,650	0,100		11,150	4,500		23,500	12,350		16,950	
big 16	3042	Zuurgroep	8,350	10,000	1,650		16,350	6,350		31,000	14,650		22,650	
big 17	3075	Zuurgroep	6,450	6,600	0,150		12,600	6,000		28,000	15,400		21,550	
big 18	4005	Zuurgroep	6,750	8,000	1,250		14,700	6,700		26,500	11,800		19,750	
big 19	4131	Zuurgroep	6,650	8,900	2,250		15,100	6,200		30,000	14,900		23,350	
big 20	3147	Zuurgroep	6,900	8,400	1,500		14,250	5,850		29,000	14,750		22,100	
big 21	5142	Zuurgroep	6,500	8,100	1,600		14,300	6,200		29,000	14,700		22,500	
big 22	4139	Zuurgroep	5,350	7,000	1,650		12,350	5,350		26,500	14,150		21,150	
big 23	4060	Zuurgroep	6,550	7,900	1,350		13,800	5,900		27,000	13,200		20,450	
big 24	3146	Zuurgroep	6,300	7,900	1,600		13,850	5,950		25,000	11,150		18,700	
big 25	2962	Zuurgroep	6,700	8,700	2,000		16,500	7,800		31,500	15,000		24,800	
big 26	4069	Zuurgroep	6,850	8,450	1,600		15,400	6,950		30,500	15,100		23,650	
big 27	5023	Zuurgroep	6,850	8,550	1,700		15,750	7,200		30,500	14,750		23,650	
big 28	3044	Zuurgroep	7,200	8,600	1,400		15,800	7,200		32,000	16,200		24,800	
big 29	4134	Zuurgroep	6,550	8,800	2,250		17,100	8,300		33,500	16,400		26,950	
<b>Totaal deel 1</b>			<b>193,750</b>	<b>236,450</b>	<b>42,700</b>		<b>421,100</b>	<b>184,650</b>		<b>824,000</b>	<b>402,900</b>		<b>630,250</b>	

<u>HOK 1</u>			<u>Bij opzet proef</u>	<u>Na 1e fase</u>	<u>Toegenomen na fase 1</u>	<u>VC fase 1</u>	<u>Na 2e fase</u>	<u>Toegenomen na fase 1</u>	<u>VC fase 2</u>	<u>Na 3e fase</u>	<u>Toegenomen na fase 3</u>	<u>VC fase 3</u>	<u>Totaal toeegenomen</u>	<u>VC volledig</u>
<u>Deel 2</u>	Nummer	Proef	gewicht (kg)	gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)		gewicht (kg)	gewicht (kg)		(kg)	
big 30	3088	Zuurgroep	7,150	8,900	1,750		14,800	5,900		31,000	16,200		23,850	
big 31	3012	Zuurgroep	6,450	8,100	1,650		14,700	6,600		27,500	12,800		21,050	
big 32	2927	Zuurgroep	7,550	9,100	1,550		15,600	6,500		30,000	14,400		22,450	
big 33	4133	Zuurgroep	7,700	7,750	0,050		12,600	4,850		27,000	14,400		19,300	
big 34	3941	Zuurgroep	7,100	9,400	2,300		18,800	9,400		37,000	18,200		29,900	
big 35	2984	Zuurgroep	7,200	8,800	1,600		15,950	7,150		31,000	15,050		23,800	
big 36	3125	Zuurgroep	7,550	6,850	-0,700		12,250	5,400		27,000	14,750		19,450	
big 37	4023	Zuurgroep	7,450	7,350	-0,100		12,650	5,300		24,000	11,350		16,550	
big 38	4130	Zuurgroep	6,400	5,500	-0,900		18,800	13,300		17,500	-1,300		11,100	
big 39	5117	Zuurgroep	6,900	7,350	0,450		14,000	6,650		28,000	14,000		21,100	
big 40	4128	Zuurgroep	7,900	8,450	0,550		14,700	6,250		27,500	12,800		19,600	
big 41	4008	Zuurgroep	7,500	8,950	1,450		15,500	6,550		31,500	16,000		24,000	
big 42	5130	Zuurgroep	7,350	9,350	2,000		17,000	7,650		31,000	14,000		23,650	
big 43	2934	Zuurgroep	6,300	7,750	1,450									
big 44	3173	Zuurgroep	6,550	7,800	1,250		14,100	6,300		25,000	10,900		18,450	
big 45	3976	Zuurgroep	6,200	8,500	2,300		16,050	7,550		32,000	15,950		25,800	
big 46	5134	Zuurgroep	6,600	8,300	1,700		15,700	7,400		31,000	15,300		24,400	
big 47	4125	Zuurgroep	7,100	8,450	1,350		15,100	6,650		30,000	14,900		22,900	
big 48	4123	Zuurgroep	6,000	7,700	1,700		14,250	6,550		27,000	12,750		21,000	
big 49	4032	Zuurgroep	7,250	9,200	1,950		15,900	6,700		29,500	13,600		22,250	
big 50	3063	Zuurgroep	5,850	6,750	0,900		12,300	5,550		25,500	13,200		19,650	
big 51	4159	Zuurgroep	7,600	9,350	1,750		16,600	7,250		32,500	15,900		24,900	
big 52	4174	Zuurgroep	7,550	8,600	1,050		15,200	6,600		29,500	14,300		21,950	
big 53	2995	Zuurgroep	6,500	8,600	2,100		15,250	6,650		29,500	14,250		23,000	
big 54	3011	Zuurgroep	5,750	7,000	1,250		12,900	5,900		25,500	12,600		19,750	
big 55	4137	Zuurgroep	6,050	7,250	1,200		13,550	6,300		28,000	14,450		21,950	
big 56	4142	Zuurgroep	7,300	9,100	1,800		16,850	7,750		32,500	15,650		25,200	
big 57	4104	Zuurgroep	6,200	6,400	0,200		11,250	4,850		22,500	11,250		16,300	
big 58	4102	Zuurgroep	6,000	6,450	0,450		11,550	5,100		23,000	11,450		17,000	
big 59	4099	Zuurgroep	6,650	7,650	1,000		13,950	6,300		27,000	13,050		20,350	
<b>Totaal deel 2</b>			<b>205,650</b>	<b>240,700</b>	<b>35,050</b>		<b>427,850</b>	<b>194,900</b>		<b>820,000</b>	<b>392,150</b>		<b>620,650</b>	
			6,855	8,023			14,753			28,276				
<b>TOTAAL HOK 1</b>			<b>399,400</b>	<b>477,150</b>	<b>77,750</b>		<b>1,817</b>	<b>848,950</b>	<b>1,521</b>	<b>1644,000</b>	<b>795,050</b>	1,543	<b>1250,900</b>	1,555

**Bijlage 3: Verloop van het gewicht gedurende proef 1**

	Dag	Zuurgroep	ABgroep		Dag	Zuurgroep	ABgroep
<b>9/okt</b>	Fase 1 (1)	6,769	6,738	<b>6/nov</b>	29	13,705	14,306
<b>10/okt</b>	2	6,863	6,850	<b>7/nov</b>	30	14,068	14,695
<b>11/okt</b>	3	6,957	6,962	<b>8/nov</b>	31	14,431	15,084
<b>12/okt</b>	4	7,051	7,074	<b>9/nov</b>	Fase 2 (32)	15,027	15,601
<b>13/okt</b>	5	7,145	7,186	<b>10/nov</b>	33	15,623	16,118
<b>14/okt</b>	6	7,239	7,298	<b>11/nov</b>	34	16,219	16,635
<b>15/okt</b>	7	7,333	7,410	<b>12/nov</b>	35	16,815	17,152
<b>16/okt</b>	8	7,427	7,522	<b>13/nov</b>	36	17,411	17,669
<b>17/okt</b>	9	7,521	7,634	<b>14/nov</b>	37	18,007	18,186
<b>18/okt</b>	10	7,615	7,746	<b>15/nov</b>	38	18,603	18,703
<b>19/okt</b>	11	7,709	7,858	<b>16/nov</b>	39	19,199	19,220
<b>20/okt</b>	12	7,803	7,970	<b>17/nov</b>	40	19,795	19,737
<b>21/okt</b>	13	7,897	8,082	<b>18/nov</b>	41	20,391	20,254
<b>22/okt</b>	Fase 2 (14)	8,260	8,471	<b>19/nov</b>	42	20,987	20,771
<b>23/okt</b>	15	8,623	8,860	<b>20/nov</b>	43	21,583	21,288
<b>24/okt</b>	16	8,986	9,249	<b>21/nov</b>	44	22,179	21,805
<b>25/okt</b>	17	9,349	9,638	<b>22/nov</b>	45	22,775	22,322
<b>26/okt</b>	18	9,712	10,027	<b>23/nov</b>	46	23,371	22,839
<b>27/okt</b>	19	10,075	10,416	<b>24/nov</b>	47	23,967	23,356
<b>28/okt</b>	20	10,438	10,805	<b>25/nov</b>	48	24,563	23,873
<b>29/okt</b>	21	10,801	11,194	<b>26/nov</b>	49	25,159	24,390
<b>30/okt</b>	22	11,164	11,583	<b>27/nov</b>	50	25,755	24,907
<b>31/okt</b>	23	11,527	11,972	<b>28/nov</b>	51	26,351	25,424
<b>1/nov</b>	24	11,890	12,361	<b>29/nov</b>	52	26,947	25,941
<b>2/nov</b>	25	12,253	12,750	<b>30/nov</b>	53	27,543	26,458
<b>3/nov</b>	26	12,616	13,139	<b>1/dec</b>	54	28,139	26,975
<b>4/nov</b>	27	12,979	13,528	<b>2/dec</b>	55	28,735	27,492
<b>5/nov</b>	28	13,342	13,917				

#### Bijlage 4: Overzicht meelverbruik proef 1

Dag	Datum	Zuiver fase 1		Opmerking	Antibioticagroep (kg)	Opmerking
			Zuurgroep (kg)			
1	Woensdag	9/okt	20		20	
2	donderdag	10/okt	7,3		11,95	
3	Vrijdag	11/okt				
4	Zaterdag	12/okt	24,15		16,65	
5	Zondag	13/okt				
6	Maandag	14/okt				
7	Dinsdag	15/okt	39,05		45,8	
8	Woensdag	16/okt				
9	Donderdag	17/okt				
10	Vrijdag	18/okt				
11	Zaterdag	19/okt	48,95		44,5	
12	Zondag	20/okt				
13	Maandag	21/okt	28,6		23,7	
14	Dinsdag	22/okt	-26,8	einde alleen fase 1	-15,25	einde alleen fase 1
		<b>Overgang</b>	26,8	fase 1	9	fase 1
			27	fase 2	9,15	fase 2
		<b>Zuiver fase 2</b>			40,85	
15	Woensdag	23/okt	23,5		27,7	
16	Donderdag	24/okt	23,4		28,05	
17	Vrijdag	25/okt				
18	Zaterdag	26/okt	50,05	Met AB (Doxy)	43	
19	Zondag	27/okt				
20	Maandag	28/okt	49,65	Met AB (Doxy)	52,3	
21	Dinsdag	29/okt	35,4		30,1	
22	Woensdag	30/okt				
23	Donderdag	31/okt	87,15		88,25	
24	Vrijdag	1/nov				
25	Zaterdag	2/nov	63,95		60,25	
26	Zondag	3/nov				
27	Maandag	4/nov	44,3		61,63	
28	Dinsdag	5/nov	37,35	Geen zuur meer vanaf hier	31,05	Geen AB meer vanaf hier
29	Woensdag	6/nov	40,55		54,35	
30	Donderdag	7/nov	23,7		45,25	
31	Vrijdag	8/nov	44,5		21,5	
32	Zaterdag	9/nov				
		<b>Zuiver fase 3</b>				
33	Zondag	10/nov	114,35		124,8	
34	Maandag	11/nov				
35	Dinsdag	12/nov	48,9		23,95	
36	Woensdag	13/nov				
37	Donderdag	14/nov	102,75		106,75	
38	Vrijdag	15/nov				
39	Zaterdag	16/nov	53,6		62,7	
40	Zondag	17/nov				
41	Maandag	18/nov	204,1		206,1	
42	Dinsdag	19/nov				
43	Woensdag	20/nov				
44	Donderdag	21/nov	154,9		153,9	
45	Vrijdag	22/nov				
46	Zaterdag	23/nov				
47	Zondag	24/nov	102,55		98,55	
48	Maandag	25/nov				
49	Dinsdag	26/nov	117,55		116,55	
50	Woensdag	27/nov				
51	Donderdag	28/nov	128,05		88,2	
52	Vrijdag	29/nov				
53	Zaterdag	30/nov	110,05		122,55	
54	Zondag	1/dec	89,7		58,45	
55	Maandag	2/dec				

### Bijlage 5: Overzicht antibioticagebruik proef 1

FASE 1	Soort antibiotica	Eenheid	Dag	Hoeveelheid voeder		Gewicht		Werkelijke hoeveelheid AB (kg)		
				Zuurgroep (kg)	ABgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	ABgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	ABgroep (kg)	
VAST	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	1	0	20		6,74	0,000	0,014	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	1	0	20		6,74	0,000	0,006	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	2	0	11,95		6,85	0,000	0,008	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	2	0	11,95		6,85	0,000	0,006	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	4	0	16,65		7,07	0,000	0,012	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	4	0	16,65		7,07	0,000	0,006	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	7	0	45,8		7,41	0,000	0,032	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	7	0	45,8		7,41	0,000	0,006	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	11	0	44,5		7,86	0,000	0,031	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	11	0	44,5		7,86	0,000	0,006	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	13	0	8,45		8,08	0,000	0,006	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	13	0	8,45		8,08	0,000	0,007	
	VLOEIBAAR	draxxin	0,2 cc/big	5					0,001	0,000
<b>FASE 2</b>										
VAST	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	15	0	77,7		8,86	0,000	0,054	
	Apralan	1000 gram/ton	15	0	77,7		8,86	0,000	0,078	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	16	0	28,05		9,25	0,000	0,020	
	Apralan	1000 gram/ton	16	0	28,05		9,25	0,000	0,028	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	18	0	43		10,03	0,000	0,030	
	Apralan	1000 gram/ton	18	0	43		10,03	0,000	0,043	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg Lg	18	50,05	0	9,71	0,00	0,008	0,000	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	20	0	52,3		10,81	0,000	0,037	
	Apralan	1000 gram/ton	20	0	52,3		10,81	0,000	0,052	
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg Lg	20	49,65	0	10,44	0,00	0,008	0,000	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	21	0	30,1		11,19	0,000	0,021	
	Apralan	1000 gram/ton	21	0	30,1		11,19	0,000	0,030	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	23	0	88,25		11,97	0,000	0,062	
	Apralan	1000 gram/ton	23	0	88,25		11,97	0,000	0,088	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	25	0	60,25		12,75	0,000	0,042	
	Apralan	1000 gram/ton	25	0	60,25		12,75	0,000	0,060	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	27	0	61,63		13,53	0,000	0,043	
	Apralan	1000 gram/ton	27	0	61,63		13,53	0,000	0,062	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	28	0	31,05		13,92	0,000	0,022	
	Apralan	1000 gram/ton	28	0	31,05		13,92	0,000	0,031	
VLOEIBAAR	Floxaline	1 cc/big	18					0,003	0,001	
								<b>Zuurgroep</b>	<b>ABgroep</b>	
								<b>TOTAAL</b>	0,020	0,944
								<b>Per big (kg)</b>	0,000	0,016
								<b>Per big (gram)</b>	0,348	15,998

## Bijlagen proef 2

Bijlage 6: Overzicht begingewichten, groei en VC antibioticagroep proef 2

Hok	Deel	Aantal biggen	Proef	<u>Bij opzet proef</u>	<u>Per big bij opzet proef</u>	<u>Per hok</u>	Aantal biggen	<u>Na 1e fase</u>	Toegenomen gewicht na fase 1	Toegenomen per big na fase 1	Per hok na fase 1	Toegenomen per hok na fase 1	VC na fase 1
				gewicht (kg)	gewicht (kg)			gewicht (kg)					
Hok 1	1	32	ABgroep	190,000	5,938	426	32	235,500	45,500	1,422	552,500	126,500	1,598
	2	32	ABgroep	236,000	7,375		32	317,000	81,000	2,531			
Hok 2	1	32	ABgroep	213,500	6,672	432	32	271,500	58,000	1,813	550,000	118,000	1,754
	2	32	ABgroep	218,500	6,828		32	278,500	60,000	1,875			
Hok 3	1	32	ABgroep	178,500	5,578	349,5	32	234,000	55,500	1,734	460,500	111,000	1,597
	2	32	ABgroep	171,000	5,344		32	226,500	55,500	1,734			

<u>Na 2e fase</u>	Aantal biggen	Toegenomen gewicht na fase 2	Toegenomen per big na fase 2	Per hok na fase 2	Toegenomen per hok na fase 2	VC na fase 2	<u>Na 3e fase</u>	Aantal biggen	Toegenomen gewicht na fase 3	Toegenomen per big na fase 3
400,000	32	164,500	5,141	932,000	379,500	1,433	734,000	32	334,000	10,438
532,000	32	215,000	6,719				916,500	32	384,500	12,016
474,000	32	202,500	6,328	954,500	404,500	1,452	849,000	32	375,000	11,719
480,500	32	202,000	6,313				855,000	32	374,500	11,703
401,000	31	167,000	5,270	796,500	336,000	1,469	729,000	31	328,000	10,581
395,500	32	169,000	5,281				720,500	31	325,000	10,450

Per hok na fase 3	Toegenomen per hok na fase 3	VC na fase 3	<u>Toegenomen volledige periode</u>	Toegenomen per big volledige periode	Toegenomen per big per hok volledige periode	Eindgewicht		VC volledig
1650,500	718,500	1,455	544,000	17,000	19,133	22,938	25,789	1,463
			680,500	21,266		28,641		
1704,000	749,500	1,551	635,500	19,859	19,875	26,531	26,625	1,538
			636,500	19,891		26,719		
1449,500	653,000	1,506	550,500	17,585	17,526	23,163	22,986	1,495
			549,500	17,466		22,810		



**Bijlage 7: Overzicht begingewichten, groei en voederconversie zuurgroep proef 2**

Hok	Deel	Aantal	Proef	<u>Bij opzet proef</u>	<u>Per big bij opzet proef</u>	<u>Per hok</u>	Aantal biggen	<u>Na 1e fase</u>	Toegenomen gewicht na fase 1	Toegenomen per big na fase 1	Per hok na fase 1	Toegenomen per hok	VC na fase 1
				gewicht (kg)				gewicht (kg)					
Hok 1	1	32	zuurgroep	215,000	6,719	427	32	268,000	53,000	1,656	533,000	106,000	1,708
	2	32	zuurgroep	212,000	6,625		32	265,000	53,000	1,656			
Hok 2	1	32	zuurgroep	202,000	6,313	422,5	31	244,000	42,000	1,336	526,500	104,000	1,732
	2	32	zuurgroep	220,500	6,891		32	282,500	62,000	1,938			
Hok 3	1	32	zuurgroep	169,500	5,297	339,5	32	220,500	51,000	1,594	449,000	109,500	1,556
	2	32	zuurgroep	170,000	5,313		32	228,500	58,500	1,828			

<u>Na 2e fase</u>	Aantal biggen	Toegenomen gewicht na fase 2	Toegenomen per big na fase 2	Per hok na fase 2	Toegenomen per hok na fase 2	VC na fase 2	<u>Na 3e fase</u>	Aantal biggen	Toegenomen gewicht na fase 3	Toegenomen per big na fase 3
gewicht (kg)							gewicht (kg)			
428,000	31	160,000	5,120	864	331	1,571	827,000	31	399,000	12,871
436,000	31	171,000	5,472				806,000	31	370,000	11,935
407,500	31	163,500	5,274	881	354,5	1,469	739,000	31	331,500	10,694
473,500	32	191,000	5,969				848,000	32	374,500	11,703
375,500	32	155,000	4,844	776	327	1,458	671,000	32	295,500	9,234
400,500	32	172,000	5,375				749,000	32	348,500	10,891

Per hok na fase 3	Toegenomen per hok na fase 3	VC na fase 3	<u>Toegenomen volledige periode</u>	Toegenomen per big volledige periode	Toegenomen per big per hok volledige periode	Eindgewicht		Voederconversie
1633,000	769,000	1,488	612,000	19,647	19,355	26,366	26,027	1,520
			594,000	19,064		25,689		
1587,000	706,000	1,531	537,000	17,304	18,457	23,617	25,058	1,529
			627,500	19,609		26,500		
1420,000	644,000	1,534	501,500	15,672	16,883	20,969	22,188	1,513
			579,000	18,094		23,406		

**Bijlage 8: Verloop van het gemiddeld gewicht proef 2**

	Dag	Zuurgroep	ABgroep		Dag	Zuurgroep	ABgroep
<b>6/nov</b>	Fase 1 (1)	6,19	6,29	<b>3/dec</b>	28	12,45	13,09
<b>7/nov</b>	2	6,31	6,42	<b>4/dec</b>	29	12,79	13,45
<b>8/nov</b>	3	6,43	6,55	<b>5/dec</b>	Fase 3 (30)	13,12	13,81
<b>9/nov</b>	4	6,55	6,68	<b>6/dec</b>	31	13,61	14,30
<b>10/nov</b>	5	6,67	6,82	<b>7/dec</b>	32	14,10	14,78
<b>11/nov</b>	6	6,79	6,95	<b>8/dec</b>	33	14,59	15,26
<b>12/nov</b>	7	6,91	7,08	<b>9/dec</b>	34	15,08	15,74
<b>13/nov</b>	8	7,03	7,21	<b>10/dec</b>	35	15,57	16,23
<b>14/nov</b>	9	7,15	7,34	<b>11/dec</b>	36	16,06	16,71
<b>15/nov</b>	10	7,27	7,47	<b>12/dec</b>	37	16,55	17,19
<b>16/nov</b>	11	7,39	7,60	<b>13/dec</b>	38	17,04	17,67
<b>17/nov</b>	12	7,51	7,74	<b>14/dec</b>	39	17,53	18,16
<b>18/nov</b>	13	7,63	7,87	<b>15/dec</b>	40	18,02	18,64
<b>19/nov</b>	Fase 2 (14)	7,75	8,00	<b>16/dec</b>	41	18,51	19,12
<b>20/nov</b>	15	8,09	8,36	<b>17/dec</b>	42	19,00	19,60
<b>21/nov</b>	16	8,42	8,73	<b>18/dec</b>	43	19,49	20,09
<b>22/nov</b>	17	8,76	9,09	<b>19/dec</b>	44	19,98	20,57
<b>23/nov</b>	18	9,09	9,45	<b>20/dec</b>	45	20,47	21,05
<b>24/nov</b>	19	9,43	9,82	<b>21/dec</b>	46	20,96	21,53
<b>25/nov</b>	20	9,76	10,18	<b>22/dec</b>	47	21,45	22,02
<b>26/nov</b>	21	10,10	10,54	<b>23/dec</b>	48	21,94	22,50
<b>27/nov</b>	22	10,44	10,91	<b>24/dec</b>	49	22,43	22,98
<b>28/nov</b>	23	10,77	11,27	<b>25/dec</b>	50	22,92	23,46
<b>29/nov</b>	24	11,11	11,63	<b>26/dec</b>	51	23,41	23,95
<b>30/nov</b>	25	11,44	12,00	<b>27/dec</b>	52	23,91	24,43
<b>1/dec</b>	26	11,78	12,36	<b>28/dec</b>	53	24,40	24,91
<b>2/dec</b>	27	12,11	12,72				

**Bijlage 9: Overzicht meelverbruik proef 2**

Dag	Datum		Antibioticagroep (kg)			Zuurgroep (kg)			Opmerking	
			Zuiver fase 1	Hok 1	Hok 2	Hok 3	Hok 1	Hok 2		Hok 3
1	Woensdag	6/nov		10,2	9,05	10,55	10,25	10,45	11,95	
2	Donderdag	7/nov		16,35	16,05	12,05	11,25	12,05	27,9	
3	Vrijdag	8/nov		28,55	27,9	22,25	5	0,85	-25,05	
4	Zaterdag	9/nov					39,35	37,6	31,15	MET AB (Doxy)
5	Zondag	10/nov								
6	Maandag	11/nov		23,7	23,85	24,3			16,95	MET AB (Doxy)
7	Dinsdag	12/nov		29,3	31,05	32,5	28,25	43,6	21,3	
8	Woensdag	13/nov								
9	Donderdag	14/nov		29,85	28,35	22,3	27,85	20,75	31,3	
10	Vrijdag	15/nov								
11	Zaterdag	16/nov		32,35	32,35	32,85	39,35	36,85	36,35	
12	Zondag	17/nov								
13	Maandag	18/nov		44,7	42,7	27,85	28,85	28,85	24,85	
14	Dinsdag	19/nov		-12,85	-4,35	-7,35	-9,1	-10,85	-6,35	
			Overgang	12,85	4,35	7,35	9,1	10,85	6,35	fase 1
				49,1	46,7	36	48,2	51,2	51,7	fase 2
15	Woensdag	20/nov	Zuiver fase 2							
16	Donderdag	21/nov		47,85	66,2	46,85	40,85	41,35	41,85	
17	Vrijdag	22/nov								
18	Zaterdag	23/nov		64,7	65,7	58,2	62,7	57,7	62,7	
19	Zondag	24/nov								
20	Maandag	25/nov		40,35	51,7	40,35	42,85	38,35	28,35	Met AB (Amoxy)
21	Dinsdag	26/nov		70,7	78,2	71,7	72,2	72,7	60,7	
22	Woensdag	27/nov								
23	Donderdag	28/nov		46,85	46,35	44,85	48,35	46,85	46,35	
24	Vrijdag	29/nov		47,85	49,25	49,85	44,85	43,35	31,25	
25	Zaterdag	30/nov		29,35	29,85	30,25	40,35	30,35	20,35	
26	Zondag	1/dec		72,55	77,7	66,7	52,7	64,2	76,7	vanaf hier zonder AB en zuur
27	Maandag	2/dec								
28	Dinsdag	3/dec		61,85	71,35	41,35	57,85	63,85	50,35	
29	Woensdag	4/dec								
30	Donderdag	5/dec	Overgang	21,35	22,35	53,85	39,85	29,85	41,35	fase 2
				92,2	92,7	79,7	98,7	91,7	84,7	fase 3
31	Vrijdag	6/dec	Zuiver fase 3							
32	Zaterdag	7/dec		88,7	93,7	92,7	95,7	89,7	89,2	
33	Zondag	8/dec								
34	Maandag	9/dec		92,1	101,1	42,85	83,2	73,5	47,35	
35	Dinsdag	10/dec								
36	Woensdag	11/dec		51,35	93,2	80,7	46,35	92,7	86,7	
37	Donderdag	12/dec								
38	Vrijdag	13/dec		132,55	136,55	95,7	135,55	128,05	131,55	
39	Zaterdag	14/dec								
40	Zondag	15/dec								
41	Maandag	16/dec		84,2	48,35	47,35	93,2	48,85	49,85	
42	Dinsdag	17/dec								
43	Woensdag	18/dec		93,7	174,05	133,55	146,7	122,05	93,2	
44	Donderdag	19/dec								
45	Vrijdag	20/dec		133,55	137,05	135,05	148,9	142,05	141,55	
46	Zaterdag	21/dec								
47	Zondag	22/dec		144,55	138,05	93,2	124,55	134,55	95,7	
48	Maandag	23/dec								
49	Dinsdag	24/dec								
50	Woensdag	25/dec		111,05	125,55	128,55	131,55	127,55	126,55	
51	Donderdag	26/dec								
52	Vrijdag	27/dec		26,5	67,85	60,35	85,35	34,85	53,85	
53	Zaterdag	28/dec								

## Bijlage 10: Overzicht antibioticagebruik hok 1 proef 2

FASE 1	Soort antibiotica	Eenheid	Dag	Hoeveelheid voeder		Gewicht		Werkelijke hoeveelheid AB (kg)	
				Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)
VAST	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	1		10,2		6,66		0,007
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	1		10,2		6,66		0,006
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	2		16,35		6,79		0,011
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	2		16,35		6,79		0,006
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	3		28,55		6,92		0,020
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	3		28,55		6,92		0,006
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	4	39,35		7,03		0,006	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	6		23,7		7,31		0,017
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	6		23,7		7,31		0,007
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	7		29,3		7,45		0,021
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	7		29,3		7,45		0,007
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	9		29,85		7,71		0,021
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	9		29,85		7,71		0,007
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	11		32,35		7,97		0,023
Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	11		32,35	n	7,97		0,007	
amoxicilline 70 %	700 gram/ton	13		31,85	n	8,24		0,022	
Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	13		31,85		8,24		0,007	
<b>FASE 2</b>									
VAST	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	16		109,8		9,16		0,077
	Apralan	1000 gram/ton	16		109,8		9,16		0,110
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	18		64,7		9,95		0,045
	Apralan	1000 gram/ton	18		64,7		9,95		0,065
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	20		40,35		10,74		0,028
	Apralan	1000 gram/ton	20		40,35		10,74		0,040
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	20	42,85		10,22		0,030	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	21		70,7		11,13		0,049
	Apralan	1000 gram/ton	21		70,7		11,13		0,071
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	23		46,85		11,92		0,033
	Apralan	1000 gram/ton	23		46,85		11,92		0,047
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	24		47,85		12,32		0,033
	Apralan	1000 gram/ton	24		47,85		12,32		0,048
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	25		29,35		12,71		0,021
	Apralan	1000 gram/ton	25		29,35		12,71		0,029
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	26		72,55		13,11		0,051
Apralan	1000 gram/ton	26		72,55		13,11		0,073	
							TOTAAL	0,036	1,014
							Per big (kg)	0,001	0,016
							Per big (gram)	0,574	15,845

## Bijlage 11: Overzicht antibioticagebruik hok 2 proef 2

FASE 1	Soort antibiotica	Eenheid	Dag	Hoeveelheid voeder		Gewicht		Werkelijke hoeveelheid AB (kg)	
				Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)
VAST	amoxicilline 70%	700 gram/ton	1		9,05		6,75		0,006
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	1		9,05		6,75		0,006
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	2		16,05		6,89		0,011
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	2		16,05		6,89		0,006
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	3		27,9		7,03		0,020
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	3		27,9		7,03		0,006
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	4		37,6		6,95		0,006
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	6		23,85		7,46		0,017
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	6		23,85		7,46		0,007
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	7		31,05		7,60		0,022
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	7		31,05		7,60		0,007
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	9		28,35		7,88		0,020
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	9		28,35		7,88		0,007
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	11		32,35		8,16		0,023
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	11		32,35		8,16		0,007
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	13		38,35		8,44		0,027
Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	13		38,35		8,44		0,008	
<b>FASE 2</b>									
VAST	amoxicilline 70%	700 gram/ton	16		117,25		9,33		0,082
	Apralan	1000 gram/ton	16		117,25		9,33		0,117
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	18		65,7		10,07		0,046
	Apralan	1000 gram/ton	18		65,7		10,07		0,066
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	20		51,7		10,81		0,036
	Apralan	1000 gram/ton	20		51,7		10,81		0,052
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	20		38,35		10,24		0,027
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	21		78,2		11,18		0,055
	Apralan	1000 gram/ton	21		78,2		11,18		0,078
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	23		46,35		11,92		0,032
	Apralan	1000 gram/ton	23		46,35		11,92		0,046
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	24		49,25		12,29		0,034
	Apralan	1000 gram/ton	24		49,25		12,29		0,049
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	25		29,85		12,66		0,021
	Apralan	1000 gram/ton	25		29,85		12,66		0,030
	amoxicilline 70%	700 gram/ton	26		77,7		13,03		0,054
Apralan	1000 gram/ton	26		77,7		13,03		0,078	
							TOTAAL	0,033	1,076
							Per big (kg)	0,001	0,017
							Per big (gram)	0,523	16,813

**Bijlage 12: Overzicht antibioticagebruik hok 3 proef 2**

FASE 1	Soort antibiotica	Eenheid	Dag	Hoeveelheid voeder		Gewicht		Werkelijke hoeveelheid AB (kg)	
				Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)	Zuurgroep (kg)	Abgroep (kg)
VAST	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	1		10,55		5,46		0,007
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	1		10,55		5,46		0,005
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	2		12,05		5,58		0,008
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	2		12,05		5,58		0,005
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	3		22,25		5,71		0,016
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	3		22,25		5,71		0,005
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	4	48,1		5,67		0,005	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	6		24,3		6,08		0,017
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	6		24,3		6,08		0,005
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	7		32,5		6,20		0,023
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	7		32,5		6,20		0,006
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	9		22,3		6,45		0,016
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	9		22,3		6,45		0,006
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	11		32,85		6,70		0,023
	Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	11		32,85		6,70		0,006
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	13		20,5		6,95		0,014
Doxycycline 75 %	14 mg/kg LG	13		20,5		6,95		0,006	
<b>FASE 2</b>									
VAST	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	16		90,2		7,73		0,063
	Apralan	1000 gram/ton	16		90,2		7,73		0,090
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	18		58,2		8,39		0,041
	Apralan	1000 gram/ton	18		58,2		8,39		0,058
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	20		40,35		9,05		0,028
	Apralan	1000 gram/ton	20		40,35		9,05		0,040
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	20	28,35		8,81		0,020	
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	21		71,7		9,38		0,050
	Apralan	1000 gram/ton	21		71,7		9,38		0,072
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	23		44,85		10,04		0,031
	Apralan	1000 gram/ton	23		44,85		10,04		0,045
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	24		49,85		10,37		0,035
	Apralan	1000 gram/ton	24		49,85		10,37		0,050
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	25		30,25		10,70		0,021
	Apralan	1000 gram/ton	25		30,25		10,70		0,030
	amoxicilline 70 %	700 gram/ton	26		66,7		11,03		0,047
	Apralan	1000 gram/ton	26		66,7		11,03		0,067
							TOTAAL		0,025
						Per big (kg)		0,000	0,015
						Per big (gram)		0,389	14,645

**Bijlage 13: Gemiddeld aantal biggen aanwezig voor antibioticagebruik proef 2**

	zuurgroep (1)	Abgroep (1)	Zuurgroep (2)	Abgroep (2)	Zuurgroep (3)	Abgroep (3)
1 (Fase 1)	64	64	64	64	64	64
2	64	64	64	64	64	64
3	64	64	64	64	64	64
4	64	64	64	64	64	64
5	64	64	64	64	64	64
6	64	64	64	64	64	64
7	64	64	63	64	64	64
8	64	64	63	64	64	64
9	64	64	63	64	64	64
10	64	64	63	64	64	64
11	64	64	63	64	64	64
12	64	64	63	64	64	64
13	64	64	63	64	64	64
14 (Fase 2)	64	64	63	64	64	64
15	64	64	63	64	64	64
16	64	64	63	64	64	64
17	62	64	63	64	64	64
18	62	64	63	64	64	64
19	62	64	63	64	64	64
20	62	64	63	64	64	64
21	62	64	63	64	64	64
22	62	64	63	64	64	64
23	62	64	63	64	64	64
24	62	64	63	64	64	64
25	62	64	63	64	64	64
26	62	64	63	64	64	63

**Bijlage 14: Normaliteitstest proef 1**

**Tests of Normality**

behandeling	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
G1 zuur	,084	58	,200*	,988	58	,857
G1 AB	,087	59	,200*	,976	59	,287
G2 zuur	,126	58	,023	,964	58	,081
G2 AB	,064	59	,200*	,983	59	,586
G3 zuur	,061	58	,200*	,983	58	,609
G3 AB	,083	59	,200*	,984	59	,611
G4 zuur	,085	58	,200*	,966	58	,101
G4 AB	,059	59	,200*	,986	59	,724
GR1 zuur	,150	58	,002	,912	58	,000
GR1 AB	,071	59	,200*	,982	59	,543
GR2 zuur	,138	58	,008	,908	58	,000
GR2 AB	,041	59	,200*	,986	59	,715
GR3 zuur	,152	58	,002	,743	58	,000
GR3 AB	,112	59	,061	,958	59	,039
GR4 zuur	,086	58	,200*	,974	58	,257
GR4 AB	,057	59	,200*	,992	59	,969

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## Bijlage 15: Normaliteitstest proef 2

Tests of Normality							
Behandeling		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
1	g1	,186	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,944	6	,694
	g2	,263	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,891	6	,325
	g3	,286	6	,135	,856	6	,175
	g4	,286	6	,136	,845	6	,143
2	g1	,233	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,824	6	,095
	g2	,210	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,943	6	,680
	g3	,135	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,994	6	,997
	g4	,221	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,896	6	,352

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality							
Tests of Normality							
Behandeling		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
1	gr1	,308	6	,078	,854	6	,168
	gr2	,293	6	,118	,834	6	,116
	gr3	,282	6	,148	,801	6	,059
	grT	,268	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,883	6	,283
2	gr1	,193	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,956	6	,787
	gr2	,199	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,969	6	,884
	gr3	,170	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,976	6	,928
	grT	,204	6	,200 <sup>ˆ</sup>	,899	6	,370

\*. This is a lower bound of the true significance.



a. Lilliefors Significance Correction

## Bijlage 16: Gegevens bij berekening economische berekening



Prijzen voeders	Fase 1	736 €/ton
	Fase 2	562 €/ton
	Fase 3	358 €/ton
Prijzen zuur	Selko pH	2,13 €/kg
Prijzen antibiotica	Amoxiciline	63,5 €/kg
	Doxycycline 75 %	65,2 €/kg
	Apralan	35,7 €/kg
	Floxaline	223 €/l
	Draxin	1770 €/l
Opbrengst biggen	20 kg	43 €
	21 kg	44 €
	22 kg	45 €
	23 kg	46 €
	24 kg	46,8 €
	25 kg	47,5 €
	25,448 kg	47,7 €
25,822 kg	47,9 €	



Bijlage 17: Speenmeel fase 1

 <b>ALGOET, VOEDERS</b> VUVESTRAAT 191 B-9870 ZULTE T: 056/625120 F: 056/625121 E-mail: info@algoet.be		 <b>1257</b>	
Etik. nr. 08E2111			
<b>SPEENMEEL PEKASO BIV</b>			
Volledig diervoeder voor baby-biggen Laagfosforvoeder			
<b>GEBRUIKSAANWIJZING</b> bij de zeug tot 25 kg			
<b>SAMENSTELLING</b> gerst, maïs, sojabonen geroast (geproduceerd met genetisch gemodificeerde soja), tarwe, bietenpulp, kokosolie			
<b>ANALYTISCHE WAARBORGEN</b>			
Ruwe Eiwit		16,5 %	
Ruwe Vet		7,5 %	
Ruwe As		4 %	
Ruwe celstof		3 %	
Calcium		0,62 %	
Totaal fosfor		0,44 %	
Natrium		0,23 %	
Lysine		1,3 %	
Methionine		0,48 %	
<b>TOEVOEGINGSMIDDELEN PER KG</b>			
<b>Antioxidanten</b>			
Butylhydroxytolueen (BHT) (E321)			
Ethoxyquine (E324)			
<b>Vitaminen, provitaminen</b>			
Vitamine A (E672)		15.000 IE/kg	
Vitamine D3 (E671)		2.000 IE/kg	
Vitamine E (E307)		120 mg/kg	
<b>Sporenelementen</b>			
Mangaan(II)oxide - Mangaan (E5)		15 mg/kg	
Zinksulfaat, -monohydraat - Zink (E5)		20 mg/kg	
Koper(II)sulfaat, pentahydraat (E4)		46 mg/kg	
Ijzer(II)sulfaat, monohydraat - Ijzer (E1)		15 mg/kg	
Natriumseleniet - Selenium (E8)		0,2 mg/kg	
Selenomethionine geproduceerd door Saccharomyces c (308.11)		0,1 mg/kg	
Ijzer(II)chelaat van aminozuren (E1)		45 mg/kg	
Koper(II)chelaat van aminozuren (E4)		60 mg/kg	
Mangaan(III)chelaat van Zn aminozuren gehydrateerd (E5)		30 mg/kg	
Zinkchelaat van aminozuren, gehydrateerd (E5)		54 mg/kg	
<b>Verteringsbevorderaars</b>			
6-Phytase EC 3.1.3.26 (4a1640)		700 FTU/kg	
<b>Andere zoötechnische toevoegingsmiddelen</b>			
Benzoëzuur (4d210)		2,74 mg/kg	
Netto gewicht: silo Lot nr.: 160514 Productcategorie: 4 Product nr.: 1257 Ten minste houdbaar tot: 14/08/2014 Gefabriceerd 90 dagen voor de aangegeven datum van minimumhoudbaarheid. Droog en koel bewaren			

Bijlage 18: Speenmeel fase 2

	<b>ALGOET, VOEDERS</b> VUVESTRAAT 191 B-9870 ZULTE T: 056/625120 F: 056/625121 E-mail: info@algoet.be	 <b>1210</b>
Ref. nr. <b>08E2111</b> <b>SPEENMEEL BIV</b>		
Volledig diervoeder voor baby-biggen Laagfosforvoeder		
<b>GEBRUIKSAANWIJZING</b>		
bij de zeug tot 25 kg		
<b>SAMENSTELLING</b>		
gerst, maïs, sojabonen, getoast (geproduceerd met genetisch gemodificeerde soja), tarwe, bietenpulp, kokosolie		
<b>ANALYTISCHE WAARBORGEN</b>		
Ruw Eiwit	17 %	
Ruw Vet	5,9 %	
Ruwe As	4 %	
Ruwe celstof	3,6 %	
Calcium	0,63 %	
Totaal fosfor	0,45 %	
Natrium	0,25 %	
Lysine	1,3 %	
Methionine	0,41 %	
<b>TOEVOEGINGSMIDDELEN PER KG</b>		
<b>Antioxidanten</b>		
Butylhydroxytolueen (BHT) (E321)		
Ethoxyquine (E324)		
<b>Vitaminen, provitaminen</b>		
Vitamine A (E672)	15.000 IE/kg	
Vitamine D3 (E671)	2.000 IE/kg	
Vitamine E (E307)	100 mg/kg	
BiotineD-(+)-biotine (E304bis)	0,3 mg/kg	
<b>Sporenelementen</b>		
Natriumseleniet - Selenium (E8)	0,2 mg/kg	
Watervrij calciumjodaat - Jodium (E2)	1,9 mg/kg	
Selenomethionine geproduceerd door Saccharomyces c (3b8.11)	0,1 mg/kg	
Ijzer(II)chelaat van aminozuren (E1)	40 mg/kg	
Koper(II)chelaat van aminozuren (E4)	90 mg/kg	
Mangaan(III)chelaat van Zn aminozuren gehydrateerd (E5)	20 mg/kg	
Zinkchelaat van aminozuren,gehydrateerd (E6)	50 mg/kg	
<b>Verteringsbevorderaars</b>		
3-lytaseEC 3.1.3.8 (4a1600)	1.000 FTU/kg	
<b>Andere zoötechnische toevoegingsmiddelen</b>		
Benzoëzuur (4a210)	4 mg/kg	
Netto gewicht: silo Lot nr.: 160514 Productcategorie: 4 Product nr.: 1210 Ten minste houdbaar tot: 14/08/2014 Gefabriceerd 90 dagen voor de aangegeven datum van minimumhoudbaarheid. Droog en koel bewaren		