

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Février 2013

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Février 2013

Édition scientifique

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage
pour diminuer le recours aux antibiotiques

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 12 mars 2012 par la DGAI, pour mener une évaluation bénéfice/risque de l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage, comme alternative aux antibiotiques pour la prévention et le traitement des diarrhées.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire, qui comporte 40 mesures à mettre en œuvre d'ici 2017, envisage dans la mesure 19 le développement d'alternatives aux antibiotiques (AB), permettant d'en diminuer l'utilisation. Cette mesure prévoit notamment de procéder à une évaluation bénéfice/risque des produits susceptibles de constituer de telles alternatives. Dans ce cadre l'oxyde de zinc (ZnO), pouvant être utilisé pour diminuer les diarrhées des porcelets en post-sevrage, fait l'objet de la présente saisine.

Lors de leur sevrage, les porcelets présentent fréquemment des troubles digestifs et un retard de croissance dus au changement de régime alimentaire et au stress lié à l'allotement. Dans le but d'enrayer ces pertes, une proportion importante d'élevages reçoit de manière systématique et préventive, un traitement antibiotique sous forme d'aliment médicamenteux (colistine ou autre antibiotique en association).

En alternative à ces traitements antibiotiques, certains pays européens autorisent déjà le ZnO à des doses élevées dans l'alimentation des porcelets, sous forme de prémélange médicamenteux, à cette même période du sevrage. L'autorisation n'existe pas en France aujourd'hui.

Dans ce contexte, l'Anses est sollicitée pour :

- ✓ procéder à une évaluation bénéfico-risque de l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets (efficacité pour l'animal, risque pour l'homme, l'animal, l'environnement) ;
- ✓ rendre un avis sur l'intérêt de l'utilisation de ce traitement pour réduire les risques d'antibiorésistance.

En outre, le groupe d'experts a élargi le champ d'investigation de cette évaluation, en établissant un premier état des lieux des autres alternatives à l'antibiothérapie, pour lutter contre les maladies digestives du post-sevrage chez le porcelet.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'Anses a confié l'instruction de cette saisine à un groupe de travail d'experts pluridisciplinaire (GT Oxyde de zinc), rattaché aux comités d'experts spécialisés (CES) « Alimentation animale» (pilote), « Santé animale » et à la Commission nationale du médicament vétérinaire (CNMV). L'analyse de l'efficacité de l'oxyde de zinc et des risques pour l'Homme, l'environnement et l'animal liés à son utilisation en tant que médicament a été réalisée sur la base d'une expertise interne de l'ANMV.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement aux CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES.

Ces travaux d'expertise sont ainsi issus de collectifs d'experts aux compétences complémentaires.

Le CES « Santé animale », la Commission nationale du médicament vétérinaire (CNMV) et le CES « Alimentation animale» (pilote) ont adopté les travaux d'expertise collective ainsi que leurs conclusions et recommandations, lors de leurs séances des 9 janvier, 15 janvier et 22 janvier 2013 et ont fait part de cette adoption à la direction générale de l'Anses.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES CES ET DE LA CNMV

3.1. Analyse bénéfico-risque de l'utilisation de l'oxyde de zinc

• Sevrage et pathologie digestive

Le sevrage, en particulier précoce, constitue un réel bouleversement chez le porcelet : séparation de la mère, changement de bâtiment, mélanges de porcelets de différentes portées, changement de système d'alimentation et d'abreuvement et bien sûr changement du régime alimentaire. Agés de 3 à 4 semaines, les porcelets sont encore immatures à bien des égards : immaturité du tube digestif et du système enzymatique, immaturité du système immunitaire.

Tous ces facteurs engendrent des modifications de la flore intestinale, propices à une multiplication incontrôlée de bactéries pathogènes. Même lorsque les formules alimentaires et les conditions de confort et d'hygiène sont optimisées, les désordres

digestifs consécutifs au sevrage sont fréquents. La colonisation du tube digestif par une quantité importante de souches pathogènes d'*Escherichia coli* conduit à des manifestations cliniques diverses suivant les facteurs de virulence des bactéries (diarrhée, maladie de l'œdème, gastro-entérite hémorragique ou septicémie) (Fairbrother et Gyles, 2012).

Malgré la correction des facteurs de risques, le recours à des traitements antibiotiques préventifs ou métaphylactiques après le sevrage est souvent la seule façon de maîtriser les colibacilloses. L'administration de la colistine par voie orale est fréquente, car les colibacilles restent majoritairement sensibles à cet antibiotique (les aminosides peuvent également être utilisés). Toutefois, il faut noter dans certains élevages, l'existence de colibacilloses persistantes, liées à des bactéries multirésistantes aux antibiotiques.

Dans ce contexte de période à risque pour l'élevage du porcelet, le recours à l'oxyde de zinc pourrait être envisagé en alternative aux traitements antibiotiques, du fait de ses effets identifiés sur le microbiote intestinal et sur les fonctions immunitaires de l'animal.

En Europe, la situation concernant l'utilisation de l'oxyde de zinc en tant que médicament vétérinaire est hétérogène : certains pays ne l'ont pas autorisé (c'est le cas de la France aujourd'hui), d'autres l'autorisent sous forme de prémélange médicamenteux à des doses élevées (3100 ppm de ZnO), dans l'alimentation des porcelets, pour une indication « prévention » ou « prévention et traitement » de la diarrhée de post-sevrage.

A noter que l'existence de ces AMM dans certains Etats Membres de l'UE permettrait à la France de solliciter un référé selon l'article 35 de la directive 2001/82 auprès du CVMP (Comité des Médicaments Vétérinaires placés auprès de l'EMA). L'avis rendu sur le rapport bénéfice-risque serait à l'origine d'une décision communautaire qui s'appliquerait à l'ensemble des pays de l'Union Européenne.

- **Effets de l'oxyde de zinc sur les colibacilloses**

Le ZnO est identifié comme ayant une action sur l'écosystème microbien et le tractus digestif. Au niveau du microbiote intestinal, il a un effet de stabilisation, en agissant sur certaines espèces de bactéries lactiques et de bactéries anaérobies et en favorisant la stabilité et l'accroissement de la diversité des entérobactéries. La barrière épithéliale de l'intestin est quant à elle renforcée au niveau des jonctions inter-cellulaires, tandis que la possibilité d'adhésion aux cellules intestinales par des souches d'*E. coli* est réduite.

En outre, il ressort des différentes sources bibliographiques que la supplémentation en ZnO a également un effet bénéfique sur les fonctions immunitaires locales et systémiques chez le porcelet durant la période du post-sevrage immédiat, sans que la totalité des mécanismes puisse être identifiée et décrite avec précision (Li *et al.*, 2006 ; Martinez-Montemayor *et al.*, 2008 ; Ou *et al.*, 2006 ; Sargeant *et al.*, 2010).

Dans les études disponibles visant à démontrer l'efficacité du ZnO pour lutter contre les diarrhées colibacillaires, l'aliment médicamenteux est toujours distribué avant la survenue des diarrhées. Il agit donc en « prévention » des diarrhées chez le porcelet en début de post-sevrage, et ces études ne permettent pas de revendiquer une indication de « traitement » des diarrhées installées. Elles montrent globalement une réduction du nombre de porcelets atteints de diarrhée et une amélioration de la consistance des fèces, par rapport au groupe témoin non traité.

Il n'est pas possible non plus, dans l'état actuel de la bibliographie disponible, d'extrapoler cette efficacité du prémélange de ZnO à des formes graves de diarrhées colibacillaires, ni à la maladie de l'œdème, ni à des formes hémorragiques, car la symptomatologie présentée dans la bibliographie est toujours celle de maladies d'intensité modérée, sans mortalité (Katouli *et al.*, 1999 ; Molist *et al.*, 2011 ; Ou *et al.*, 2006 ; Poulsen et Larsen, 1995 ; Slade *et al.*, 2011).

Tous les essais étudiés se basent sur une distribution du ZnO pendant 7 jours ou plus. L'efficacité n'est démontrée que pour 14 jours mais il n'est pas possible aujourd'hui de valider cette durée comme la durée optimale de traitement, aucun essai n'ayant testé des distributions sur des périodes comprises entre 7 et 14 jours. De même, la dose utilisée dans les études terrain est toujours de 3100 ppm de ZnO. D'après la littérature, une dose inférieure (2500 ppm de ZnO) pourrait être suffisante. Il n'est donc pas possible de déterminer de façon univoque la dose et la durée de traitement optimales.

Enfin, il convient de souligner que les différentes études d'efficacité disponibles, permettent de qualifier l'efficacité intrinsèque du ZnO, mais ne permettent pas de la situer par rapport aux médicaments ayant déjà une AMM chez le porc, qu'il s'agisse d'anti-diarrhéiques (aluminal, kaopectate) ou bien d'anti-infectieux (colistine). Il est donc impossible de dire comment l'efficacité du ZnO se situe par rapport à celle de la colistine.

En l'absence d'essais cliniques comparant le ZnO et la colistine notamment, il n'est pas possible de dire si le ZnO permettrait de remplacer la colistine ou s'il pourrait être utilisé en complément ou en association de la colistine.

- **Caractéristiques chimiques du ZnO et risque pour l'homme et pour l'animal**

Les prémélanges à base d'oxyde de zinc déjà utilisés en Europe sont composés pour la plupart à 100% d'oxyde de zinc, sans ajout d'excipient.

L'oxyde de zinc étant décrit dans la Pharmacopée Européenne actuellement en vigueur et les sels de zinc étant inscrits dans l'annexe du règlement (UE) 37/2010, son utilisation dans un médicament est possible. Sa pureté et sa teneur en impuretés inorganiques sont encadrées.

Il est ainsi possible de disposer d'un produit de qualité pharmaceutique, en comparaison de certaines pratiques illégales comme le surdosage d'additif, voire dangereuses comme l'utilisation de litières asséchantes contenant de l'oxyde de zinc associé à des substances indésirables. Ces pratiques ne permettent pas de quantifier les doses utilisées, ce qui peut affecter la santé de l'animal et impacter l'environnement.

Par ailleurs, des apports jusqu'à trois fois la dose utilisée en prémélange médicamenteux sont bien tolérés par le porcelet.

De plus, la faible accumulation de zinc dans les denrées animales, associée à la consommation faible de viande de porc issue de porcelets en post-sevrage, permettent de considérer que le risque pour le consommateur est négligeable. Le risque pour le manipulateur est également négligeable dans le cadre du respect des mesures de gestion du risque, associées à la manipulation du prémélange médicamenteux.

- **Utilisation d'oxyde de zinc et risque pour l'environnement**

L'évaluation du risque environnemental de l'utilisation de l'oxyde de zinc, apporté à 3100 ppm pendant 14 jours en post sevrage, a été effectuée selon les lignes directrices en vigueur pour les médicaments vétérinaires. Le zinc présente une forte affinité pour les sols et du fait de son caractère non dégradable, il s'y accumule. L'évaluation indique un risque toxique pour les différents compartiments (sédiment, aquatique et terrestre).

Le calcul des concentrations prévisibles en zinc du sol montre ainsi que l'apport continu d'oxyde de zinc par le prémélange médicamenteux conduit à un enrichissement progressif des sols en zinc, venant en surplus de celui produit actuellement par les rejets des animaux recevant des aliments contenant du Zn (matières premières et additif).

Par ailleurs, l'accumulation du métal dans le sol constitue également une source de contamination de l'eau du sol et de l'eau de surface, consécutive aux phénomènes de lessivage, drainage et ruissellement : un risque existe pour les taxons 'crustacés' et 'algues' vivant dans les eaux de surface et pour les organismes des sédiments.

L'évaluation du risque environnemental a en outre été élargie aux différents sels de zinc du fait de la spéciation du zinc dans le sol (transformation du ZnO en d'autres formes de Zn, une fois émis dans l'environnement).

Concernant le compartiment aquatique, un risque de toxicité apparaît dès la première année d'épandage pour les organismes vivant dans les sédiments, et au bout de 2 à 5 ans d'épandage consécutifs sur la même parcelle pour les organismes dulçaquicoles, en fonction de la dureté de l'eau. Concernant le compartiment sol, un risque de toxicité apparaît au bout de 12 années d'épandages consécutifs sur la même parcelle.

Néanmoins, il faut souligner que cette évaluation du risque environnemental, effectuée selon les lignes directrices en vigueur pour les médicaments vétérinaires, prend en considération la charge en zinc exclusivement due aux lisiers provenant des porcelets en post-sevrage, concernés par le traitement étudié. Elle n'intègre pas les effets de dilution du zinc de ces lisiers par le mélange avec des lisiers moins concentrés, provenant d'animaux en phase d'engraissement sur les mêmes élevages.

Cette prise en compte d'un effet de dilution montre qu'en présence de porcs en engraissement dans l'élevage (élevages post-sevrage-engraisseurs ou élevages naisseurs-engraisseurs représentant 94% des élevages français), l'impact environnemental de l'oxyde de zinc est réduit.

En outre, dans ces élevages avec atelier d'engraissement, Il est également possible de réduire le risque environnemental de l'oxyde de zinc par des mesures de gestion au niveau de l'aliment : la réduction des apports de zinc par les additifs durant la phase d'engraissement (besoin en zinc des animaux inférieur au maximum réglementaire) et la valorisation du zinc de l'alimentation par l'apport de phytases exogènes permettraient de compenser l'impact environnemental de l'utilisation de l'oxyde de zinc pendant le post-sevrage.

L'épuration des lisiers en azote peut constituer une stratégie de gestion dans le cadre de la directive nitrate (Directive n°91/676/CEE), qui autorise un épandage annuel maximal de 170 kg N/ha. Cette pratique conduit donc à accroître le rapport zinc/azote et donc la quantité de zinc épandue. L'impact est majoré dans ce cas.

• **Résistance bactérienne, antibiotiques et oxyde de zinc**

La colistine est largement utilisée dans les élevages de porc en Europe, en prévention ou en traitement thérapeutique des pathologies digestives chez le porcelet en post-sevrage.

Une étude réalisée en 2008 auprès de 83 élevages naisseurs-engraisseurs français a permis d'évaluer la part relative des antibiotiques polypeptidiques (dont la colistine) par rapport aux autres antibiotiques acquis et leur destination. La quasi-totalité des élevages (93%) étaient acquéreurs de polypeptides et 90% de ces antibiotiques étaient de la colistine pour une administration en post-sevrage (Chauvin *et al.*, 2002 ; Chauvin, 2010).

La résistance des souches d'*E. coli* d'origine animale ou humaine vis-à-vis de la colistine a été relativement peu étudiée, sans doute du fait du manque de fiabilité des tests de diffusion en gélose, lié à la mauvaise diffusion de cet antibiotique dans ce milieu. Les méthodes par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont celles à retenir. Les études réalisées en France montrent que les taux de résistance des *E. coli* digestifs d'animaux sains (flore commensale) restent très faibles (inférieurs à 1%), alors que chez les porcs malades ces taux dépassent 5%.

Il convient donc de noter le caractère émergent de la résistance à la colistine en élevage de porc, même si son niveau est faible aujourd'hui. C'est pourquoi il est préconisé d'utiliser avec prudence les antibiotiques, dont la colistine, chez le porcelet, et cette utilisation doit s'accompagner d'une surveillance du niveau de résistance à la colistine et de façon globale à tous les antibiotiques.

Si l'utilisation de l'oxyde de zinc est recherchée comme alternative aux antibiotiques, il faut toutefois souligner que la possibilité de sélection de résistance bactérienne au zinc ne peut être exclue. En effet, des isolats résistants de différentes bactéries (dont *E. coli*) ont été retrouvés dans des environnements présentant de fortes concentrations de cet élément.

Le mécanisme de résistance au Zn est basé sur l'expression des pompes d'efflux des bactéries. Celles-ci sont soit spécifiques du Zn, soit susceptibles de prendre en charge d'autres molécules, telles que des antibiotiques, conduisant ainsi à une légère réduction de la sensibilité bactérienne vis-à-vis de ces inhibiteurs.

Par ailleurs, les gènes de résistance au Zn sont parfois situés sur les mêmes éléments génétiques mobiles que des gènes de résistance aux antibiotiques, induisant ainsi une co-sélection de résistance aux antibiotiques. C'est le cas en particulier chez *Staphylococcus aureus* : l'administration de ZnO entraîne une augmentation du nombre de *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) dans les cavités nasales des porcs traités (Agerso *et al.*, 2012).

- **Premier état des lieux des alternatives aux antibiotiques chez le porcelet en post-sevrage**

Certaines alternatives potentielles à l'utilisation des antibiotiques chez le porcelet en post-sevrage ont été étudiées. Elles reposent en grande partie sur des alternatives nutritionnelles visant à apporter des nutriments pour les bactéries commensales, des probiotiques ou des parois de levure, des enzymes, des extraits végétaux ou des acides organiques.

Les acides organiques et les probiotiques paraissent présenter les résultats les plus prometteurs, même si les conditions précises de la démonstration de leur efficacité restent encore à déterminer, en particulier sur les formes graves d'infections digestives.

Des stratégies vaccinales par voie orale contre les principaux sérotypes d'*E. coli* pathogènes ou contre la maladie de l'œdème sont en développement, mais elles se heurtent d'une part à la difficulté d'immuniser des animaux très jeunes, et d'autre part à la diversité des souches pathogènes sur le terrain.

Quoi qu'il en soit, en l'état actuel des connaissances, il est impossible d'affirmer si ces mesures peuvent être suffisantes en cas d'infection par des souches très pathogènes, surtout en cas de maladie de l'œdème du fait de sa rapidité d'évolution.

3.2. Conclusions

De l'analyse bénéfice/risque de l'utilisation du ZnO chez le porcelet en post-sevrage, les CES ALAN et SANT et la CNMV ont validé les conclusions du Groupe de Travail en ces termes :

- ✓ La situation réglementaire du ZnO en tant que prémélange médicamenteux pour le porcelet n'est pas harmonisée au sein de l'Union Européenne.
- ✓ Le ZnO étant décrit dans la Pharmacopée Européenne actuellement en vigueur et les sels de Zn étant inscrits dans l'annexe du règlement (UE) 37/2010, son utilisation dans un médicament ne pose aucun problème particulier. Sa pureté et sa teneur en impuretés inorganiques sont encadrées.
- ✓ L'efficacité du ZnO en prévention des diarrhées modérées du post-sevrage chez le porcelet est démontrée à la dose de 3 100 ppm et pour une durée maximale de 14 jours, mais cette posologie reste à optimiser. Le ZnO peut être considéré comme un moyen de prévention de ces affections digestives. En revanche, son efficacité pour prévenir les formes graves ou la maladie de l'œdème, et son efficacité curative ne sont pas documentées à ce jour.

- ✓ L'évaluation du risque environnemental du ZnO en tant que prémélange médicamenteux (épandage de lisier de porcelets en post-sevrage) indique un risque toxique pour les différents compartiments (sédiment, aquatique et terrestre). Le niveau d'impact dépend des contextes d'utilisation, notamment du type d'élevage et de la teneur en Zn dans l'aliment, tout au long de la période d'élevage.
- ✓ Des phénomènes de résistance bactérienne au Zn et de résistance croisée ou de co-sélection avec certains antibiotiques sont décrits dans la littérature mais on ne peut préjuger de leurs évolutions en cas d'utilisation de ZnO.
- ✓ L'utilisation d'antibiotiques, comme la colistine, reste une pratique efficace vis-à-vis des infections digestives bactériennes établies. Il convient de noter le caractère émergent de la résistance à la colistine en élevage de porc, même si son niveau est faible aujourd'hui.
- ✓ La comparaison de l'efficacité du ZnO à celle de la colistine sur la maîtrise des diarrhées en post-sevrage n'est pas documentée. Ainsi, l'évaluation des bénéfices comparés de la colistine et du ZnO n'a pas été réalisée.
- ✓ En matière d'évaluation quantitative de risque, la comparaison des risques liés à l'utilisation de la colistine à celle du ZnO n'apparaît pas opportune en l'état actuel des données, du fait entre autres de fortes incertitudes scientifiques concernant l'évolution de la résistance à la colistine et l'évolution des phénomènes de résistance bactérienne au Zn ou de co-sélection de résistance aux antibiotiques à court et moyen terme.
- ✓ De nombreuses autres alternatives aux antibiotiques sont à l'étude pour contrôler les colibacilloses du sevrage et, même si certaines sont prometteuses, leur utilisation suppose préalablement une validation scientifique de leur efficacité. Cependant, il est probable que ces alternatives ne seront pas suffisantes en cas d'infection par des souches très pathogènes.

3.3. Recommandations

En conséquence de ses conclusions, les CES et la CNMV ont validé les recommandations du Groupe de Travail :

- ✓ Au regard du risque environnemental lié à l'utilisation de l'oxyde de zinc comme prémélange médicamenteux chez le porcelet en post-sevrage, des mesures de gestion visant à compenser ce risque doivent être envisagées. La première consiste à n'utiliser l'oxyde de zinc que dans des élevages avec ateliers d'engraissement, et ne traitant pas les lisiers avant épandage. En outre, dans ces élevages avec atelier d'engraissement, d'autres mesures de gestion devraient également être proposées, comme la réduction des teneurs en zinc en tant qu'additif dans l'aliment, durant la phase d'engraissement. La teneur maximale réglementaire du zinc étant supérieure au besoin du porc durant cette phase, elle peut être réduite et l'utilisation des phytases dans l'aliment peut valoriser ces apports, tant sur le plan nutritionnel qu'environnemental.
- ✓ La démonstration de l'efficacité de l'oxyde de zinc dans le cas d'affections digestives sévères et dans la maladie de l'œdème ou de diarrhées installées n'étant pas documentée, l'utilisation des antibiotiques et notamment de la colistine dans ces contextes ne peut être exclue. L'usage de la colistine devrait être prudent et associé à une surveillance de la résistance bactérienne.
- ✓ L'autorisation éventuelle de l'oxyde de zinc comme prémélange médicamenteux pour les porcelets en post-sevrage devrait s'accompagner de la mise en place d'un système de surveillance de la résistance au zinc, de la résistance croisée ou co-

sélectionnée à certains antibiotiques et d'une surveillance annuelle des quantités utilisées au niveau national.

- ✓ Une demande d'autorisation de mise sur le marché de prémélange médicamenteux à base d'oxyde de zinc, devrait comporter :
 - Les éléments étayant précisément l'indication au regard des affections visées et au mode d'action allégué (prévention/traitement) ;
 - Les éléments étayant la posologie ;
 - Les éléments étayant le risque environnemental.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du Groupe de Travail ainsi que des CES et de la CNMV auxquels il a rapporté.

L'Anses souligne que si l'évaluation bénéfice-risque intrinsèque du produit oxyde de zinc, a pu être menée pour son utilisation dans le cadre des maladies digestives du porcelet en post-sevrage, il n'a pas été possible de comparer cet usage à celui des antibiotiques (dont la colistine) :

- Le bénéfice comparé n'a pu être établi, la comparaison de l'efficacité des deux types de produits requérant des essais de terrain utilisant les deux molécules, essais non réalisés jusqu'à présent.
- Le risque comparé n'a pas été étudié. En effet, cette démarche s'est heurtée d'une part à la difficulté de comparer un risque majoritairement environnemental pour l'un, à un risque d'antibiorésistance pour l'autre ; d'autre part, une telle approche comparative nécessite de prendre en compte des critères autres que scientifiques, que ceux-ci soient économiques, politiques ou sociologiques.

Il apparaît que cette approche comparative globale relève en réalité de la démarche du gestionnaire, dans sa réflexion pour établir son choix et sa décision finale.

Le directeur général

Marc Mortureux

BIBLIOGRAPHIE

- Agerso, Y., Hasman, H., Cavaco, L.M., Pedersen, K. et Aarestrup, F.M., (2012). Study of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Danish pigs at slaughter and in imported retail meat reveals a novel MRSA type in slaughter pigs. *Veterinary Microbiology*, 157: 246-250.
- Chauvin, C., Beloeil, P.A., Orand, J.P., Sanders, P. et Madec, F., (2002). A survey of group-level antibiotic prescriptions in pig production in France. *Preventive Veterinary Medicine*, 55: 109-120.
- Chauvin, C., (2010). Étude des acquisitions de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques dans un échantillon d'élevages porcins naisseurs-engraisseurs : année 2008 et comparaison 2008/2005.
- Fairbrother, J.M. et Gyles, C.L., (2012). *Escherichia coli* infections. *Diseases of Swine*, 10th edition.
- Katouli, M., Melin, L., Jensen-Waern, M., Wallgren, P. et Mollby, R., (1999). The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs. *Journal of Applied Microbiology*, 87: 564-73.
- Li, X.L., Yin, J.D., Li, D.F., Chen, X.J., Zang, J.J. et Zhou, X., (2006). Dietary supplementation with zinc oxide increases IGF-I and IGF-I receptor gene expression in the small intestine of weanling piglets. *Journal of Nutrition*, 136: 1786-1791.
- Martinez-Montemayor, M.M., Hill, G.M., Raney, N.E., Rilington, V.D., Tempelman, R.J., Link, J.E., Wilkinson, C.P., Ramos, A.M. et Ernst, C.W., (2008). Gene expression profiling in hepatic tissue of newly weaned pigs fed pharmacological zinc and phytase supplemented diets. *Bmc Genomics*, 9: 14.
- Molist, F., Hermes, R.G., de Segura, A.G., Martin-Orue, S.M., Gasa, J., Manzanilla, E.G. et Perez, J.F., (2011). Effect and interaction between wheat bran and zinc oxide on productive performance and intestinal health in post-weaning piglets. *British Journal of Nutrition*, 105: 1592-1600.
- Ou, D.Y., Li, D.F., Ca, Y.H., Li, X.L., Yin, J.D., Qiao, S.Y. et Wu, G.Y., (2006). Dietary supplementation with zinc oxide decreases expression of the stem cell factor in the small intestine of weanling pigs. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18: 820-826.
- Poulsen, H.D. et Larsen, T., (1995). Zinc excretion and retention in growing pigs fed increasing levels of zinc oxide. *Livestock Production Science*, 43: 235-242.
- Sargeant, H.R., McDowall, K.J., Miller, H.M. et Shaw, M.-A., (2010). Dietary zinc oxide affects the expression of genes associated with inflammation: Transcriptome analysis in piglets challenged with ETEC K88. *Vet Immunol Immunopathol*, 137: 120-129.
- Slade, R.D., Kyriazakis, I., Carroll, S.M., Reynolds, F.H., Wellock, I.J., Broom, L.J. et Miller, H.M., (2011). Effect of rearing environment and dietary zinc oxide on the response of group-housed weaned pigs to enterotoxigenic *Escherichia coli* O149 challenge. *Animal*, 5: 1170-1178.

Utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage

Saisine « 2012-SA-0067 oxyde de zinc »

RAPPORT d'expertise collective

CES ALAN, CES SANT, CNMV

Février 2013

Mots clés

Porcelet, zinc, médicament, colistine, diarrhée, maladie digestive

Présentation des intervenants

PREAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

M. SCHMIDELY Philippe – Professeur à Agroparitech – (Zootechnie, alimentation animale)

Membres

M. BERNY philippe – Enseignant chercheur à vetagrosup – (écotoxicologie)

M. FOUCRAS Gilles – Enseignant chercheur à l'ENV de Toulouse – (santé animale, immunologie)

Mme JONDREVILLE Catherine – Ingénieur de recherche à l'INRA – (Zootechnie, transfert de contaminants dans les denrées animales)

Mme KEMPF Isabelle – Chef d'unité Mycoplasmiologie Bactériologie à l'Anses – Ploufragan

Mme LAVAL Arlette – Professeur à ONIRIS – (Maladies porcines, aviaires, antibiorésistances)

M. MILLEMANN Yves – Professeur à l'ENV d'Alfort – (épidémiologie, bactériologie, antibiorésistances)

Mme NORMAND Valérie – Vétérinaire praticien en élevage porcin – (pathologie porcine)

M. POULIQUEN Hervé – Professeur à Oniris – (Toxicologie et pharmacocinétique)

M. SANDERS Pascal – Directeur du laboratoire de Fougères – Anses- (antibiorésistances)

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par les CES suivants :

- CES « Alimentation animale (pilote) - 18 décembre 2012 et 22 janvier 2013

Président

M. SCHMIDELY Philippe – Professeur à Agroparitech

Membres

Mme BAYOUTH Corinne – ENSAT

M. BRUNSCHWIG Philippe – Institut de l'élevage

M. ENJALBERT Francis – ENVT

M. DEMARQUOY Jean – Université Bourgogne

M. GIDENNE Thierry – INRA

Mme FERLAY Anne – INRA

Mme JONDREVILLE Catherine – INRA

M. JUIN Hervé – INRA

M. JURJANZ Stefan – ENSAIA

Mme KOUBA Maryline – Agrocampus-ouest
M. LESSIRE Michel – INRA
Mme L'HOTELLIER Marie-Dominique – Eurofins IPL Atlantique
M. PARAGON Bernard-Marie – ENVA
M. PARIS Alain – INRA
M. POULIQUEN Hervé – ONIRIS
Mme MEDALE Françoise – INRA
M. SOYEUX Yves – ENGREF
Mme PRIYMENKO Nathalie – ENVT

■ CES « Santé animale » - 12 décembre 2012 et 9 janvier 2013

Président

M. THIRY Etienne – Faculté de médecine vétérinaire de Liège - Belgique

Membres

Mme BASTIAN Suzanne – ONIRIS
M. CHARTIER Christophe – ONIRIS
Mme CHEVALIER Véronique – CIRAD-EMVT
M. COLLIN Eric – Vétérinaire praticien
M. DORCHIES Philippe – ENVT
Mme DUFOUR Barbara – ENVA
M. FOUCRAS Gilles – ENVT
M. GANIERE Jean-Pierre - ONIRIS
M. GARIN-BASTUJI Bruno - Anses Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort
M. GUILLOTIN Jean - Laboratoire départemental du Nord
Mme HADDAD Nadia – ENVA
M. HARS Jean - Office national de la chasse et de la faune sauvage
Mme LAUGIER Claire - Anses Laboratoire de Dozulé
Mme LAVAL Arlette - ONIRIS
M. LEFORBAN Yves - Retraité
Mme LUPO Coralie - IFREMER
M. MEYER Gilles – ENVT
Mme MICHEL Virginie – Anses Laboratoire de Ploufragan/Plouzané
M. MILLEMANN Yves – ENVA
Mme MOLIA Sophie – UPR 22 CIRAD
M. MORMEDE Pierre – INRA - Centre de Recherches de Toulouse
M. NICOLLET Philippe – Laboratoire d'analyses de Vendée
M. PELLERIN Jean-Louis – ONIRIS
Mme RUVOEN Nathalie – ONIRIS
M. SAEGERMAN Claude – Faculté de médecine vétérinaire de Liège - Belgique
M. TOMA Bernard – ENVA
Mme VIALARD Jaqueline – Anses Laboratoire de Niort

M. ZIENTARA Stéphan – Anses Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort

- Comité national du médicament vétérinaire – 18 décembre 2012 et 15 janvier 2013

Président

M. FAROULT Bertrand – Docteur Vétérinaire Rouen

Membres

M. ALVINERIE Roger – INRA Toulouse

M. BERNY Philippe – Vetagrosup Lyon

Mme BOULLIER Séverine – ENVT

M. BOUSQUET-MELOU Alain – ENVT

Mme CADIERGUES Marie-Christine – ENVT

Mme CHETBOUL Valérie – ENVA

M. FICHEUX Hervé – Pharmacien proposé par l'Académie nationale de pharmacie

M. FORTINEAU Olivier – Vétérinaire praticien à Châteaugiron

Mme HAGEN-PICARD Nicole – ENVT

M. HUGNET Christophe – Vétérinaire praticien à La Bégude de Mazenc

M. MAILLARD Renaud – ENVT

M. MILLEMANN Yves – ENVA

Mme NORMAND Valérie – Vétérinaire praticien en élevage porcin à Pontivy

M. PELLERIN Jean-Louis – ONIRIS

Mme PROUILLAC Caroline – Vetagrosup Lyon

Mme PULCE Corine – praticien hospitalier

M. ROBERTON Jacques – Vétérinaire praticien à Tours

M. ZENNER Lionel – Vetagrosup Lyon

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme BOUDERGUE Caroline – Chef de projet à l'UERSABA – DER – Anses

Mme DUNOYER Charlotte – Chef de l'unité UERSABA – DER - Anses

Contribution scientifique

Mme AMAR Hélène – Anses-ANMV

M. MOULIN Gérard – Anses-ANMV

M. FAUCON Jean-Christophe – Anses-ANMV

Secrétariat administratif

Mme GROS-DESIRS Sheila – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations.....	9
Liste des tableaux	11
Liste des figures.....	12
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	13
1.1 Contexte et objet de la saisine.....	13
1.2 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre	13
2 Les maladies digestives du porcelet : facteurs de maîtrise et moyens de lutte	15
2.1 Présentation des maladies digestives du porcelet en post-sevrage	15
2.1.1 Eléments de nomenclature des <i>E. coli</i>	15
2.1.2 Les colibacillooses de post-sevrage : description	16
2.1.2.1 La diarrhée colibacillaire	16
2.1.2.2 La maladie de l'œdème	16
2.1.2.3 La gastro-entérite hémorragique.....	16
2.1.2.4 Les infections systémiques.....	16
2.1.3 Facteurs de virulence impliqués dans la diarrhée et la maladie de l'œdème en post- sevrage	17
2.1.3.1 Facteurs de colonisation.....	17
2.1.3.2 Toxines (endotoxine, entérotoxine, cytotoxine, hémolysines).....	17
2.1.4 Facteurs de virulence impliqués dans les infections systémiques	18
2.2 Moyens de maîtrise des maladies du post-sevrage	19
2.2.1 Mesures zootechniques.....	19
2.2.2 Facteurs alimentaires	20
2.2.3 Maîtrise des co-infections digestives rencontrées en début de post-sevrage.....	21
2.3 Moyens de lutte actuels et limites	21
2.3.1 Quand et pourquoi utiliser un antibiotique ?.....	21
2.3.2 Prévention de la colibacillose	22
2.3.3 Le traitement de la colibacillose.....	22
2.3.3.1 Diète et correction des conditions environnementales.....	23
2.3.3.2 Traitement antibiotique	23
2.3.3.3 Traitement symptomatique	24
2.3.4 Les utilisations actuelles du ZnO en Europe	24
3 Mode d'action du Zn et du ZnO : données de base.....	26
3.1 Absorption, métabolisme du Zn, formes d'apport, taille des particules.....	26
3.1.1 Généralités sur le Zn	26
3.1.1.1 Fonctions du Zn.....	26
3.1.1.2 Métabolisme du Zn	26
3.1.1.2.1 <i>Absorption</i>	26
3.1.1.2.2 <i>Distribution</i>	27
3.1.1.2.3 <i>Excrétion</i>	27
3.1.2 Utilisation de Zn à doses élevées en post sevrage	28
3.1.2.1 Bilan de Zn.....	28
3.1.2.2 Sources de Zn utilisées en post-sevrage.....	29
3.1.2.2.1 <i>Relation entre la biodisponibilité et l'impact du Zn sous forme d'oxyde chez le porcelet sevré</i>	<i>29</i>

3.1.2.2	<i>Utilisation d'autres sources de Zn à doses élevées : sulfate et sources organiques</i>	29
3.2	Mode d'action sur les maladies des porcelets : physiologie digestive et écosystème microbien	30
3.2.1	ZnO et physiologie digestive	30
3.2.2	Zn, ZnO et microbiote intestinal	30
3.2.3	Modèles <i>in vitro</i>	31
3.2.4	Nanoparticules de Zn et écosystème microbien	32
3.3	Effet sur le système immunitaire du porcelet	32
3.3.1	Effet sur le système immunitaire et ses composants	32
3.3.1.1	Impact de la carence en Zn sur le système immunitaire	32
3.3.1.2	Rôle physiologique du Zn sur les fonctions immunitaires : mécanismes cellulaires et moléculaires	33
3.3.1.3	Rôle du Zn dans les situations pathologiques	34
3.3.1.3.1	<i>Rôle du Zn sur les fonctions lymphocytaires</i>	34
3.3.1.3.2	<i>Rôle du Zn dans les situations inflammatoires</i>	35
3.3.1.3.3	<i>Rôle du Zn dans les situations d'hypercortisolémie</i>	35
3.3.1.3.4	<i>Effet de la supplémentation en Zn dans les autres espèces</i>	36
3.3.2	Effets immunitaires de l'administration de Zn chez le porcelet	36
3.3.2.1	Données établies <i>in vitro</i> (cellules épithéliales)	36
3.3.2.2	Effet immunitaire au niveau systémique	37
3.3.2.3	Effets immunitaires en relation avec la muqueuse digestive	37
3.4	ZnO et autres composants de la ration alimentaire	38
3.4.1	Impact sur la digestibilité d'autres composants de la ration : énergie, protéines, calcium et phosphore	38
3.4.2	Impact sur le métabolisme du cuivre et du fer	38
3.4.3	Interaction avec les phytates et les phytases	39
4	Analyse des bénéfices et des risques liés à l'utilisation du ZnO en tant que médicament	41
4.1	Bénéfices	41
4.1.1	Qualité des prémélanges médicamenteux à base de ZnO	41
4.1.2	Efficacité du ZnO à doses élevées chez le porcelet au sevrage	43
4.1.3	Autres bénéfices	45
4.1.3.1	Alternative aux antibiotiques	45
4.1.3.1.1	<i>Usage de la colistine</i>	45
4.1.3.1.2	<i>Résistance à la colistine</i>	46
4.1.3.1.3	<i>Mécanismes de résistance vis-à-vis de la colistine</i>	49
4.1.3.1.4	<i>Impact de la colistine sur la physiologie des STEC</i>	50
4.1.3.1.5	<i>Données RESAPATH sur la résistance des E.coli</i>	50
4.1.3.2	Facilités d'administration	51
4.1.3.3	Réduction de pratiques à risque	51
4.2	Risques	52
4.2.1	Tolérance du Zn chez le porcelet, sécurité pour l'Homme (consommateur et manipulateur)	52
4.2.1.1	Tolérance chez le porcelet	52
4.2.1.2	Sécurité pour le consommateur	53
4.2.2	Risque pour l'environnement du ZnO utilisé comme médicament	55
4.2.2.1	Introduction	55
4.2.2.2	Evaluation de phase I	56
4.2.2.3	Evaluation de phase II	57
4.2.2.3.1	<i>Propriétés physico-chimiques</i>	57
4.2.2.3.2	<i>Métabolisme et excrétion</i>	57
4.2.2.3.3	<i>Devenir et comportement dans l'environnement</i>	57
4.2.2.3.4	<i>Bioaccumulation</i>	58
4.2.2.3.5	<i>Effets biologiques</i>	58
4.2.2.3.6	<i>Calcul de l'exposition</i>	59

4.2.2.3.7	Caractérisation du risque environnemental	60
4.2.2.3.8	Conclusion phase II	61
4.2.2.4	Evaluation élargie aux différents sels de Zn	62
4.2.2.4.1	PNEC compartiment aquatique	62
4.2.2.4.2	PNEC compartiment terrestre.....	63
4.2.2.4.3	Caractérisation du risque.....	63
4.2.2.4.4	Remarques.....	64
4.2.3	Risque pour l'environnement selon le type d'élevage et différents scénarios d'apport de Zn alimentaire	65
4.2.4	Co-sélection de résistance aux antibiotiques, résistance au Zn, résistance croisées aux antibiotiques.....	67
4.2.4.1	Détection de la résistance au Zn	67
4.2.4.2	Niveaux de tolérance des bactéries.....	68
4.2.4.3	Mécanismes de résistance au Zn : maintien des concentrations cellulaires en Zn, systèmes de captation et systèmes d'efflux.....	68
4.2.4.4	Localisation et mobilisation des gènes responsables de la résistance au Zn.....	69
4.2.4.5	Impact direct des métaux sur la physiologie des bactéries.....	70
4.2.4.6	Relations entre résistance aux métaux et résistance aux antibiotiques.....	70
4.2.4.7	Impact de suppléments en Zn sur la résistance de la flore digestive.....	71
5	Alternatives.....	72
5.1	Alternatives nutritionnelles.....	72
5.1.1	Les prébiotiques	72
5.1.2	Les probiotiques	72
5.1.3	Les acides organiques.....	72
5.1.4	Les argiles.....	73
5.1.5	Les plantes et extraits de plantes	73
5.1.6	Les enzymes.....	73
5.1.7	Les parois de levure	73
5.1.8	Les glucanes.....	74
5.1.9	Les mannanes	74
5.2	Les vaccins et la protection passive spécifique.....	74
5.3	Autres	75
5.3.1	La résistance génétique.....	75
5.3.2	Bactériophages	75
6	Conclusions de l'expertise collective.....	77
7	Bibliographie.....	80
7.1	Publications	80
7.2	Normes	93
7.3	Législation et réglementation	93
ANNEXES.....		94

Sigles et abréviations

ADDKg : Animal Daily Dose
AEEC : Attaching and effacing *E. coli* (*E. coli* attachant et effaçant)
AMM : Autorisation de mise sur le marché
BLSE : Bêta-lactamases à spectre élargi
CDF : Cation diffusion facilitator
CES : Comité d'experts spécialisé
CFU : Colony forming unit (UFC : Unités formant des colonies)
CMI : Concentration minimale inhibitrice
CMVP : Comité des médicaments vétérinaires placé auprès de l'EMA
CNMV : Commission nationale du médicament vétérinaire
DJA : Dose journalière admissible
EDEC : Edema disease *E. coli* (*E. coli* impliqué dans la maladie de l'œdème)
EHEC : Enterohaemorrhagic *E. coli* (*E. coli* entérohémorragiques)
EMA : European medicine agency
EPEC : Enteropathogenic *E. coli* (*E. coli* entéropathogènes)
ERE : Evaluation du risque environnemental
ETEC : Enterotoxigenic *E. coli* (*E. coli* entérotoxigènes)
EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GALT : Gut Associated Lymphoid Tissue
IC : Indice de consommation
IGF : Insulin growth factor
ITP : Institut technique du porc
FTU : unité d'activité de la phytase
GMQ : Gain moyen quotidien
Ig : Immunoglobuline
MHCII : Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II
LMR : Limite maximale de résidu
LPS : Lipopolysaccharide
MT : Métallothionéines
NRC : National research council
PEC : Predicted Environmental Concentration
PNEC : Predicted no effect concentration
Ppm : Partie par million (équivalent de mg/kg)
PFU : Plaque forming units (unités formant des plages de lyse)
RQ : Quotient de risque (Risk Quotient) = PEC/PNEC
SARM : *S. aureus* résistants à la méticilline
SePEC : Septicaemic *E. coli* (*E. coli* septicémiques)
STEC : Shigatoxin-producing *E. coli* (*E. coli* shigatoxiques)
TGD : Technical guide document

TNF : Tumor necrosis factor (facteur de nécrose tumorale = importante cytokine impliquée dans l'inflammation)

TRAF : Tumor receptor associated factor

UE : Union européenne

VTEC : Verocytotoxin-producing *E.coli* (*E. coli* vérotoxino-gènes)

VMP : Veterinary medicinal product

Zn : Zinc

ZnO : Oxyde de zinc

Liste des tableaux

Tableau 1 : Pathotypes importants, facteurs de virulence et sérogroupes O d' <i>E. coli</i> pathogènes pour le porcelet en post-sevrage (De rycke <i>et al.</i> , 1999 ; Fairbrother, 2002 ; Fairbrother et Gyles, 2006)	19
Tableau 2 : Facteurs de risque des désordres digestif de post-sevrage et mesures préventives correspondantes	20
Tableau 3 : Critères de choix des molécules antibiotiques et voies d'administration	23
Tableau 4 : Taux de résistance de souches d' <i>E. coli</i> vis-à-vis de la colistine	47
Tableau 5 : Paramètres utilisés pour calculer MTC _{dw}	54
Tableau 6 : Résumé des propriétés physico-chimiques du ZnO	57
Tableau 7 : Etudes de toxicité aquatique issues du rapport ZnO (VROM, 2008)	58
Tableau 8 : Etudes issues du rapport Zn métal (JRC-IHCP, 2010)	59
Tableau 9 : Etudes d'écotoxicité pour les vers de terre	59
Tableau 10 : Calcul du risque (RQ) pour le compartiment aquatique (Tiers A)	60
Tableau 11 : Calcul affiné du risque pour le compartiment aquatique (Tiers B)	60
Tableau 12 : Calcul du risque pour les sédiments	61
Tableau 13 : Calcul du risque pour le compartiment terrestre	61
Tableau 14 : Calcul de la PNEC pour l'eau	62
Tableau 15 : Calcul de la PNEC pour les sédiments	63
Tableau 16 : Calcul de la PNEC pour le compartiment terrestre	63
Tableau 17 : Calcul du risque pour le compartiment aquatique	63
Tableau 18 : Calcul du risque pour le compartiment terrestre	64
Tableau 19 : Teneur en Zn des aliments (mg / kg) selon les différents scénarios	65
Tableau 20 : Enrichissement annuel du sol en Zn ($\mu\text{g} / \text{kg sol sec}^{-1}$) et délai d'apparition d'un risque environnemental par l'épandage des lisiers sur la même parcelle, selon différents scénarios d'apport de Zn dans différents types d'élevage	66

Liste des figures

Figure 1 : Pathogénie de la maladie de l'œdème chez le porcelet.....	17
Figure 2 : Réponse du Zn retenu (A) et du Zn excrété (B) en fonction du Zn ingéré chez le porcelet sevré (méthode des bilans).....	28
Figure 3 : Réponse des cendres osseuses à l'apport de phytase dans des aliments avec ou sans Zn à dose élevée.....	40
Figure 4 : Part relative des différentes familles antibiotiques dans les acquisitions recensées d'antibiotiques, selon les modalités de quantification et de l'indicateur utilisé (83 élevages naisseurs-engraisseurs, 2008).....	46
Figure 5 : Part relative des différentes catégories d'animaux dans les acquisitions des différentes familles antibiotiques exprimées en ADDKg (83 élevages naisseurs-engraisseurs, 2008).....	46
Figure 6 : Pourcentage de souches d' <i>E.coli</i> résistantes à la colistine détectées dans le Resapath.....	49
Figure 7 : Evolution du pourcentage de souches d' <i>E. coli</i> sensibles chez le porc.....	50
Figure 8 : Arbre de décision (extrait de VICH GL38 : flow diagram for VMPs used for intensively-reared animal systems).....	56
Figure 9 : Contributions respectives des matières premières et des additifs ainsi que du ZnO utilisé après le sevrage ¹ dans l'enrichissement annuel du sol en Zn ($\mu\text{g}/\text{kg sol sec}^2$), selon différents scénarios d'apport de Zn dans différents types d'élevage ²	66

Liste des annexes

Annexe 1 : Lettre de saisine.....	95
Annexe 2 : Présentation des positions divergentes.....	97
Annexe 3 : Suivi des actualisations du rapport.....	98
Annexe 4 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts.....	99
Annexe 5 : Calcul de la PECsol en phase I.....	143
Annexe 6 : Calcul de la PECsol à l'état d'équilibre.....	144
Annexe 7 : Calcul de la PECeau souterraine.....	146
Annexe 8 : Calcul de la PECsédiment.....	147
Annexe 9 : Glossaire de la partie évaluation environnementale.....	148

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte et objet de la saisine

L'Anses a été saisie le 12 mars 2012 par la Direction générale de l'alimentation sur l'utilisation de l'oxyde de zinc (ZnO) dans l'alimentation des porcelets au sevrage en vue de diminuer le recours aux antibiotiques.

Une des mesures (n°19) du plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire (EcoAntibio 2017), qui envisage le développement d'alternatives aux antibiotiques permettant de diminuer le recours aux antibiotiques, prévoit de procéder à l'évaluation bénéfice-risque de du ZnO pour diminuer les diarrhées des porcelets en post-sevrage.

En effet, lors de leur sevrage, les porcelets présentent fréquemment des troubles digestifs et un retard de croissance dus au changement de régime alimentaire et au stress lié à l'allotement. Dans une proportion importante d'élevages, ils peuvent recevoir de manière systématique et préventive un traitement antibiotique, sous forme d'aliment médicamenteux (colistine ou autre antibiotique en association).

Certains pays européens autorisent déjà le ZnO à des doses élevées dans l'alimentation des porcelets sous forme de prémélange médicamenteux (2500 ppm de ZnO), à cette même période de leur vie, et observent une diminution sensible du recours aux antibiotiques.

A noter que l'existence de ces autorisations de mise sur le marché (AMM) dans des Etats Membres de l'UE permettrait à la France de solliciter un référé selon l'article 35 de la directive 2001/82 auprès du CVMP (Comité des Médicaments Vétérinaires placés auprès de l'EMA). L'avis rendu sur le rapport bénéfice-risque serait à l'origine d'une décision communautaire, qui s'appliquerait à l'ensemble des pays de l'Union Européenne.

L'expertise de l'Anses est sollicitée pour :

- ✓ procéder à une évaluation bénéfice-risque de l'utilisation du ZnO dans l'alimentation des porcelets (efficacité pour l'animal, risque pour l'homme, l'animal, l'environnement) ;
- ✓ rendre un avis sur l'intérêt de l'utilisation de ce traitement pour réduire les risques d'antibiorésistance ;

Par ailleurs, le groupe de travail a estimé intéressant de faire un premier état des lieux des autres alternatives à l'antibiothérapie lors du post-sevrage, en cohérence avec la mesure n°19 du plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire.

1.2 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre

L'Anses a confié l'instruction de cette saisine à un groupe de travail (GT) pluridisciplinaire rattaché aux comités d'experts spécialisés (CES) « Alimentation animale» (pilote), « Santé animale » et à la Commission nationale du médicament vétérinaire (CNMV).

L'analyse de l'efficacité du ZnO et des risques pour l'Homme, l'environnement et l'animal liés à son utilisation en tant que médicament a été réalisée sur la base d'une expertise interne de l'ANMV.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement aux CES et à la CNMV (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES et de la CNMV.

Ces travaux d'expertise sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. Ils ont été réalisés dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise ».

Le CES « Santé animale », la CNMV et le CES « Alimentation animale» (pilote), ont adopté les travaux d'expertise collective ainsi que les conclusions et recommandations, objets du présent rapport lors de leurs séances des 9, 15 et 22 janvier 2013 et ont fait part de cette adoption à la direction générale de l'Anses.

2 Les maladies digestives du porcelet : facteurs de maîtrise et moyens de lutte

2.1 Présentation des maladies digestives du porcelet en post-sevrage

Les bactéries de l'espèce *E. coli* regroupent des hôtes normaux du tractus gastro-intestinal, et des souches à l'origine d'une large variété de maladies intestinales et extra-intestinales, notamment chez le porc.

Nous traiterons ici des *E. coli* impliqués dans les colibacilloses de post-sevrage (diarrhée, maladie de l'œdème, gastro-entérite hémorragique et maladies septicémiques), avec une description des principaux *E. coli* impliqués dans ces différentes maladies (en fonction des différentes classifications utilisées en microbiologie).

2.1.1 Eléments de nomenclature des *E. coli*

Plusieurs classifications sont aujourd'hui utilisées pour décrire les différents *E. coli* et, notamment, faire la part entre les *E. coli* pathogènes des autres *E. coli*, hôtes habituels et commensaux du tractus intestinal.

- **Pathotype-pathovar** : Les études génétiques fondées sur différentes méthodes complémentaires, en particulier le séquençage de gènes « de ménage », ont identifié quatre groupes phylogéniques majeurs (A, B1, B2 et D), subdivisés en 7 groupes A0, A1, B1, B22, B23, D1 and D2 (Carlos *et al.*, 2010) et trois groupes mineurs (C, E et F) au sein des souches de l'espèce *E. coli* (Clermont *et al.*, 2000 ; Herzer *et al.*, 1990 ; Touchon *et al.*, 2009). Les souches pathogènes d'*E. coli* ne sont pas regroupées dans un unique groupe phylogénique mais au contraire réparties dans ces différents groupes majeurs (Escobar-Páramo *et al.*, 2004 ; Lacher *et al.*, 2007) ; c'est pourquoi il est apparu utile de définir des pathotypes ou pathovars, sur la base du tropisme et de la pathologie déterminée par ces souches (Mainil, 2003). On retrouvera ci-dessous différents pathotypes ou pathovars comme les ETEC (*E. coli* entérotoxigènes), EDEC (*E. coli* responsables de maladie de l'œdème), STEC (*E. coli* shigatoxiques), *etc.* Outre le tropisme tissulaire ou d'hôte et/ou le type de maladie induite, les pathotypes, parfois également appelés virotypes, sont caractérisés par des combinaisons de facteurs de virulence, lesquelles permettent leur identification relativement aisée (Anjum *et al.*, 2007 ; Clermont *et al.*, 2000). En effet, une souche pathogène donnée peut héberger et exprimer une large diversité de facteurs de virulence, dont certains sont aisément transférables. C'est en particulier le cas des STEC (*E. coli* shigatoxiques) qui hébergent simultanément les gènes codant une adhésine EaeA et les shigatoxines Stx1 ou Stx2. Toutefois, il faut garder à l'esprit que la présence d'un ou plusieurs facteurs de pathogénicité n'est pas synonyme de l'expression de celui-ci. Il s'agit plutôt d'une potentialité pathogène de la bactérie.
- **Sérogroupe-sérotype** : La différenciation des *E. coli* en sérogroupe quant à elle est basée, comme pour d'autres entérobactéries, sur l'expression tout d'abord d'antigènes somatiques O (glyco-protéines immunogènes de la paroi) et ensuite flagellaires H (*E. coli* O157:H7 par exemple). Mais cette classification ne permet pas de différencier les *E. coli* pathogènes des autres *E. coli* du tractus digestif, et ne se superpose pas à la classification en pathotypes. Toutefois, le sérotype demeure un élément d'identification de souches pathogènes, dans un contexte diagnostique ou d'investigation de cas groupés, lorsqu'il est utilisé en combinaison avec la détection des facteurs de virulence cités ci-dessus.

2.1.2 Les colibacilloses de post-sevrage : description

2.1.2.1 La diarrhée colibacillaire

Il s'agit d'une diarrhée aqueuse survenant généralement quelques jours après sevrage, entraînant une déshydratation rapide et de la mortalité.

Cette maladie transmissible est provoquée essentiellement par des *E. coli* appartenant à la classe des ETEC (Enterotoxigenic *E. coli*). Elle est également appelée « entérite colibacillaire de post-sevrage » (Fairbrother et Gyles, 2012).

Il a été décrit plusieurs fois un syndrome entérique, distinct de la diarrhée de post-sevrage classique, se caractérisant par des lésions d'« attachement-effacement » provoquées par des *E. coli* du pathovar AEEC (Attaching and Effacing *E. coli*). Il s'agit souvent d'infections « mixtes » dans lesquelles on retrouve par exemple aussi des *E. coli* ETEC.

2.1.2.2 La maladie de l'œdème

D'apparition soudaine, elle se manifeste par des mortalités brutales (touchant souvent les plus beaux porcelets), et des signes neurologiques : les porcelets présentent une ataxie partielle, une démarche chancelante. Les animaux malades peuvent présenter un œdème sous-cutané visible au niveau des paupières et du front ; l'œdème de la sous-muqueuse de l'estomac et du mésocôlon est également souvent une caractéristique remarquable de la maladie, d'où le nom de « maladie de l'œdème ». C'est une maladie entérotoxémique transmissible causée par certains *E. coli* appartenant à la classe des EDEC (Edema Disease *E. coli*).

Diarrhée colibacillaire de post-sevrage et maladie de l'œdème apparaissent souvent sur des porcelets de la même classe d'âge, les bactéries en cause partageant certains facteurs de virulence et certaines souches d'*E. coli* pouvant entraîner les deux types de maladies (Fairbrother et Gyles, 2012).

Les *E. coli* ETEC et EDEC peuvent être présents chez les porcs sans que la maladie ne se déclare. Dans ces cas-là, ces bactéries ne représentent qu'une faible proportion des colibacilles de la flore fécale, alors que dans les cas de maladie, ils représentent une forte proportion ou la totalité des *E. coli* fécaux.

2.1.2.3 La gastro-entérite hémorragique

Une autre forme de maladie de l'œdème, la gastro-entérite hémorragique, est caractérisée par une diarrhée hémorragique, et des lésions hémorragiques de la région cardiaque de l'estomac, de l'iléon et du gros intestin (Fairbrother et Gyles, 2012). Cette maladie se traduit par de la mortalité brutale, en général de beaux porcelets. Martineau et Morvan en font une entité nosologique particulière, encore appelée colitoxicose (Martineau et Morvan, 2010).

2.1.2.4 Les infections systémiques

E. coli peut induire des infections systémiques, comme des septicémies, ou des infections extra-intestinales (méningites ou arthrites), résultant de la bactériémie. Les septicémies dues aux colibacilles surviennent surtout de la naissance à 4 jours d'âge, mais aussi chez les jeunes porcs après sevrage, secondairement cette fois, associées à de la diarrhée, ou d'autres maladies jouant le rôle de co-facteurs. Ces *E. coli* impliqués dans les affections extra-intestinales ont la particularité de résister à l'activité bactéricide naturelle du sérum. Certains *E. coli* utilisent des systèmes d'assimilation du fer à « haute-affinité » entrant en compétition avec l'hôte pour le fer disponible. Les signes cliniques observés consistent en de l'abattement, des boiteries, des difficultés à se déplacer, de l'anorexie, une respiration difficile. Parfois, il est observé une perte de conscience avec convulsions, et mouvements de pédalage. Des porcelets peuvent être trouvés morts alors que d'autres seront abattus sans signe de diarrhée. Ces signes s'observent d'abord chez les nouveau-nés ; chez les porcs plus âgés, les signes cliniques peuvent commencer par de la diarrhée intermittente précédant la septicémie aiguë avec les signes cliniques semblables à ceux déjà décrits (Fairbrother et Gyles, 2012).

2.1.3 Facteurs de virulence impliqués dans la diarrhée et la maladie de l'œdème en post-sevrage

Il s'agit des caractères bactériens impliqués dans la pathogénicité. Des ensembles très spécifiques de facteurs de virulence sont associés dans les différentes colibacillooses (tableau 1).

Une souche pathogène donnée peut exprimer un large panel de facteurs de virulence.

La colibacilliose et la maladie de l'œdème sont causées par des souches d'*E. coli* possédant des facteurs d'adhésion permettant la colonisation de l'intestin grêle et produisant une ou plusieurs toxines. Presque tous ces *E. coli* sont alpha-hémolytiques. La plupart d'entre eux appartiennent à un nombre très limité de sérotypes (Fairbrother et Gyles, 2012).

2.1.3.1 Facteurs de colonisation

Ce sont des antigènes spécifiques, filaments protéiques extracellulaires, qui permettent à la bactérie d'adhérer à la muqueuse de l'intestin grêle (bordure en brosse) et de coloniser celui-ci. Ces facteurs sont également appelés adhésines, fimbriae, ou pili.

Pour les ETEC et les EDEC, ce sont les antigènes F (F4, F18), très spécifiques de l'hôte (tableau 1).

Pour certaines souches, il a été montré que des polysaccharides capsulaires amélioreraient leur capacité à coloniser.

La Figure 1¹ ci-dessous permet de visualiser la pathogénie de la maladie de l'œdème chez le porc, déterminée par des EDEC.

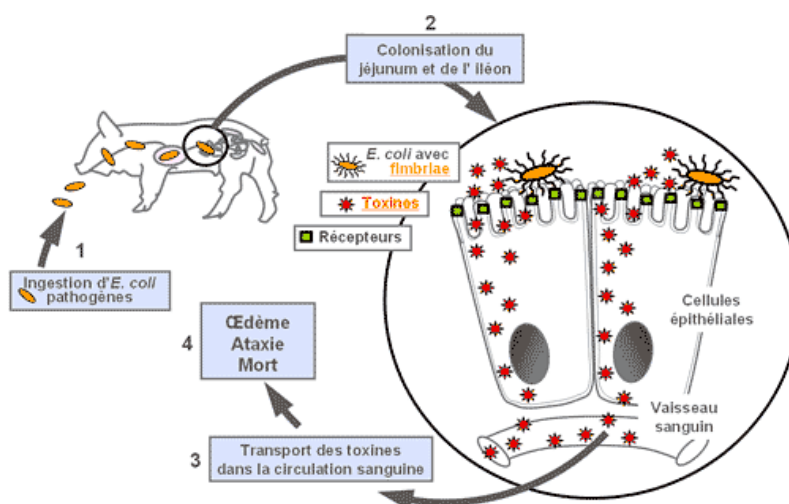


Figure 1 : Pathogénie de la maladie de l'œdème chez le porclet.

Les bactéries pathogènes qui contaminent l'environnement sont ingérées par les animaux susceptibles et entrent dans le tractus intestinal (1). Ces bactéries possèdent des adhésines fimbriaires qui permettent l'adhésion à des récepteurs spécifiques sur les cellules épithéliales de l'intestin (2). Cette colonisation bactérienne se retrouve principalement sur les muqueuses du jéjunum et/ou de l'iléon. La bactérie adhérente produit une toxine qui est transportée à travers les cellules épithéliales jusque dans la circulation sanguine (3). Cette toxine produit ses effets dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, provoquant de l'œdème dans différents tissus, entraînant ainsi la manifestation de plusieurs symptômes tels que l'ataxie et la mort de l'animal (4).

2.1.3.2 Toxines (endotoxine, entérotoxine, cytotoxine, hémolysines)

Ces toxines sont responsables des lésions et des manifestations cliniques.

¹ (Extrait du site <http://www.ecl-lab.com/fr/ecoli/pathogenesis.asp#stec> consulté le 03.01.2013)

Dans les infections à ETEC, il s'agit d'entérotoxines qui agissent localement sur la muqueuse intestinale et induisent un flux d'eau et d'électrolytes (diarrhées secrétoires) vers la lumière intestinale. Il existe des entérotoxines thermostables (ST) et thermolabile (LT) (Broes et Renault, 1990) (tableau 1). Presque tous les *E. coli* impliqués dans les cas mortels de diarrhée après sevrage produisent la toxine LT (Fairbrother et Gyles, 2012).

Il existe par ailleurs deux variants principaux d'une toxine puissante, la shigatoxine (Stx) (Bastian *et al.*, 1998), ou Shiga-like toxine, encore appelée vérotoxine, neurotoxine ou vasotoxine. Cette toxine n'est pas sécrétée, mais libérée lors de la lyse de la bactérie, le temps d'incubation et la sévérité de la maladie étant directement liées à la dose de toxine. La maladie de l'œdème (à *E. coli* EDEC) est provoquée par un sous type particulier (sous type 2e) de cette shigatoxine.

La toxine Stx2e est absorbée dans la circulation sanguine et peut se lier aux globules rouges, si bien que les vaisseaux sont exposés de façon durable à la toxine. Cela entraîne une angiopathie dégénérative des petites artères et artérioles ; il en résulterait une légère augmentation de la perméabilité vasculaire à l'origine de l'œdème (les données sur la physiopathologie de la maladie de l'œdème restent rares).

En ce qui concerne la gastro-entérite hémorragique, elle a pu être déclenchée chez certains porcelets auxquels de fortes doses de toxine Stx2e avaient été administrées. Une nécrose épithéliale secondaire à la nécrose des petites artères et artérioles peut être responsable des hémorragies.

En plus de la toxine Stx2e, les EDEC peuvent aussi produire des entérotoxines. La maladie de l'œdème peut donc s'accompagner de diarrhée (Martineau et Morvan, 2010).

Les pathotypes (ou virotypes) les plus impliqués dans les diarrhées de post-sevrage portent habituellement les adhésines fimbriaires F4 (K88) ou F18. Des différences de prédominance de virotypes ont été observées d'un pays à l'autre.

Dans une région donnée, les sérotypes (tableau 1) sont étroitement associés à un ensemble assez constant d'adhésines et de toxines. Ainsi :

- le sérotype O139, mondialement répandu, produit le variant fimbriaire F18ab (F107ab). En Europe, les souches de ce sérotype induisent typiquement la maladie de l'œdème (alors qu'en Australie par exemple, elles sont toujours responsables de diarrhée de post-sevrage) ;
- le sérotype O149 produit le variant F4ac et induit de la diarrhée ; il serait aujourd'hui, et de loin, le sérotype prédominant dans les problèmes de diarrhée en post-sevrage.

Toutefois, en France, la situation a évolué, en particulier depuis 2003 où les souches isolées au sevrage étaient des souches avec des fimbriae F4. Des données récentes obtenues sur 123 souches prélevées en Bretagne (Le Guennec, 2012) montrent que le virotype F18 est devenu prédominant, puisque 97% des souches expriment F18. Le sérotypage fait ressortir l'émergence du sérotype O141K85 dont la prévalence est passée de 10 à 40%. Ces souches sont pour 70% Stx2e négatives, donc davantage impliquées dans les formes diarrhéiques que dans la maladie de l'œdème.

Enfin, les Attaching and Effacing *E. coli* (AEEC) ne possèdent quant à elles aucun des facteurs de virulence des *E. coli* pré-cités : les bactéries se fixent intimement à la muqueuse intestinale grâce à une protéine de la membrane externe, appelée l'« intimine » (ou facteur attachant-effaçant EPEC -car les lésions sont similaires à celles observées avec les *E. coli* entéropathogènes (EPEC) en cause dans les diarrhées infantiles humaines), effacent les microvillosités et envahissent les cellules épithéliales (Zhu *et al.*, 1994).

2.1.4 Facteurs de virulence impliqués dans les infections systémiques

Les souches de *E. coli* impliqués dans les septicémies, assez peu étudiées, peuvent exprimer des facteurs de virulence tels que les fimbriae, les polysaccharides de capsule, les antigènes O de capsule, les lipopolysaccharides (LPS), un système aérobactine, des hémolysines, et autres cytotoxines (Fairbrother et Gyles, 2012).

A côté de la production d'aérobactine et surtout, de la résistance à l'activité bactéricide du complément, les souches porcines produisent des adhésines fimbriaires des familles P et S (Fairbrother, 1993). Le Tableau 1 récapitule les différents pathotypes impliqués dans les maladies digestives du porcelet au sevrage.

Tableau 1: Pathotypes importants, facteurs de virulence et sérogroupes O d'*E. coli* pathogènes pour le porcelet en post-sevrage (De rycke *et al.*, 1999 ; Fairbrother, 2002 ; Fairbrother et Gyles, 2006)

Maladie	Pathotype	Facteurs de virulence		Sérogroupes O
		Adhésines	Toxines	
Diarrhée	ETEC	F4 (K88), F18ab (F107ab), F18ac(F107ac)	Entérotoxines STa, STb, LT	8,38,139,141,149,157
Maladie de l'oedème	EDEC	F18ab	Shiga-toxine (Stx2e)	138, 139, 141
Septicémies	SePEC	Aerobactine F165-1 (famille des fimbriae P) F165-2 (famille des fimbriae S) CNF1 or CNF2 CDT		2, 4, 6, 8, 9, 11, 15, 17, 18, 20, 45, 54, 60, 78, 83, 85, 93, 101, 112, 115, 116

2.2 Moyens de maîtrise des maladies du post-sevrage

2.2.1 Mesures zootechniques

Toutes les pratiques d'élevage permettant de réduire le stress du sevrage sont intéressantes, et peuvent suffire dans le cas d'une simple diarrhée d'adaptation. Elles sont cependant insuffisantes en cas d'infection colibacillaire grave par des souches très pathogènes.

On attachera une importance toute particulière à l'hygiène des locaux, non seulement des salles de post-sevrage, qui doivent être lavées, désinfectées, et séchées, mais aussi des couloirs, en passant par le nettoyage voire la désinfection des préfosse chaque fois que ce sera possible. La température de la salle de post-sevrage doit être de 28°C pour éviter tout choc thermique et les porcelets seront dans la mesure du possible regroupés par fratries, en limitant le nombre de portées d'origine. Cette précaution permet à la fois de réduire les affrontements et le mélange des microbismes.

Les normes de densité et de ventilation doivent être respectées ainsi que la conduite en tout plein tout vide, sans mélange de sujets de bandes et d'âges différents. Le sol ne doit pas être abrasif et doit être maintenu propre en permanence.

Il est bien établi que la qualité bactériologique de l'eau est importante, en particulier l'absence de coliformes, et bien entendu de salmonelles et clostridies. Le débit des abreuvoirs doit être suffisant (500 mL/minute)

Le sevrage doit être préparé par une adaptation convenable en maternité, avec en particulier mise à disposition d'un aliment adapté, appétant, présenté dans des augettes accessibles, avec un accès à de l'eau propre à volonté. Les truies doivent être convenablement vermifugées avant la mise-bas.

Le sevrage à 21 jours est plus délicat que le sevrage à 28 jours, les porcelets étant plus légers. En effet, plus que l'âge, le poids au sevrage est le facteur déterminant de la maturité du tube digestif (Coupel, 2005). Ainsi, toutes ces mesures devront alors être encore plus scrupuleusement respectées.

Les facteurs de risque les plus importants, tels qu'ils ressortent de la dernière enquête française pour les maladies digestives du porcelet au post-sevrage sont résumés dans le Tableau 2 (Madec *et al.*, 1998).

Tableau 2 : Facteurs de risque des désordres digestif de post-sevrage et mesures préventives correspondantes

Facteur de risque	Valeur « protectrice »
Hygiène de la nurserie à l'arrivée des porcelets insuffisante	Tout-plein/ tout vide, désinfection, sol sec et chaud
Ingéré /porcelet la dernière semaine avant sevrage faible	>470 g/porcelet pour un sevrage à 28j
Qualité de l'air insuffisante pendant la période de post-sevrage	NH3<10 ppm, CO2<0,15%, vitesse d'air<0,10 m/s, pas de turbulence dans le flux d'air
Température ambiante basse	1 ^{ère} semaine : 28 °C (sevrage à 4 semaines) 2 ^{ème} semaine : 27 °C
Abreuvement insuffisant et eau de mauvaise qualité	Accès facile à l'eau, eau potable
Ingéré / porcelet la première semaine après sevrage insuffisant	>1700g
Âge au sevrage bas	≥28 jours
Poids vif au sevrage bas	≥ 9 kg
Nombre de portée par case au sevrage élevé	<4 portées
Nombre de porcelets par case en post-sevrage élevé	< 13 porcelets
Place disponible au nourrisseur insuffisante	≥ 8 cm / porcelet
Sur -densité	≤ 3 porcelets / m2
Maladies respiratoires	Absence de toux ; moyenne d'éternuement < 2 (pour 100 porcs sur 2 min)
Nombre important de Truies/ personne	≤ 80
Statut sanitaire global de l'élevage bas (hors désordres digestifs de post-sevrage)	Score calculé sur la base - du taux de mortalité annuelle des truies d'une part et du taux de mortalité durant les phases sevrage-vente d'autre part, - de l'incidence des syndromes grippaux, des infections SDRP, des diarrhées avant sevrage et des diarrhées durant les phases post-sevrage et engraissement.

2.2.2 Facteurs alimentaires

Ce sont sans doute les plus importants puisqu'ils peuvent directement influencer l'évolution de la flore digestive.

Composition de la ration

La teneur en protéines de la ration du porcelet peut être limitée à 15% pour éviter la fermentation d'une fraction non digérée dans le gros intestin et ces protéines doivent être très digestibles, équilibrées en acides aminés et de bonne qualité microbiologique. Il est nécessaire d'apporter des acides aminés : L lysine, D-L méthionine, L thréonine, L tryptophane, L valine. Tryptophane et valine semblent particulièrement intéressants pour réduire l'inflammation intestinale et réguler la production de mucine. Ces protéines très digestibles peuvent être des protéines lactées : caséine et lactosérum, du plasma, sous réserve d'une bonne maîtrise de la sécurité virale, mais aussi des protéines de pois, de pommes de terre, de soja, voire du gluten de blé. Les protéines du tourteau de soja ne devraient pas être utilisées trop largement dans les aliments 1^{er} âge (aliment destinés aux animaux pendant la phase de sevrage, soit de 21 jours jusqu'au sevrage) car elles sont allergisantes. Par contre, leur taux d'incorporation peut ensuite être augmenté rapidement dans les aliments 2^{ème} âge (phase de post-sevrage pour les porcelets déjà sevrés), jusqu'à devenir la source principale de protéines en 2^{ème} âge.

La maîtrise de l'alimentation glucidique est plus délicate : de grandes quantités d'amidon mal digéré dans le gros intestin induisent des fermentations favorisant la prolifération des colibacilles. Or, l'amylase pancréatique et les disaccharidases intestinales ne sont pas produites en quantité suffisante au moment du sevrage. On privilégiera des sources d'énergie à base de lactose et de glucose, ainsi qu'un traitement thermique des céréales. L'orge est alors préférable au maïs et au blé, ce dernier favorisant la prolifération des coliformes au détriment des entérocoques. La structure même de l'amidon est importante : des différences de composition entre différentes variétés d'une même céréale peuvent expliquer des variations de la composition microbienne. Le riz blanc cuit, très bien digéré dans les portions antérieures du tube digestif, est bien toléré (Montagne *et al.*, 2004 ; Pluske *et al.*, 1996).

Les fibres constituent une source de glucides, traditionnellement considérées comme des constituants à risque pour le porcelet. Cependant, elles sont intéressantes pour promouvoir des bactéries commensales comme les lactobacilles et favoriser la fixation de l'ammoniac. Certaines ont un effet prébiotique, comme les bêta-glucanes de l'orge et de l'avoine, les pulpes de chicorée,

de betterave, de pomme de terre, la cosse de caroube, du lin, du pois. Elles ont cependant l'inconvénient d'augmenter l'humidité des déjections.

La formulation des aliments de 1^{er} âge est de mieux en mieux appréhendée, même si les données sont parfois contradictoires car le sujet est très complexe. Le point critique semble être la viscosité du contenu intestinal, la réduction de la viscosité ayant un effet protecteur sur le risque de diarrhée (Hopwood *et al.*, 2004).

Le respect des transitions alimentaires et la nécessité de faire consommer de l'aliment sec au porcelet sous la mère font aussi l'objet de publications contradictoires.

La piste de la formulation alimentaire comme outil de prévention des colibacilloses du sevrage est donc intéressante, mais il est encore difficile d'établir des critères de choix vraiment précis et de gérer ainsi toutes les situations.

Mode de distribution de l'aliment

Il est indispensable de bien gérer les prises alimentaires et d'éviter les « à coups ». Les abreuvoirs, comme les nourrisseurs, doivent donc être bien réglés. Au cours d'une étude cas-témoin, menée en 2008 sur 73 élevages, une équipe de Finlandais (Taina *et al.*, 2008) a montré que le risque de diarrhée est augmenté dans les élevages où les porcelets sont nourris seulement 2 fois par jour par rapport aux élevages où l'aliment est distribué plus souvent : pour une même quantité d'aliment, augmenter le nombre de repas quotidiens à plus de deux diminue le risque de diarrhées. L'idéal est d'assurer 4 à 6 approvisionnements par jour pendant les deux premières semaines, en jouant sur la quantité mise à disposition dans les nourrisseurs. Si les installations le permettent, la distribution de l'aliment sous forme de bouillie les deux premiers jours facilite la transition et réduit la période de jeûne post-sevrage. Le passage de l'aliment granulé, trop facilement consommé par les sujets ingérant très rapidement, à une farine à mouture grossière, plus laborieusement consommée, constitue une mesure souvent efficace en cas d'épisode aigu.

2.2.3 Maîtrise des co-infections digestives rencontrées en début de post-sevrage

Toutes les infections bactériennes, virales ou parasitaires affectant l'intégrité de la muqueuse intestinale peuvent potentialiser les conséquences d'une infection colibacillaire, qu'elle soit à l'origine de diarrhée ou de maladie de l'œdème.

Deux infections doivent en particulier être prises en compte, du fait de leur fréquence : la coccidiose à *Isospora suis* (Aliaga-Leyton *et al.*, 2011) et l'infection par le Circovirus porcin de type 2 (PCV2) (Kim *et al.*, 2004). Leur effet synergique est d'ailleurs établi dans les deux cas (Dewey *et al.*, 2006 ; Meyer *et al.*, 1999).

2.3 Moyens de lutte actuels et limites

2.3.1 Quand et pourquoi utiliser un antibiotique ?

La période du sevrage est une étape particulièrement délicate dans la vie du porcelet, en particulier lorsqu'il est sevré à 21 jours. La séparation de la mère, le changement de milieu, le mélange de porcelets de portées différentes, le changement d'aliment à la fois en termes de formulation et de mode de distribution sont autant de facteurs de stress propices à l'expression des maladies infectieuses.

A ce stade, ce sont les infections digestives qui prédominent, du fait des bouleversements de la flore intestinale, aggravés par la présence de nutriments mal digérés. En effet, surtout si le sevrage est réalisé à 21 jours, les organes digestifs sont encore immatures et les principales enzymes stomacales, intestinales, et pancréatiques ne sont pas encore normalement sécrétées. Les enzymes intestinales (peptidases, disaccharidases) sont particulièrement concernées car le défaut de maturité s'accompagne d'une altération transitoire des villosités les deux premiers jours, ainsi que d'une diminution du nombre d'entérocytes en particulier d'entérocytes matures, impliqués dans la sécrétion d'enzymes et l'absorption des nutriments. Parallèlement, un approfondissement

des cryptes induit une hypersécrétion qui aggrave la réduction de la digestion (Lallès *et al.*, 2007b).

Enfin, le statut immunitaire du porcelet est fragile : la protection immunitaire de la muqueuse digestive par les immunoglobulines A (IgA) du lait maternel cesse brusquement, alors que l'immunité active n'a pas encore eu le temps de se développer. L'immunité cellulaire n'est vraiment fonctionnelle qu'à partir de la 5-6^{ème} semaine, les glycoprotéines CD4 apparaissant entre la 2^{ème} et la 4^{ème} semaines, les CD8 entre la 4^{ème} et la 6^{ème} semaines, alors que l'expansion des plaques de Peyer, l'apparition des CD2, l'influx de cellules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (MHCII) est plus précoce, se produisant dès les 15 premiers jours (Lallès *et al.*, 2007b). La muqueuse intestinale fait l'objet d'une inflammation.

Tous les facteurs propices à une multiplication incontrôlée de bactéries sont donc réunis. L'étiologie est multifactorielle, mais l'agent microbien prédominant est *Escherichia coli*. Selon le sérotype, en particulier le nombre et la nature des toxines sécrétées, les signes cliniques seront plus ou moins sévères.

Si cette prolifération bactérienne est la conséquence des bouleversements physiologiques accompagnant le sevrage, elle est bien présente et c'est elle qui induira les processus morbides. Il entre donc dans les indications d'un traitement antibiotique précoce. Dans la plupart des cas, un antibiotique à spectre étroit, actif sur les bactéries à gram négatif, non absorbé par la muqueuse digestive, est efficace. Répondant à ces critères, la colistine apparaît comme l'antibiotique de choix, d'autant que les résistances à cette molécule ne s'acquièrent que lentement (données Resapath 2011). Lorsque la situation est plus complexe, d'autres molécules doivent être utilisées, sur la base d'un examen bactériologique et d'un antibiogramme. Le choix de l'antibiotique sera conditionné par les données de l'antibiogramme mais aussi par les propriétés pharmacocinétiques, le mode d'administration et la tolérance locale et générale de la spécialité.

2.3.2 Prévention de la colibacillose

La prévention des colibacilloses repose principalement sur la mise en œuvre des mesures suivantes :

- Corriger les facteurs zootechniques, en particulier le chargement des animaux, l'ambiance et l'optimisation de l'hygiène (cf le tableau 2 du chapitre 2.2) ;
- Corriger les facteurs alimentaires (formulation, plan d'alimentation) ;
- Traiter ou prévenir les maladies intercurrentes.

Dans une majorité de cas, malgré la correction de différents facteurs favorisants, la sévérité et l'incidence élevée de la maladie imposent la mise en place de traitements préventifs. Un antibiotique par voie orale (le plus souvent colistine, parfois aminosides) après le sevrage ou après la transition alimentaire 1^{er}-2^{ème} âge, *via* l'aliment ou l'eau de boisson est prescrit.

Dans le cas d'antibiorésistance élevée ou de formes cliniques difficiles à traiter (telles que la maladie de l'œdème ou les formes septicémiques), le recours au ZnO est parfois envisagé en prévention pour les animaux des bandes suivantes. Le ZnO n'étant pas actuellement autorisé en France en tant que médicament, il ne peut être administré pour prévenir ou guérir. Cependant, il est parfois utilisé illégalement en surdosage d'un additif contenant cet élément de façon à administrer 2500 à 3000 mg de ZnO par kg d'aliment (en saupoudrage sur l'aliment), soit en saupoudrant l'aliment avec une litière asséchante contenant du ZnO. D'un point de vue sécurité, la litière asséchante constitue le scénario le plus défavorable :

- la quantité de ZnO n'est pas précisément connue ;
- le ZnO n'est pas de qualité pharmaceutique, ce qui peut impliquer la présence de substances indésirables.

2.3.3 Le traitement de la colibacillose

Le traitement des infections dues aux colibacilles en post-sevrage a pour objectif :

- d'une part, de traiter l'infection ;
- d'autre part, de corriger les symptômes, en particulier la déshydratation et l'acidose.

Le cas échéant, la correction des conditions environnementales et de l'alimentation favorisent le rétablissement des malades.

2.3.3.1 Diète et correction des conditions environnementales.

La restriction alimentaire, voire la mise à jeun des animaux pendant 24 heures pour les formes cliniques sévères telles que la maladie de l'oedème, limitent la survenue de nouveaux cas.

L'optimisation du confort, notamment l'augmentation de la température ambiante autour de 29,5°C, contribue au rétablissement des animaux.

2.3.3.2 Traitement antibiotique

Le choix de la molécule et la voie de traitement sont faits en fonction des caractéristiques pharmacologiques des présentations, de leur disponibilité, des résultats d'antibiogramme, de la forme clinique, de l'incidence dans la bande d'animaux concernée et enfin de la sévérité.

Les molécules principalement administrées pour cette indication sont :

- les polypeptides (colistine) ;
- les aminosides (apramycine, néomycine, spectinomycine) ;
- les quinolones de troisième génération.

et dans une moindre mesure :

- les quinolones de première génération (acide oxolinique) ;
- les triméthoprime/sulfamides (résistance fréquente) ;
- les céphalosporines (en dernier recours, conformément au moratoire sur l'utilisation de ces molécules en production porcine).

Si l'incidence est faible, le traitement individuel sera privilégié. Pour le traitement individuel du porcelet sevré, seule la voie intramusculaire est envisageable pratiquement. Dans ce cas, les quinolones de troisième génération sont généralement préférées aux polypeptides ou aminosides qui nécessitent plusieurs administrations quotidiennes.

Si l'incidence est plus élevée, les traitements collectifs par voie orale sont envisagés. Seuls les polypeptides, les aminosides ou les quinolones de première génération sont disponibles par voie orale pour cette indication dans l'espèce porcine.

Le Tableau 3 résume de façon très synthétique les critères de choix des molécules antibiotiques et voies d'administration.

Tableau 3 : Critères de choix des molécules antibiotiques et voies d'administration

	Voie orale	Voie injectable
Polypeptide (colistine) Aminoside (Néomycine, Apramycine...)	Disponible Avantage : 1/Facilité d'administration (eau de boisson ou aliment médicamenteux). 2/Coût Inconvénient : Ne passe pas la barrière intestinale. Insuffisant pour les formes septicémiques.	<u>Colistine</u> disponible <u>Néomycine, Apramycine</u> : non disponible pour l'espèce porcine. <u>Spectinomycine</u> disponible en association avec d'autres antibiotiques. Avantage : Coût Inconvénient : Administration deux fois par jour. Volumes importants à injecter. Augmentation des colibacilles résistants à ces classes d'antibiotiques.
Quinolones de première génération	Disponible Avantage : Seul antibiotique disponible par voie orale, à passer la barrière intestinale. C'est donc le seul envisageable dans les formes septicémiques. Toutefois, le passage est très partiel et la biodisponibilité systémique médiocre. Inconvénient : Résistance fréquente des colibacilles. Favorise rapidement l'émergence de résistance,	Non Disponible

	notamment aux quinolones de troisième génération. <i>Il est donc peu prescrit pour ces raisons.</i>	
Quinolones de troisième génération	Non Disponible pour l'espèce porcine	Disponible Avantage : 1/Une administration quotidienne/3jours ou unique 2/ Faible volume 3/ Efficace sur les formes septicémiques Inconvénient : Antibiotique critique
Céphalosporines de troisième et quatrième générations.	Non Disponible	Disponible Avantage : 1/Une administration quotidienne/3jours ou unique 2/ Faible volume 3/ Efficace sur les formes septicémiques Inconvénient : Antibiotiques critiques Classe d'antibiotique faisant l'objet d'un moratoire en France. <i>Ils sont peu prescrits pour ces dernières raisons</i>

Il faut noter que :

- les polypeptides (colistine) et les aminosides ne passent pas la barrière intestinale. Ainsi, administrés par voie orale, ils ne permettent pas de traiter les formes septicémiques. Le traitement de ces formes sévères impose donc le traitement par voie intramusculaire et donc le recours aux quinolones voire aux céphalosporines (avant l'application du moratoire sur l'utilisation de ces molécules en production porcine) en cas d'antibiorésistance ;
- les formes cliniques induites par les toxines des colibacilles, en particulier la maladie de l'œdème, rétrocedent mal, voire sont aggravées par certains traitements antibiotiques (dont la colistine), car ceux-ci favorisent la lyse bactérienne, et donc la libération des toxines. Les animaux atteints de maladie d'œdème sont donc souvent condamnés. Les objectifs de traitement pour cette forme clinique sont essentiellement de limiter les nouveaux cas dans la bande d'animaux exposée à cette maladie extrêmement contagieuse.

2.3.3.3 Traitement symptomatique

L'administration d'anti-inflammatoire est recommandée, en particulier pour les formes septicémiques et la maladie de l'œdème. La réhydratation des animaux est favorisée grâce à la mise à disposition d'eau, voire de solution réhydratante (électrolyte et glucose) pour corriger l'acidose.

2.3.4 Les utilisations actuelles du ZnO en Europe

Certains pays européens autorisent déjà le ZnO à des doses élevées dans l'alimentation des porcelets sous forme de prémélange médicamenteux (2500 ppm de ZnO), pendant 14 jours après le sevrage, et observent une diminution sensible du recours aux antibiotiques.

Les autorités compétentes des Etats Membres de l'UE ont été interrogées pour connaître l'état des lieux des AMM des spécialités à base de ZnO. Seules seront envisagées les spécialités utilisées par voie orale dans le cadre de l'indication « prévention » ou « prévention et traitement » de la diarrhée du post sevrage chez le porcelet. Les spécialités topiques pour usage dermatologique et/ou les spécialités injectables destinées à traiter la carence en zinc (Zn) ne sont pas étudiées ici. Les Etats membres disposant d'une ou plusieurs AMM de prémélanges médicamenteux à base de ZnO sont : Chypre, Danemark, Espagne, Hongrie, Irlande ; Italie, Pologne, Portugal, République Tchèque, Royaume-Uni et Slovaquie. Il n'y a pas d'AMM de poudres orales destinées à cette utilisation. Les autres Etats Membres de l'UE ont indiqué qu'ils n'avaient pas d'AMM (Suède, Slovaquie, Pays-Bas, Finlande, Allemagne, Autriche, Belgique, Lituanie) ou n'ont pas répondu. Les prémélanges médicamenteux sont autorisés chez le porcelet pour « la prévention des diarrhées du post-sevrage », voire pour certains d'entre eux pour « la prévention et le traitement des diarrhées du post sevrage ». L'étiologie de la diarrhée est assez

peu souvent précisée : *E. coli* dans une AMM en Hongrie mais aussi *E. coli*, *Lawsonia intracellularis* et *Serpulina hyodysenteriae* dans une AMM italienne. La plupart des prémélanges contient 100% de ZnO (6/7 AMM en Espagne), mais on trouve aussi des spécialités contenant 37,5%, 50%, 60% et 62% de ZnO. La posologie la plus fréquemment reportée dans les AMM est 100 mg/kg de ZnO pendant 14 jours, soit 2500 mg de Zn, ou 3100 mg de ZnO par kilogramme d'aliment. Quelques AMM mentionnent la dose de 85 mg/kg de ZnO pendant 14 jours.

Le sevrage constitue un réel bouleversement : changement de bâtiment, mélanges de porcelets, changement de système d'alimentation et d'abreuvement, et bien sûr changement du régime alimentaire. Agés de 3 à 4 semaines, les porcelets sont encore immatures à bien des égards : immaturité du tube digestif et du système enzymatique, immaturité du système immunitaire.

Les facteurs propices à une multiplication incontrôlée de bactéries intestinales pathogènes sont donc réunis au sevrage. Même lorsque les formules alimentaires et les conditions de confort et d'hygiène sont optimisées, les désordres digestifs consécutifs au sevrage sont fréquents.

La colonisation du tube digestif par une quantité trop importante de souches pathogènes de colibacilles conduit à des manifestations cliniques diverses, suivant les facteurs de virulence de la bactérie.

Différentes formes cliniques sont décrites : diarrhée colibacillaire, maladie de l'œdème, colitoxicose (ou gastro-entérite hémorragique) ou septicémie.

La forme clinique la plus fréquente est la diarrhée colibacillaire. Les animaux d'une même case sont généralement très vite contaminés. La survenue de cas constitue une réelle urgence thérapeutique. Les animaux malades doivent être traités et, selon la sévérité et la contagiosité de la maladie, les animaux exposés (dans la même case ou dans la même salle) doivent également être traités.

La maladie de l'œdème est également fréquente. Elle est très contagieuse, et les manifestations cliniques sont encore plus brutales : à partir du moment où la maladie commence à s'exprimer, les animaux cliniquement atteints sont le plus souvent condamnés même si un traitement précoce (antibiotique) est mis en place. Le traitement des animaux malades et la prise en charge des animaux exposés sont donc très difficiles.

Malgré la correction des facteurs de risque, le recours à des traitements antibiotiques précoces après sevrage est souvent la seule façon de maîtriser les colibacillooses. Le choix de l'antibiotique est conditionné par les données de l'antibiogramme, mais aussi par les propriétés pharmacocinétiques, le mode d'administration, la tolérance locale et générale de la spécialité. L'administration de la colistine par voie orale pour tous les animaux du lot atteint est fréquente car les colibacilles restent majoritairement sensibles à cet antibiotique. Le traitement individuel des animaux cliniquement atteints nécessite quant à lui l'administration d'un antibiotique par voie injectable. Pour le traitement individuel, le recours aux quinolones de 3^{ième} génération constitue pratiquement la seule possibilité.

Certains élevages présentent des formes cliniques récurrentes liées à des colibacilles multirésistants. Dans ces cas, les possibilités thérapeutiques par voie orale sont souvent limitées à une seule molécule. Dans ces élevages où le prescripteur souhaite à tout prix limiter l'exposition de la flore digestive aux antibiotiques pour limiter la pression de sélection, et dans les élevages où la maladie de l'œdème se manifeste de façon récurrente, le ZnO pourrait être une alternative à l'utilisation d'antibiotiques.

3 Mode d'action du Zn et du ZnO : données de base

3.1 Absorption, métabolisme du Zn, formes d'apport, taille des particules

3.1.1 Généralités sur le Zn

L'apport de Zn par les seules matières premières utilisées dans l'alimentation des porcs ne permet pas de couvrir les besoins en cet élément, c'est pourquoi les rations doivent être supplémentées. Après le fer, le Zn est l'oligoélément le plus abondant dans l'organisme, avec une concentration corporelle de 22 mg/kg de poids vif (Dourmad *et al.*, 2002 ; Mahan et Shields, 1998). Environ 60% du Zn corporel est contenu dans les tissus musculaires, 30% dans le squelette osseux et le reste dans les organes (foie, pancréas, rein, poumon, cœur, cerveau). Les poils (200 mg/kg MS), le foie (150 mg/kg MS), le pancréas (160 mg/kg MS) et le rein (140 mg/kg) présentent les concentrations de Zn les plus élevées chez le porc. La teneur en Zn du plasma, qui représente 0,1% du Zn corporel, est de 1 mg/L chez le porc comme chez la plupart des mammifères (Swinkels *et al.*, 1994).

3.1.1.1 Fonctions du Zn

Le Zn est un élément essentiel car son retrait provoque des troubles structurels et physiologiques que son seul apport permet de prévenir ou guérir. Selon Cousins (Cousins *et al.*, 2006), 3 à 10% du génome humain codent des protéines avec un domaine de liaison avec le Zn. Il intervient dans la plupart des métabolismes biologiques fondamentaux (synthèse et dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques) par l'intermédiaire de plus de 300 enzymes dans les six classes : oxydoréductases, transférases, hydrolases, lyases, isomérase et ligases. Dans ces métalloenzymes, son rôle peut être structural, catalytique, régulateur ou mixte (structural/catalytique, régulateur/catalytique).

3.1.1.2 Métabolisme du Zn

La régulation de l'absorption du Zn exogène et la sécrétion gastrointestinale puis l'excrétion du Zn endogène sont des points critiques du maintien de l'homéostasie du Zn. Le système digestif, et en particulier l'intestin grêle, le foie et le pancréas, jouent donc un rôle central dans le métabolisme du Zn.

3.1.1.2.1 Absorption

Le principal site d'absorption du Zn est l'intestin grêle proximal (Ford, 2004), selon un processus actif, spécifique et saturable, mettant en jeu des transporteurs, et un processus passif, non spécifique et non saturable, principalement représenté par la diffusion paracellulaire (Cousins et McMahon, 2000). Deux familles de protéines impliquées dans le transport du Zn ont récemment été identifiées, y compris dans l'entérocyte : les protéines ZnT qui diminuent le Zn intracellulaire en l'exportant vers le milieu extracellulaire ou les vésicules intracellulaires et les protéines Zip qui favorisent le transport du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire (Cousins *et al.*, 2006). De plus, les entérocytes pourraient répondre à un apport alimentaire accru de Zn par la synthèse de métallothionéine, une métalloprotéine intracellulaire, qui permet de séquestrer le Zn dans l'entérocyte et de limiter son transfert vers le milieu intérieur (Krebs, 2000). Selon Hambidge (Hambidge *et al.*, 2010), la régulation de l'absorption est davantage liée à l'apport alimentaire de Zn qu'au statut de l'animal.

3.1.1.2.2 Distribution

Le Zn absorbé à partir de l'intestin se lie à l'albumine et est transporté jusqu'au foie. Le foie, qui contient moins de 5% du Zn corporel total, joue un rôle central dans le transfert et la distribution du Zn (Underwood, 1977 ; Vallee, 1983). Selon Rucker (Rucker *et al.*, 1994), environ 30 à 40% du Zn nouvellement absorbé sont captés par le foie dont une fraction significative retourne dans le plasma. Le Zn présent dans le foie peut être associé à la membrane des cellules hépatiques, à des métalloenzymes ; il peut aussi être stocké au niveau des métallothionéines ou être excrété via la bile.

Dans le sang, 80% du Zn est contenu dans les érythrocytes, où il est principalement fixé à l'anhydrase carbonique (85%). La principale fraction du Zn plasmatique (environ 65%) est faiblement liée à l'albumine qui fournit le Zn aux tissus (Cousins, 1985). L'autre fraction (environ 35%), fortement liée à l' α_2 -macroglobuline (glycoprotéine anti-protéase) ne serait pas disponible pour les tissus (Cousins, 1985).

En cas de variation des apports alimentaires de Zn, cet élément est redistribué de façon à maintenir sa concentration dans certains tissus au détriment d'autres (Buckley, 2000 ; King, 1990). La teneur en Zn des muscles ou de la peau est ainsi maintenue alors que celle de l'intestin, de l'os, du foie et du plasma sont modifiées (Windisch et Kirchgessner, 1994).

Une étude comparant l'effet du ZnO (100 vs 3000 mg de Zn/kg d'aliment) administré pendant 30 jours a été réalisée sur des porcs de 22 kg en moyenne après 7 jours d'adaptation à l'aliment. L'administration de ZnO (3000 mg/kg) améliore significativement le gain moyen quotidien, la prise alimentaire et l'indice de consommation. Ce traitement accroît la concentration de métallothionéine (MT) et l'activité Cu et Zn au niveau hépatique. Les concentrations d'IGF-1 et d'insuline sont significativement augmentées dans le lot recevant 3000 mg ZnO/kg d'aliment tandis que les concentrations sériques de calcium et de phosphore diminuent et celle de la phosphatase alcaline augmente (Wang *et al.*, 2012).

L'effet du ZnO à des concentrations pharmacologiques (150, 1000, 2000 mg/kg d'aliment) en présence ou non de phytase (0,500 unité phytase/kg) administré à des porcelets (18 jours) sur l'expression de gènes au niveau hépatique a d'abord été étudié sur la MT par la mesure de l'abondance mRNA et la concentration de protéine au niveau de la muqueuse intestinale, du foie et du rein. Il a été montré que la concentration de Zn à 1000 mg Zn par kg avec de la phytase augmentait l'expression de MT mRNA et la teneur en protéine ainsi que l'absorption du Zn dans les mêmes proportions que la concentration à 2000 mg Zn/kg (Martinez *et al.*, 2004). L'analyse des échantillons de foie prélevés dans cette étude pour évaluer les teneurs en RNA par DDRT (Differential display reverse transcription) et par microarray montre que le traitement avec le ZnO module les voies de signalisation pour la réduction du stress oxydatif et le métabolisme des acides aminés, qui sont essentiels à la détoxification et au bon fonctionnement cellulaire (Martinez-Montemayor *et al.*, 2008).

3.1.1.2.3 Excrétion

Le Zn est principalement excrété par voie fécale selon deux composantes : le Zn alimentaire non absorbé et le Zn endogène. L'excrétion urinaire constitue une voie mineure d'élimination du Zn, de 1 à 2% de l'excrétion totale chez le porc (Adeola, 1995 ; Poulsen et Larsen, 1995). Le Zn contenu dans les sécrétions gastriques, pancréatiques, biliaires et intestinales, dans les desquamations des cellules de la muqueuse intestinale et dans la salive constitue la composante endogène. Selon Hambidge (Hambidge *et al.*, 2010), la quantité de Zn endogène excrétée par voie intestinale répond à la quantité absorbée et au statut de l'animal. Le Zn sécrété dans l'intestin, dont la quantité est aussi importante que celle ingérée (Buckley, 2000), est susceptible d'être réabsorbé. La relation entre la composition du régime, notamment sa teneur en phytates et le niveau de réabsorption des sécrétions endogènes de Zn est controversée (Hambidge *et al.*, 2010).

3.1.2 Utilisation de Zn à doses élevées en post sevrage

3.1.2.1 Bilan de Zn

Pour une ration de base donnée, la quantité nette de Zn retenu (absorbé-excrété d'origine endogène) est proportionnelle à la quantité ingérée dans un intervalle d'apport étroit, inférieur aux besoins physiologiques, qui sont estimés à environ 100 mg/kg d'aliment pour le porcelet sevré en premier âge (INRA, 1989 ; NRC, 1998). Au-delà, la pente de la réponse de la quantité de Zn retenu à l'apport alimentaire fléchit et s'annule, jusqu'à un niveau au-delà duquel l'homéostasie ne peut plus être maintenue (Figure 2).

L'animal répond à un apport excessif de Zn par une augmentation de l'excrétion fécale de Zn, liée à une diminution de l'absorption, une augmentation des pertes endogènes et une accumulation dans le foie et le plasma (Carlson *et al.*, 2004b ; Case et Carlson, 2002 ; Hahn et Baker, 1993 ; Rincker *et al.*, 2005). Certains auteurs signalent une augmentation des pertes urinaires de Zn lorsque l'aliment contient 3000 mg Zn/kg (Buff *et al.*, 2005 ; Case et Carlson, 2002). Toutefois, l'excrétion urinaire n'excède pas 1% de l'excrétion totale de Zn et le mode de collecte des urines peut laisser soupçonner une contamination par les fèces.

Au total, les coefficients d'absorption nette et de rétention de Zn sont très faibles et les quantités de Zn excrétées approchent les quantités ingérées. Pour des apports alimentaires de Zn compris entre 100 et 3000 mg/kg d'aliment, l'excrétion de Zn mesurée par la méthode des bilans représenterait 79% de la quantité ingérée ($\text{etr} = 46$, $R^2 = 0,99$, $n = 17$; Figure 2). Cette linéarité apparente de l'excrétion en dépit de l'absence de linéarité de la rétention peut être attribuée au déséquilibre important entre ces deux grandeurs par rapport à l'ingéré. Cependant, la mesure de l'excrétion de Zn par la technique du bilan est très délicate : une collecte incomplète des excréta et en particulier des fèces, des difficultés analytiques et une durée faible de collecte chez des animaux en état de déséquilibre homéostatique, pourraient conduire à une sous-estimation importante de la quantité de Zn excrété. Selon Revy (Revy *et al.*, 2002), cette sous-estimation pourrait atteindre 16%. Dans ce cas, l'excrétion de Zn représenterait 94% de la quantité ingérée.

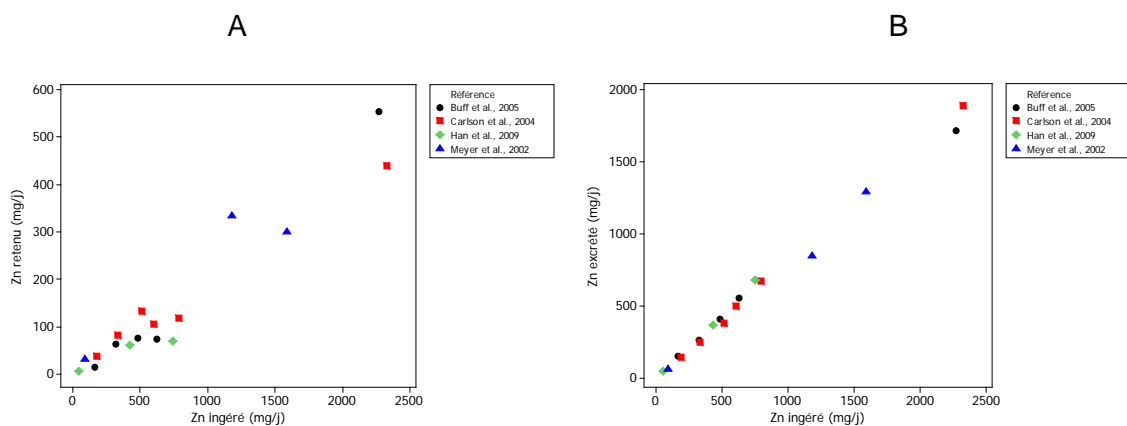


Figure 2 : Réponse du Zn retenu (A) et du Zn excrété (B) en fonction du Zn ingéré chez le porcelet sevré (méthode des bilans)

(Buff *et al.*, 2005 ; Carlson *et al.*, 2004a ; Han et Thacker, 2009 ; Meyer *et al.*, 2002)

Par ailleurs, en considérant une rétention corporelle de Zn de l'ordre de 21,8 mg/kg de gain de poids (Dourmad *et al.*, 2002 ; Jondreville *et al.*, 2003), un porcelet sevré présentant un indice de consommation de 1,4 et une vitesse de croissance de 400 g/j élevé pendant 14 jours avec un aliment contenant 2000 mg/kg, retiendrait 122 mg de Zn pour une ingestion de 15680 mg. L'excrétion peut alors être estimée comme étant proche de l'ingéré (>99%). Cette rétention extrêmement faible, associée aux incertitudes méthodologiques, pourrait expliquer les rétentions négatives de Zn obtenues par Case et Carlson (Case et Carlson, 2002) et Han et Thacker (Han et Thacker, 2009) par la méthode des bilans.

3.1.2.2 Sources de Zn utilisées en post-sevrage

3.1.2.2.1 Relation entre la biodisponibilité et l'impact du Zn sous forme d'oxyde chez le porcelet sevré

Les sources de ZnO utilisées dans l'alimentation des animaux d'élevage varient quant à leur texture, leur couleur, leur teneur en Zn et leur biodisponibilité. Chez le poulet Edwards et Baker (Edwards et Baker, 1999) ont estimé que la biodisponibilité du ZnO varie de moins de 40 à plus de 90% par rapport à une source témoin de sulfate de Zn heptahydraté. En dépit de ces différences importantes, il semble que la biodisponibilité de la source de ZnO utilisée à doses pharmacologiques chez le porcelet sevré soit sans impact sur la croissance des animaux (Mavromichalis *et al.*, 2000).

3.1.2.2.2 Utilisation d'autres sources de Zn à doses élevées : sulfate et sources organiques

L'intérêt du ZnO sur le contrôle des entérites du sevrage est connu depuis longtemps, mais des travaux plus récents s'intéressent à d'autres formes de Zn qui permettraient de bénéficier de son effet thérapeutique avec des doses de Zn plus faibles.

In vitro, une forme potentialisée sous forme de feed grade exerce un effet inhibiteur significativement supérieur à celui du ZnO sur la croissance bactérienne du contenu intestinal de porcelets mis en culture *ex vivo* (Vahjen *et al.*, 2012). Une étude en élevage confirme l'intérêt potentiel de cette formulation : 144 porcs sevrés répartis en cases de 6 ont reçu un aliment supplémenté avec 3 000 ppm de ZnO pendant la phase de démarrage entre 28 et 42 jours d'âge, puis jusqu'à l'âge de 63 jours ils ont reçu un aliment supplémenté soit avec 3 000 ppm de ZnO classique, soit avec 110 ppm de Zn sous forme potentialisée, jusqu'à l'âge de 63 jours. Les résultats établissent une nette supériorité de la présentation potentialisée, à la fois sur la croissance et sur l'état de santé évalué par dosage d'un marqueur de l'inflammation (Pig MAP) (Morales *et al.*, 2012).

Un essai portant sur l'administration de ZnO-montmorillonite pendant 15 jours est encore plus intéressant (Hu *et al.*, 2012). Cette présentation, dans laquelle la dose de ZnO administrée est de 500 ppm, est comparée à une dose de 2000 ppm de ZnO réduit et à des groupes témoins non traités, traités avec de la montmorillonite seule ou 500 ppm de ZnO sous forme classique. L'essai montre que 2000 ppm de ZnO ou 500 ppm de ZnO associé à la montmorillonite permettent d'améliorer les performances de croissance et de réduire les diarrhées et le nombre de clostridies et de colibacilles présents dans l'intestin grêle et le colon proximal, les résultats étant encore meilleurs avec l'association ZnO-montmorillonite. La hauteur des villosités et le rapport hauteur des villosités sur profondeur des cryptes sont également améliorés par le ZnO à 2000 ppm et le ZnO-montmorillonite en comparaison des 3 autres groupes.

Bien que préliminaires et ne portant pas directement sur le contrôle de la colibacillose du sevrage, ces résultats sont indiscutablement intéressants. L'efficacité de ces formulations sur le contrôle de la colibacillose reste à démontrer.

Le Zn est un élément essentiel dont l'homéostasie est maintenue principalement grâce à la modulation de l'absorption intestinale et de la sécrétion gastrointestinale puis l'excrétion du Zn endogène dans les fèces. En cas d'apports élevés, cette régulation conduit à une excrétion quasi-totale du Zn ingéré. L'utilisation de différentes sources de Zn plus disponibles que le ZnO, autorisant des teneurs en Zn plus faibles pour lutter contre les diarrhées des porcelets en post sevrage, constitue des axes de recherche.

3.2 Mode d'action sur les maladies des porcelets : physiologie digestive et écosystème microbien

Lors du sevrage, le tube digestif et le microbiote résidant évoluent conjointement au niveau anatomique, physiologique, immunologique et microbiologique pour retrouver un nouvel équilibre fonctionnel suite au changement d'alimentation (Lallès *et al.*, 2007a).

3.2.1 ZnO et physiologie digestive

Au plan physiologique, l'estomac joue un rôle important dans la régulation de la motilité du tube digestif et sert de barrière du fait de l'acidification. Le pH faible de l'estomac du porcelet (pH 3,5 à 4,5) transforme une part importante du ZnO insoluble en ions Zn^{2+} (54 à 84% d'ion Zn^{2+} à 150 et 24 ppm ZnO) toxiques pour les bactéries lactiques de l'estomac, entraînant une modification de cette population bactérienne (Carlson *et al.*, 2004a).

Pendant le sevrage, le transit intestinal est plus lent chez le porc par comparaison au porcelet allaité entraînant une accumulation de particules favorable à la croissance bactérienne. Des modifications transitoires de l'absorption du glucose, du transport ionique, des capacités sécrétoires, de la perméabilité aux macromolécules sont également observées. La supplémentation en ZnO (2000 mg par kg aliment) entraîne une réduction de la perméabilité intestinale (Zhang et Guo, 2009) par un renforcement des jonctions cellulaires au niveau épithéliale.

3.2.2 Zn, ZnO et microbiote intestinal

L'effet du Zn sur les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) a été décrit par Crane et al (Crane *et al.*, 2007). Des concentrations de Zn qui sont pratiquement sans effet sur la croissance des souches d'EPEC, entraînent une réduction de l'expression de différents facteurs de virulence (BFP (bundle-forming pilus), EPEC secreted protein A, *etc.*) et réduisent l'adhérence des EPEC en culture cellulaire. Ces effets ne sont pas obtenus avec d'autres métaux (manganèse, fer, cuivre ou nickel) et ne sont pas inhibés par un excès de fer. L'analyse par PCR quantitative montre que le Zn provoque une diminution du nombre de copies des ARN codés par le gène *bfp*, le régulateur plasmidique *per*, le régulateur du locus d'effacement des entérocytes (LEE) ou par plusieurs des gènes *esp* (EPEC secreted protein). *In vivo*, le Zn réduit l'adhésion des EPEC à l'iléon de lapin et les lésions histologiques induites telles que l'abrasion des villosités. L'effet bénéfique du Zn lors de gastro-entérites paraît donc passer non seulement par ses effets vis-à-vis des cellules de l'hôte (inhibition par le Zn de l'ecto-5' nucléotidase, enzyme permettant la conversion de l'AMP en adénosine, responsable des pertes hydriques par sécrétions liquidiennes et facteur de croissance des EPEC) mais également par son action sur la physiologie des EPEC, voire d'autres bactéries. De fait, plus récemment, la même équipe dévoilait que pour les STEC (Shigatoxigenic *E. coli*) aussi, le Zn inhibe l'adhésion aux cellules *in vitro* et l'expression d'EspA et des shigatoxines. La production de ces dernières est réduite de plus de 90% par 0,4mM de Zn. Dans un modèle *in vivo* sur lapins, le Zn conduit à une diminution de la sécrétion liquidienne, de l'adhésion à la muqueuse, de la quantité de shigatoxines et des lésions induites par les STEC (Crane *et al.*, 2011). Les antibiotiques n'étant pas appropriés pour le contrôle des infections à STEC, le Zn pourrait se révéler utile pour lutter contre ces infections.

L'étude de Katouli (Katouli *et al.*, 1999) montre que la supplémentation par du ZnO (2500 ppm) sur les 15 jours post sevrage ne modifie pas la capacité fermentaire de la flore digestive, ni le nombre des coliformes. Toutefois, durant cette période, la flore des animaux traités présente une plus grande diversité de profils biochimiques et une plus forte homogénéité entre les animaux est observée en comparaison des animaux témoins. Chez les porcs témoins, cette période après sevrage est marquée par la dominance chez chaque animal d'une souche particulière, différente d'un animal à l'autre. Les auteurs concluent que le ZnO contribue à la stabilité du microbiote sur les 15 premiers jours post sevrage.

Selon Li (Li *et al.*, 2006b), l'ajout de ZnO à l'alimentation de porcs ne modifie pas significativement les nombres d'*Enterobacteriaceae*, *Clostridia* et Lactobacilles de la flore iléale ou fécale de porcs. Et selon Jensen-Waern, les nombres d'*E. coli* et d'entérocoques ne sont pas différents entre des porcs témoins et des porcs supplémentés avec 2500 ppm de ZnO (Jensen-Waern *et al.*, 1998).

Des résultats différents sont observés par Hojberg (Højberg *et al.*, 2005) : une supplémentation en ZnO (2500 ppm) chez le porcelet sevré réduit l'activité bactérienne (accumulation d'ATP) dans le contenu intestinal. La proportion de bactéries lactiques diminue tandis que celle des coliformes et entérocoques augmente. Le mode d'action est proche de celui d'autres facteurs de croissance qui porte sur la suppression de la flore Gram positive plutôt que sur une modification de la flore Gram négative pathogène. La réduction de la fermentation des nutriments sur la partie proximale de l'intestin augmenterait la part d'énergie disponible pour l'animal et contribuerait à l'effet facteur de croissance du ZnO à forte dose.

Des porcelets sevrés à 24 jours avec de l'amoxicilline (25 mg/kg aliment + 75 mg/kg/12 h par injection) et traités pendant 7 jours avec du ZnO dans l'aliment (2500 mg/kg) présentent moins de diarrhées que le groupe contrôle sans ZnO, un gain moyen quotidien accru et pas de modification du niveau d'atrophie des villosités intestinales mesuré par comparaison avec celles observées au moment du sevrage dans les deux groupes. Le traitement antimicrobien entraîne une réduction de la diversité bactérienne et prévient la colonisation par *E. coli*. Le traitement améliore l'activité enzymatique (amylase, trypsine, aminopeptidase A et N). Au niveau du colon, le traitement antimicrobien réduit le poids du tissu et accroît la densité des cellules gobelet, cellules épithéliales qui produisent et secrètent des mucines (Thymann *et al.*, 2007).

Dans une étude comparant l'effet de 200 vs 3000 mg de ZnO/kg d'aliment sur la population bactérienne de l'iléum de porcelet 14 jours après le sevrage, il a été observé dans le lot recevant la forte dose de ZnO une augmentation de l'incidence relative de *Weissella* spp., *Leuconostoc* spp. et *Streptococcus* spp., une réduction de *Sarcina* spp. et *Neisseria* spp. et une augmentation de la taille des populations des bactéries Gram négative anaérobie facultative (Vahjen *et al.*, 2010). Une analyse détaillée par pyroséquencage montre que le cœur du microbiote intestinal est dominé par les bactéries lactiques mais elles ne sont pas toutes affectées de la même façon par la forte supplémentation en ZnO. Chez les espèces dominantes, *Lactobacillus reuteri* est réduite mais pas *L. amylovorus*. Les proportions relatives des différentes espèces sont modifiées avec l'augmentation de l'abondance relative de *Weissella cibaria*, *W. confusa*, *Leuconostoc citreum*, *Streptococcus equinus* et *S. lutetiensis*. Chez les bactéries non lactiques, les bactéries anaérobies strictes sont influencées avec une réduction de l'abondance relative de *Sarcina ventriculi* (14,6 vs 5,1%) tandis que celle des entérobactéries s'accroît ainsi que leur diversité (Vahjen *et al.*, 2011).

Au cours d'une étude en carré latin (Slade *et al.*, 2011), l'influence de l'environnement (élevage en bâtiment ou en extérieur) et de la supplémentation ZnO (0 vs 3100 mg/kg d'aliment) a été évaluée sur la réponse à une infection expérimentale avec un *E. coli* enterotoxinogène au sevrage (4 semaines). La taille des villosités et le nombre de cryptes dans la partie proximale de l'intestin grêle ainsi que le ratio bactéries lactiques/coliformes au niveau caudal et du colon sont augmentés par ZnO. Il y a une interaction entre le mode d'élevage et la supplémentation en ZnO.

3.2.3 Modèles *in vitro*

In vitro, dans un modèle de cellules Caco-2 exposées à une souche ETEC, le ZnO à la concentration de 0,2 mmol/L prévient la rupture de l'intégrité membranaire, réduit l'adhésion bactérienne aux entérocytes et bloque l'invasion des cellules (Roselli *et al.*, 2003).

Dans un modèle *in vitro* utilisant les cellules épithéliales de l'intestin de porc (IPEC-J2), l'effet du ZnO (50, 100, 200, 500, 1000 µM) sur l'adhésion d'*E. coli* K88 (F4) et le métabolisme cellulaire et bactérien a été étudié (Sargeant *et al.*, 2010b). Le ZnO réduit la viabilité des cellules IPEC-J2 à partir de 200 µM. L'adhésion des bactéries aux cellules n'est pas affectée tandis que le métabolisme énergétique du pathogène est affecté par l'augmentation des concentrations en ZnO (Sargeant *et al.*, 2011).

3.2.4 Nanoparticules de Zn et écosystème microbien

Selon Yamamoto (Yamamoto, 2001), la taille des particules de ZnO de 0,1 à 0,8 µm influence leur activité antibactérienne mesurée par conductivité électrique. Les particules de plus petite taille ont un effet antimicrobien plus élevé vis-à-vis d'*E. coli* ou, dans une moindre mesure, de *S. aureus*. Cet effet résulterait d'une augmentation de la surface relative des particules. L'effet de la taille (de 230 à 2417 nm) et plus encore de la concentration (0,1 ou 0,25 g/L) des nanoparticules de ZnO en suspension sur l'activité bactériostatique d'*E. coli* est également rapporté par Zhang (Zhang *et al.*, 2007). L'observation par microscopie électronique à balayage montre des altérations de la paroi bactérienne. Une autre étude (Zhang *et al.*, 2008) rapporte que des nanoparticules de taille moyenne de 198 nm stockées pendant quatre mois à la lumière conservent leurs propriétés inhibitrices vis-à-vis de *E. coli*. Les concentrations permettant d'obtenir une réduction de 100% de la population bactérienne d'*E. coli* de 10^4 - 10^5 UFC/mL sont de l'ordre de 4 g/L. Tam et al comparent l'activité de ZnO selon la forme utilisée : ainsi, la concentration minimale bactéricide de ZnO vis-à-vis d'*E. coli* est de 15 ou 80 mM selon qu'il s'agit respectivement de nanoparticules ou de poudre de ZnO (Tam *et al.*, 2008). Jin et al (Jin *et al.*, 2009) montrent que les nanoparticules de ZnO ont une activité antimicrobienne vis-à-vis de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis, et *Escherichia coli* O157:H7. L'activité des nanoparticules (40 mg ZnO-PVP/mL équivalent à 3,2 mg ZnO/mL) vis-à-vis de *Listeria* ou d'*E. coli* O157 :H7 en milieu de culture est supérieure à celle de la poudre de ZnO à la concentration de 10 mg/mL.

Le ZnO entraîne plusieurs effets sur le tractus digestif. Au niveau du microbiote intestinal, il a un effet de stabilisation du microbiote en agissant sur certaines espèces de bactéries lactiques et de bactéries anaérobies et en favorisant la stabilité et l'accroissement de la diversité des entérobactéries. La barrière épithéliale de l'intestin est renforcée au niveau des jonctions inter-cellulaires tandis que la possibilité d'adhésion aux cellules intestinales par des souches d'*E. coli* enterotoxinogènes est réduite.

3.3 Effet sur le système immunitaire du porcelet

Lorsque des doses pharmacologiques comprises entre 2000 et 3000 mg de ZnO/kg d'aliment sont ajoutées à la ration des porcelets, le ZnO est susceptible d'agir dans la lumière et la paroi du tube digestif (la majorité du ZnO ingéré est excrétée dans les fèces), mais aussi de façon systémique puisque la zincémie augmente, indiquant qu'une fraction du Zn est absorbée (Buff *et al.*, 2005 ; Carlson *et al.*, 2004b).

Après avoir passé en revue les principales fonctions auxquelles le Zn est associé, nous évaluerons l'effet du Zn sur l'immunité systémique et sur l'immunité locale digestive chez les mammifères en général, et plus spécifiquement chez le porc lorsque des données sont disponibles.

3.3.1 Effet sur le système immunitaire et ses composants

3.3.1.1 Impact de la carence en Zn sur le système immunitaire

Des déficits modérés et sévères en Zn et leur impact sur le système immunitaire ont été étudiés à l'aide de modèles expérimentaux chez la souris et par des études cliniques chez l'homme et les animaux domestiques.

Chez la souris, la carence produit une atrophie des tissus lymphoïdes, une diminution des réponses anticorps T-dépendantes et T-indépendantes, mais aussi une altération des réponses primaires et secondaires, et une diminution des fonctions NK (natural killer) (Fernandes *et al.*, 1979). L'apport de Zn permet de restaurer la totalité des fonctions.

Chez l'homme, de profondes altérations de l'immunité cellulaire sont associées à la carence en Zn, qui se traduit par des lésions muco-cutanées, de la diarrhée, et une augmentation de la fréquence et de la sévérité des maladies infectieuses. Les sujets carencés ont une atrophie thymique, une réponse proliférative lymphocytaire diminuée, et un déficit fonctionnel de l'hormone thymique. Tous ces symptômes disparaissent après l'apport de Zn.

Le déficit pendant la gestation pourrait avoir un impact sur le développement et les fonctions immunitaires à long terme, sans que ces altérations aient été définies précisément.

3.3.1.2 Rôle physiologique du Zn sur les fonctions immunitaires : mécanismes cellulaires et moléculaires

Le Zn est central dans le développement et les fonctions du système immunitaire. Pour le versant inné de l'immunité, il est crucial pour les fonctions des granulocytes neutrophiles et des cellules NK. Les fonctions des macrophages telles que la phagocytose, la bactéricidie, et la production de cytokines sont altérées lors de carence, tout comme le développement et les fonctions lymphocytaires.

Cependant la plupart des mécanismes ne sont pas connus avec certitude et un certain nombre d'hypothèses peuvent être faites sur son rôle :

- ✓ Le Zn est un cofacteur essentiel à l'activité de nombreuses enzymes (il est indispensable à l'activité de plus de 300 enzymes qui sont inactives en son absence). Ainsi le Zn est essentiel à l'activité de l'ADN polymérase, la thymidine kinase, l'ARN polymérase dépendant de l'ADN. Le rôle du Zn sur les enzymes impliquées dans la synthèse des acides nucléiques explique en partie les effets sur la prolifération lymphocytaire. Le Zn influence également l'activité de facteurs de transcription, plus connus sous le nom de protéines Zn-finger se liant à l'ADN. Il participe aussi à la formation du site enzymatique de plusieurs métalloprotéases.
- ✓ Le Zn est nécessaire à l'activité de plusieurs médiateurs immunitaires. Cela a été clairement démontré pour la thymuline, une hormone nonapeptidique, sécrétée par les cellules épithéliales thymiques, et qui requiert la présence du Zn pour son activité (Prasad *et al.*, 1988). Ce peptide promeut la maturation des lymphocytes T, les fonctions cytotoxiques et la sécrétion d'interleukine IL-2, qui est une cytokine indispensable à la prolifération et à la différenciation lymphocytaire. Le Zn est lié dans un rapport stœchiométrique égal à un, grâce aux chaînes latérales de l'asparagine et les groupes hydroxyl de deux sérines du peptide. L'activité de la thymuline, quelle que soit l'espèce de mammifère, est dépendante de la concentration en Zn plasmatique et des modifications marginales de la disponibilité en Zn (biodisponibilité, absorption) affecte l'activité de la thymuline. La thymuline est présente en quantité normale dans le plasma lors de déficit en Zn, mais elle n'est pas active. La liaison du Zn induit un changement conformationnel qui rend la thymuline active. La mesure de l'activité de la thymuline a été proposée comme un critère très sensible pour détecter un déficit en Zn peu marqué.
- ✓ Le Zn peut être critique pour l'activité de certaines cytokines. Il a été montré que l'activité biologique des interleukines IL-1, 2, 3, 4, 6, IFN γ et TNF α est affectée par la carence en Zn. En outre, ce déficit modifie la sécrétion cytokinique des lymphocytes dits Th1, c'est-à-dire ceux producteurs d'IFN γ car le déficit altère le profil général de sécrétion cytokinique des lymphocytes T et leurs fonctions (Prasad, 2000). La réponse dite Th1 promeut l'activation des macrophages et les réponses cellulaires, ainsi que la production des anticorps opsonisants et fixant le complément. Il a été montré, dans un système cellulaire *in vitro*, que la diminution du Zn disponible conduisait à une diminution d'expression de l'IL-2 et de son récepteur (IL-2R α) à cause d'un défaut de liaison du facteur de transcription NF κ B. Ce défaut de transduction du signal est la conséquence de plusieurs déficits aux niveaux transcriptionnel et post-traductionnel (phosphorylation et ubiquitination de l'inhibiteur I κ B) (Prasad, 2008).
- ✓ Le Zn peut participer à la stabilisation des membranes cellulaires, en agissant sur le cytosquelette. La stabilisation des membranes est permise par son rôle anti-oxydant, en prévenant les effets secondaires provoqués par les radicaux libres de l'oxygène, qui sont particulièrement abondants lors des processus inflammatoires et/ou infectieux. Cet effet peut expliquer la diminution de la phagocytose, de la consommation d'oxygène, et de l'activité bactéricide en cas de déficit en Zn dans les cellules phagocytaires et la

modification de l'expression de certains récepteurs à la surface des cellules immunitaires.

- ✓ Le Zn est un modulateur de la sensibilité à l'apoptose des lymphocytes aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Ainsi, il apparaît évident que l'atrophie thymique et la lymphopénie associées au déficit en Zn sont principalement dues à une altération de la production de lymphocytes et la perte des cellules précurseurs par des mécanismes apoptotiques (Fraker *et al.*, 1993). Dans ce contexte, l'augmentation de la cortisolémie en présence d'une zincémie suboptimale pourrait jouer un rôle significatif.
- ✓ L'effet du Zn peut aussi passer par un effet sur l'activation de NFκB qui est fonction du type cellulaire et cet effet est nuancé par l'activité de certains de ses inhibiteurs. Dans les cellules phagocytaires, un de ces inhibiteurs est A20 (ou TNFAIP3) qui joue un rôle dans la diminution de l'inflammation provoquée par l'activation de NFκB produite par l'IL-1β et le TNFα. La supplémentation en Zn réduit les effets inflammatoires passant par la cascade TRAF associée à ces cytokines pro-inflammatoires dans les cellules mononucléées inflammatoires, réduisant du même coup le stress oxydatif cellulaire qui est associé. Un autre mode de régulation de l'activité de NFκB pourrait passer par l'augmentation d'expression des protéines de la réponse au stress cellulaire dont les protéines HSP en réponse au Zn (Van Molle *et al.*, 2007).
- ✓ Plus récemment, un lien entre le métabolisme du Zn et la reconnaissance des pathogènes par les cellules dendritiques a été identifié (Kitamura *et al.*, 2006). L'engagement de TLR4 par les lipopolysaccharides (LPS), composé fortement inflammatoire libéré à partir de la paroi des bactéries Gram négatif, conduit à une diminution de l'expression du transporteur Zip6 et du contenu cellulaire en Zn. Les fonctions activatrices de ces cellules (présentation antigénique et costimulation) pour les lymphocytes T dépendent des effets biologiques du Zn permis par ce transporteur. Cette observation relie directement métabolisme du Zn et réponse immunitaire adaptative.

3.3.1.3 Rôle du Zn dans les situations pathologiques

Peu d'études se sont intéressées au rôle du Zn dans les conditions pathologiques et infectieuses. Alors que des études ont évalué l'effet sur la croissance et l'efficacité digestive (Hedemann *et al.*, 2006), il est généralement admis que les besoins en Zn pour les fonctions immunitaires sont plus élevés que ceux nécessaires à la croissance et au développement (Van Heugten *et al.*, 2003). Un déficit marginal aura donc un impact sur les fonctions immunitaires avant d'agir négativement sur les autres fonctions, et ce d'autant plus que l'organisme est exposé à une situation de rupture de l'homéostasie, comme c'est le cas lors d'infection.

3.3.1.3.1 *Rôle du Zn sur les fonctions lymphocytaires*

Les fonctions thymiques sont influencées par la disponibilité en Zn car l'activité de la thymuline, qui contrôle la différenciation et les fonctions cellulaires T, dépend de ce métal. En outre, le Zn et la thymuline peuvent protéger les thymocytes vis-à-vis de l'apoptose induite par les glucocorticoïdes et le TNFα (Haeryfar et Berczi, 2001 ; Shankar et Prasad, 1998). Le déficit en Zn provoque une hypoplasie des organes lymphoïdes primaires et secondaires (thymus, rate, nœuds lymphatiques, et plaques de Peyer), une diminution du nombre total de lymphocytes, une altération des fonctions cellulaires T auxiliaires et cytotoxiques, de l'activité des cellules tueuses naturelles (NK), et une altération de la production des cytokines Th en faveur de la production de cytokines associées au phénotype Th2.

Un déficit en Zn et une diminution de l'activité endocrine du thymus ont été observés chez des porcelets nourris par des truies exposés aux aflatoxines AFB1 et AFG1, en comparaison de porcelets non exposés. La réponse des thymocytes à un stimulus mitogène (PHA) était diminuée, et une déplétion corticale thymique était présente. Ces données suggèrent qu'une faible diminution

périphérique du Zn est susceptible de provoquer des défauts thymiques, associés à une diminution des fonctions lymphocytaires (Mocchegiani *et al.*, 1998).

Chez des veaux consommant du lait supplémenté en Zn, des réponses IgM et IgG plus élevées ont été observées, suggérant une plus forte réponse anticorps et un effet bénéfique du Zn sur les interactions lymphocytes T-B (Prasad et Kundu, 1995). En revanche, d'autres études ont montré que des carences marginales en Zn n'avaient pas d'effet sur la réponse anticorps ou la réponse proliférative des lymphocytes chez les ruminants (Spears, 2000 ; Spears et Kegley, 2002). Aucune donnée établie chez le porc n'est disponible.

3.3.1.3.2 Rôle du Zn dans les situations inflammatoires

L'hypozincémie est fréquente lors d'inflammation, qu'elle soit aiguë ou chronique, et lors d'infection. Au cours de la phase aiguë de l'inflammation, l'hypozincémie est principalement due à la redistribution du Zn au sein des tissus, en particulier le foie où il s'accumule, et des cellules, sans déplétion significative à l'échelle de l'organisme. La redistribution du Zn dans les tissus des vertébrés après infection a été mise en évidence récemment grâce à la technique d'imagerie tissulaire de spectrométrie de masse par torche à plasma couplé à l'ablation laser (LA-ICP-MS) (Corbin *et al.*, 2008). Ce mécanisme permet de réduire la disponibilité du Zn pour les germes, sans que l'on connaisse pour l'instant le véritable effet de cette déplétion sur la croissance et la virulence bactériennes.

L'IL-1 et, en particulier, l'IL-6 augmentent l'expression des protéines de transport du Zn et des métallothionéines. Les métallothionéines (MT) ont un rôle essentiel dans la régulation de l'homéostasie du Zn en raison de leur très forte affinité pour ce métal. Une fonction importante des MT est la libération de Zn au cours du stress oxydatif ou nitrosatif, ce qui permet d'augmenter l'efficacité des enzymes anti-oxydantes dont l'activité dépend du Zn.

Au cours de l'inflammation aiguë, les MT agissent comme des agents protecteurs qui préviennent le déficit en jouant le rôle de source de Zn. Elles agissent aussi comme facteurs chémotactiques qui gouvernent la migration des leucocytes vers le site inflammatoire.

Lors d'inflammation chronique, des quantités élevées de MT, associées à des concentrations locales élevées en IL-6 et une faible libération de Zn par les MT sont observées. La surexpression des MT peut réduire ainsi la disponibilité du Zn conduisant à une altération des fonctions immunitaires et de l'activité anti-oxydante.

En outre, ce niveau élevé de MT altère la réponse chémotactique des leucocytes, et modifie l'issue des états inflammatoires, avec des dommages tissulaires collatéraux plus intenses.

Chez la souris, une réduction minime (par 2,5) de la zincémie, dans un modèle expérimental de sepsis polymicrobien par ligature caecale, augmente significativement les titres bactériens systémiques, la morbidité et la mortalité (Knoell *et al.*, 2009). En outre, l'effet d'une supplémentation prophylactique en Zn (Zn gluconate, 10 mg/kg, voie intra-péritonéale, 3 jours) dans un modèle similaire est bénéfique avec une réduction de la charge bactérienne, une amélioration des fonctions immunitaires et macrophagiques vis-à-vis de *E. coli* et *Staphylococcus aureus*, et une augmentation de la survie (Nowak *et al.*, 2012). Cet effet est supposé passer en partie par une modulation de l'activité de NFκB (Bao *et al.*, 2010).

3.3.1.3.3 Rôle du Zn dans les situations d'hypercortisolémie

Le Zn joue un rôle essentiel dans les interactions glucocorticoïdes-cytokines du fait de la relation étroite qui existe entre l'activité des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNFα, et IL-6) et le statut en Zn de l'organisme (Mocchegiani *et al.*, 2007).

Au cours d'une infection, les glucocorticoïdes élevés, en même temps que l'IL-1 et l'IL-6, sont associés à des pertes urinaires et fécales de Zn plus marquées, avec en conséquence une altération des fonctions immunitaires. En prenant en compte le rôle essentiel du Zn dans l'immunité innée, un déficit en Zn, associé à un stress et à des valeurs élevées de la cortisolémie, provoque une altération des défenses et de la résistance aux infections.

Cependant, des investigations complémentaires sur le rôle du Zn dans les fonctions immunitaires et anti-infectieuses, en particulier lors d'inflammation et d'infection chroniques, et sur le potentiel thérapeutique du Zn dans ces conditions, sont nécessaires car les données disponibles sont encore partielles ou imprécises.

3.3.1.3.4 Effet de la supplémentation en Zn dans les autres espèces

La supplémentation en Zn chez l'homme (15 mg/jour ; 10 jours) modifie les fonctions de transport du Zn en modifiant l'expression génique des gènes ZnT1 et Zip3, ainsi que l'expression des cytokines (IFN γ dans les lymphocytes et IL-1 β et TNF α dans les monocytes et granulocytes) du sang périphérique.

Chez l'homme, l'administration de Zn pour prévenir ou traiter la diarrhée aiguë de l'enfant, a fait l'objet de plusieurs méta-analyses récentes. Cette administration au-delà des recommandations est justifiée par l'existence de situations de déficit fréquentes en Afrique et en Asie. Ainsi, il a été montré que la supplémentation en Zn (10-20 mg/jour ; 10-14 jours) réduit la durée moyenne de la diarrhée aiguë de 20% approximativement, et de la diarrhée chronique de 15 à 30%, mais n'a pas d'effet sur la fréquence des selles, ni sur son volume.

La supplémentation lors de shigellose augmente la réponse lympho-proliférative provoquée par la phytohémagglutinine, et le titre d'IgG spécifiques (Raqib *et al.*, 2004). Parallèlement, une augmentation du nombre de cellules B et de plasmocytes circulants a été mesurée (Rahman *et al.*, 2005).

3.3.2 Effets immunitaires de l'administration de Zn chez le porcelet

Plusieurs études ont évalué les effets immunitaires du ZnO soit à l'échelle cellulaire à partir de cellules épithéliales porcines maintenues en culture (lignée IPEC J2) (Sargeant *et al.*, 2010a ; Sargeant *et al.*, 2011), soit à l'échelle tissulaire, après administration orale de ZnO à des doses pharmacologiques, à des porcelets (Li *et al.*, 2006b ; Martinez-Montemayor *et al.*, 2008 ; Ou *et al.*, 2006). Dans ce dernier cas, les essais sont réalisés juste après le sevrage et à la suite d'une épreuve infectieuse expérimentale avec des colibacilles F4 (ancienne dénomination K88), ce qui permet de reproduire expérimentalement les troubles diarrhéiques contre lesquels l'administration de ZnO est justement envisagée.

Ces analyses sont réalisées au niveau systémique (foie) (Martinez-Montemayor *et al.*, 2008), mais aussi localement dans la paroi du tube digestif intestinal (Li *et al.*, 2006b ; Ou *et al.*, 2006 ; Sargeant *et al.*, 2010a). Il s'agit le plus souvent de l'analyse du niveau de transcription de quelques gènes isolés ou d'une analyse plus globale à l'échelle d'une partie du génome. Il n'y a pas de données disponibles sur une modification de la nature et des fonctions des cellules immunitaires de ces tissus.

3.3.2.1 Données établies *in vitro* (cellules épithéliales)

In vitro, dans un modèle de cellules Caco-2 exposées à une souche ETEC, le ZnO à la concentration de 0,2 mmol/L réduit l'expression des gènes codant pour des cytokines inflammatoires stimulées par l'exposition au ETEC (Roselli *et al.*, 2003).

En résumé, le traitement de la lignée intestinale porcine IPEC J2 avec du ZnO (doses comprises entre 0,05 et 1 mM) conduit à modifier l'expression de gènes de la réponse immunitaire innée, avec une augmentation de l'expression de *mt1*, *spp1* et *il8* aux plus faibles doses (0,05 et 0,1 mM) (Sargeant *et al.*, 2011). La plus faible expression observée avec des doses plus élevées pourrait correspondre à un effet toxique et à une diminution de la viabilité cellulaire par apoptose. Lorsque la même analyse a été réalisée après infection avec une souche entéropathogène ETEC F4+ avec une multiplicité d'infection (MOI) égale à 100, l'expression de *cxcl1*, *cxcl2*, *cxcl6*, *il6*, *il8* est significativement diminuée alors que celle de *tnfa* est augmentée. Ces données sont similaires à celles obtenues par Roselli sur la lignée Caco-2 (Roselli *et al.*, 2003).

La réduction de la réponse inflammatoire est probablement liée à une régulation de l'activité du facteur NFκB qui est peut être médiée par les protéines de la réponse au stress cellulaire, en particulier HSP70 dont l'expression est augmentée par ZnO.

3.3.2.2 Effet immunitaire au niveau systémique

Lors de l'analyse de l'expression des gènes dans le foie de porcelets consommant des rations avec des doses pharmacologiques de ZnO de 150 à 2000 mg/kg, les auteurs ont décrit une augmentation de l'expression des gènes codant les métallothionéines (Carlson *et al.*, 2007 ; Martinez *et al.*, 2004). Dans le foie, l'expression différentielle des gènes codant des molécules du métabolisme et du stress oxydatif a été détectée (Martinez-Montemayor *et al.*, 2008). L'augmentation de l'expression des gènes codant l'insulin-growth factor IGF-1 et son récepteur (IGF-1R) dont l'expression protéique est augmentée dans la muqueuse intestinale en réponse au ZnO alimentaire a été décrite (Martinez *et al.*, 2004). L'expression de IGF-1 dans le foie de ces porcelets n'est pas modifiée, mais Carlson a indiqué que la supplémentation avec 2500 mg/kg de ZnO augmentait la quantité de IGF-1 sérique (Carlson *et al.*, 2004b). Cette hormone est susceptible d'avoir une action sur les cellules du système immunitaire. Une augmentation de l'expression des métallothionéines a également été rapportée dans ces travaux.

3.3.2.3 Effets immunitaires en relation avec la muqueuse digestive

Dans l'étude de Sargeant (Sargeant *et al.*, 2010b), les auteurs ont examiné le profil d'expression de la muqueuse jéjunale et des plaques de Peyer chez des porcelets recevant du ZnO à une dose pharmacologique par rapport à ceux n'en recevant pas, selon qu'ils étaient nés en élevage plein air ou en porcherie. En outre, ces porcelets ont été soumis à une épreuve infectieuse trois jours après le sevrage. L'analyse a été réalisée à une seule date, soit sept jours après l'épreuve infectieuse. Alors que l'administration de ZnO a un effet marqué sur le gain moyen quotidien ($p < 0,01$), 21 gènes sont différemment exprimés entre les groupes ayant reçu ou non une ration contenant du ZnO. Deux types de fonctions sont représentés dans cette liste : les fonctions associées à l'absorption et au métabolisme du Znc et celles relatives à l'immunité innée. Un transporteur du Zn (*slc39a4*) est sous exprimé alors que trois composants de métallothionéines (*mt-1*, 2, 3) sont surexprimés chez les porcelets consommant la ration supplémentée. La grande majorité des gènes qui sont plus faiblement exprimés en réponse à la ration supplémentée appartient à la catégorie des gènes de l'immunité innée. Parmi ceux-là, on trouve des chémokines (*cxcl1*, *cxcl2*, *cxcl6*, *cxcl13*), des peptides anti-microbiens (*pi3* ou *elafin*, *bpi*, et *duox2*) et deux autres gènes (*pspd*, et *spp1* ou *osteopontin*). Une tendance à la moindre expression du gène de l'IL-8 a également été détectée par PCR quantitative chez les porcelets supplémentés, alors qu'aucune différence d'expression n'est rapportée pour *tlr4* et *tnf*. En outre, l'expression de *muc4*, récepteur fimbriaire, est moindre chez les porcelets supplémentés.

Il faut remarquer qu'il est difficile de conclure sur la réalité d'une modification de la réponse immunitaire proprement dite ou si ces variations d'expression sont la conséquence d'autres phénomènes tels que l'action directe du ZnO sur les germes présents dans la lumière. En outre, la source cellulaire de ces différences d'expression n'est pas identifiée, et l'interprétation peut varier selon qu'il s'agit des cellules épithéliales, habituellement considérées comme dépourvues de fonctions immunitaires, ou de cellules immunitaires spécialisées. Il faut noter qu'une diminution de l'expression du récepteur MUC4 pourrait conduire à une différence de l'interaction bactérie-cellule. En outre, l'expression de MUC4 est régulée par des facteurs immunitaires comme le TNFα (Moehle *et al.*, 2006) et l'IL-4/IL-13 (Damera *et al.*, 2006) dont l'expression a pu être modifiée par la supplémentation en Zn.

En outre, les différences d'expression de plusieurs autres gènes ont été détectées en fonction des conditions d'élevage des porcelets avant le sevrage. Ainsi, l'expression du gène *mt1* est plus élevée chez les porcelets nés en plein air, avec une interaction statistiquement significative entre les conditions d'élevage et la ration ($p < 0,01$).

En résumé, il ressort après analyse des données disponibles, que plusieurs hypothèses sont possibles concernant l'effet préventif et les mécanismes d'action du ZnO chez le porcelet en post-sevrage :

- une diminution de la réponse inflammatoire à la suite de l'infection par les colibacilles, qui peut passer par une diminution de l'activation de NFkB ;
- une stabilisation des membranes cellulaires grâce à l'activité anti-oxydante du Zn permettant une meilleure efficacité fonctionnelle des cellules de l'immunité innée, telles que les neutrophiles et les macrophages ;
- la promotion de la réponse de type Th1 avec une meilleure mobilisation de la réponse cellulaire et des anticorps fixant le complément, propice à éliminer une infection bactérienne.

Au vu de ces éléments, on peut penser que la supplémentation en ZnO a un effet bénéfique sur les fonctions immunitaires locales et systémiques chez le porcelet durant la période du post-sevrage immédiat, sans que la totalité des mécanismes puisse être identifiée et décrite avec précision.

3.4 ZnO et autres composants de la ration alimentaire

3.4.1 Impact sur la digestibilité d'autres composants de la ration : énergie, protéines, calcium et phosphore

Chez des porcelets recevant des aliments contenant 2500 à 3000 ppm de ZnO, certains auteurs ont observé une modification de la morphologie intestinale, avec une augmentation de la hauteur des villosités et une diminution de la profondeur des cryptes (Li *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2006b), et une augmentation de l'activité de certaines enzymes pancréatiques (Hedemann *et al.*, 2006). Ces modifications suggèrent une amélioration potentielle de leurs capacités digestives. Toutefois, Han et Thacker (Han et Thacker, 2009) n'ont observé aucun effet de l'introduction de 1500 ou 2500 ppm de ZnO dans un aliment pour porcelets sur la digestibilité de l'énergie, de la matière sèche, des protéines, du calcium ou du phosphore, en dépit d'un effet positif sur leur vitesse de croissance. Certains auteurs (Meyer *et al.*, 2002) ont même observé une diminution de la digestibilité de la matière sèche et de l'azote par rapport à un aliment témoin lorsque 2000 ou 3000 ppm de ZnO y étaient introduits (respectivement 92, 90 et 86% pour la matière sèche et 89, 86 et 82% pour l'azote, pour l'aliment témoin et les aliments contenant 2000 et 3000 ppm de ZnO).

3.4.2 Impact sur le métabolisme du cuivre et du fer

Des apports pharmacologiques de Zn induisent la production de métallothionéines, y compris dans la muqueuse intestinale, où elles contribuent à la limitation de l'absorption de Zn en le stockant temporairement avant son élimination par desquamation cellulaire (Carlson *et al.*, 1999 ; O'Dell, 1989). Les métallothionéines se lient préférentiellement au cuivre (Cu), cette synthèse pourrait conduire à une carence ou une subcarence en cuivre (O'Dell, 1989). Cette altération du statut en Cu pourrait conduire à une anémie hypochrome et microcytaire, liée à une diminution du nombre de globules rouges, de leur volume et de leur teneur en hémoglobine. Elle se traduirait par une diminution des teneurs en hémoglobine et en Fe du sang ainsi que de l'hématocrite. En effet, la céruloplasmine, globuline contenant huit atomes de Cu, représente plus de 90% du Cu circulant dans le plasma (Cousins, 1985). Synthétisée dans le foie, elle assure non seulement le transport du Cu vers les organes via le plasma sanguin, mais joue également un rôle dans l'érythropoïèse en assurant la catalyse de l'oxydation de Fe²⁺, tel qu'il est présent dans les hépatocytes, en Fe³⁺, préalable indispensable à son intégration dans la transferrine (Cousins, 1985).

Le statut en Fe est plus difficile à évaluer, compte tenu des incertitudes sur les concentrations alimentaires de cet élément. Toutefois, avec des aliments additionnés de 100 ppm de Fe, les concentrations hépatique, rénale (Han et Thacker, 2009) et plasmatique (Hill *et al.*, 2000) de Fe ne sont pas affectées par l'exposition des porcelets à des doses pharmacologiques de Zn.

3.4.3 Interaction avec les phytates et les phytases

Les phytates sont reconnus comme le principal antagoniste de la disponibilité du Zn chez les animaux monogastriques. Ces composés, principales sources de phosphore dans les matières premières d'origine végétale utilisées dans les aliments pour les animaux monogastriques (Pointillart, 1994), forment des complexes insolubles avec les cations divalents comme le Zn (Davies et Nightingale, 1975) et en limitent la disponibilité (Oberleas *et al.*, 1962 ; Oberleas *et al.*, 1966 ; Revy *et al.*, 2003). L'usage de phytases microbiennes permet une amélioration substantielle de la disponibilité du Zn chez le porcelet sevré, avec des équivalences atteignant 30 ppm de Zn sous forme de sulfate pour 500 FTU (Jondreville *et al.*, 2005). Une métaanalyse conduite par Schlegel (Schlegel *et al.*, 2012) indique cependant qu'à doses n'excédant pas les besoins des animaux (< 100 ppm), le Zn apporté sous forme de sulfate n'interagirait pas avec les phytates ou la phytase. Ainsi, seul le Zn présent dans les matières premières, majoritairement lié au phytates (Revy *et al.*, 2003 ; Rodrigues-Filho *et al.*, 2005), verrait sa disponibilité modifiée par ces composés. Au contraire, la disponibilité du Zn ajouté dans la ration, au moins sous forme de sulfate, serait indépendante de la teneur en phytates ou l'activité phytasique de l'aliment.

Certains auteurs se sont penchés sur la question de l'interaction entre l'activité phytasique de la ration et le ZnO apporté à doses pharmacologiques avec pour objectif d'évaluer la possibilité de réduire l'apport de Zn dans les aliments contenant de la phytase (Martinez *et al.*, 2004 ; Williams *et al.*, 2005).

Chez des porcelets sevrés à 18 ou 19 jours et recevant, pendant 20 jours, des aliments contenant 127 ppm de Zn additionnés de 0, 1000 ou 2000 ppm de ZnO, avec ou sans phytase ajoutée (0 vs 500 FTU), l'amélioration des performances de croissance et l'augmentation des concentrations plasmatiques et osseuses de Zn en réponse à la supplémentation en Zn étaient indépendantes de l'activité phytasique de l'aliment (Williams *et al.*, 2005). Cette observation est cohérente avec les résultats obtenus avec des apports alimentaires de Zn à des niveaux physiologiques. Dans l'étude menée par Martinez (Martinez *et al.*, 2004), les porcelets ont été sevrés à 18 jours et ont reçu pendant 14 jours des aliments contenant 150 ppm de Zn additionnés de 0, 1000 ou 2000 ppm de ZnO, avec ou sans phytase ajoutée (0 vs 500 FTU). Comme dans l'étude précédente, les teneurs en Zn plasmatique et rénal répondaient à l'apport alimentaire de Zn, sans interaction avec l'activité phytasique de l'aliment. Toutefois, la teneur en Zn du foie, de même que la synthèse de métallothionéines dans le foie et l'intestin étaient équivalentes avec l'aliment contenant 1000 ppm de Zn additionnés de phytase et avec l'aliment contenant 2000 ppm de ZnO. Or, l'effet bénéfique du ZnO sur les performances de croissance des porcelets pourrait être attribué à la synthèse de métallothionéines, qui constitueraient une protection contre les stress oxydants, notamment au sein de la muqueuse intestinale (Carlson *et al.*, 1999). Sur la base de cette théorie, Martinez (Martinez *et al.*, 2004) concluent que les apports de Zn peuvent être abaissés à 1000 ppm si les aliments contiennent de la phytase. Cependant, les performances des animaux ne sont pas rapportées dans cette étude.

L'interaction entre phytase et Zn ajouté à dose élevée a également été étudiée du point de vue de son impact sur la capacité de la phytase à libérer le phosphore phytique de la ration. Augspurger (Augspurger *et al.*, 2004) a alimenté pendant 21 jours des porcelets sevrés à 15 jours avec des aliments déficients en phosphore (3,2 g/kg) additionnés de doses croissantes de phytase (0, 500 ou 1000 FTU/kg) avec ou sans ZnO (0, 1500 ppm). En dépit de l'absence d'interaction significative entre les niveaux de Zn et de phytases alimentaires ($P > 0,1$) sur les cendres osseuses (Figure 3), les auteurs ont conclu à une détérioration de l'efficacité de la phytase pour libérer le phosphore phytique lorsque l'aliment contenait du Zn à dose élevée.

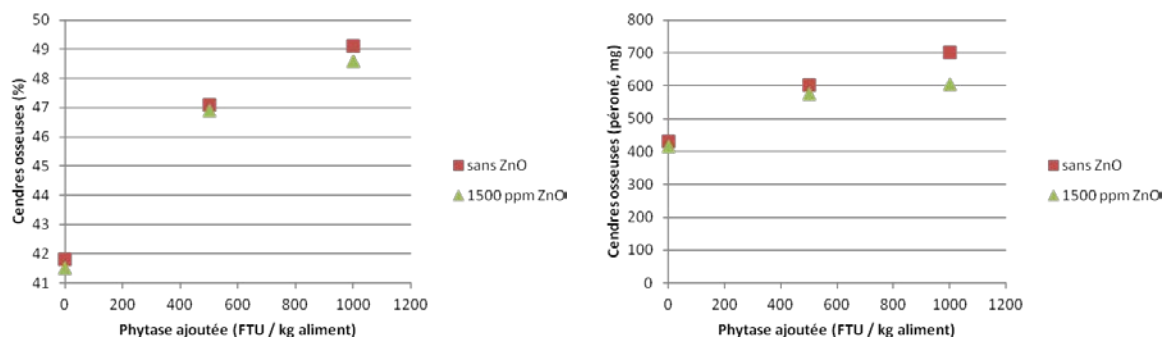


Figure 3 : Réponse des cendres osseuses à l'apport de phytase dans des aliments avec ou sans Zn à dose élevée

Chez des porcelets sevrés à l'âge de deux semaines (4,6 kg), Lizardo (Lizardo *et al.*, 2004) a observé une diminution drastique des performances de croissance et une diminution de la phosphorémie lorsque l'aliment, additionné de phytase microbienne, contenait 2700 ppm de Zn au lieu de 270. Ces auteurs attribuent cet effet négatif à une insolubilisation des phytates due à des apports importants de Zn et donc à une moindre libération de phosphore par la phytase. Cependant, les aliments contenaient des doses très faibles de phosphore et les animaux, sevrés très jeunes, présentaient vraisemblablement de faibles réserves minérales osseuses. Sur la base de ces études, il est difficile de conclure quant à l'interaction entre phytase et Zn ajouté à dose pharmacologique, qu'il s'agisse de la possibilité de réduction de l'apport de Zn ou de celui de la nécessaire augmentation de l'apport de phytase lorsque le Zn est apporté à dose pharmacologique. Des études complémentaires entre phytase et Zn ajouté à doses élevées sont nécessaires avant de statuer sur cette question.

Le ZnO apporté à doses élevées, ne modifie pas la digestibilité des macroconstituants de la ration. Si les aliments sont suffisamment supplémentés en cuivre (10 mg/kg) et en fer (100 mg/kg), la cuprémie est inchangée et aucun signe d'anémie n'apparaît lors d'apport de Zn élevé. Les études concernant les interactions entre l'apport de ZnO à dose élevée, les phytates et les phytases montrent un possible effet positif de la phytase sur la disponibilité du Zn, et inversement, suggèrent un possible effet négatif du Zn sur l'efficacité de la phytase pour libérer le phosphore. Ces éléments doivent faire l'objet d'autres études avant d'être confirmés.

4 Analyse des bénéfices et des risques liés à l'utilisation du ZnO en tant que médicament

4.1 Bénéfices

L'évaluation du rapport bénéfice-risque du médicament est à la base de toute décision en matière d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). La nature des données à fournir dans un dossier de demande d'AMM est décrite par la directive 2009/9 modifiant l'annexe I de la directive 2001/82/EC.

4.1.1 Qualité des prémélanges médicamenteux à base de ZnO

Les prémélanges à base de ZnO, déjà autorisés dans des pays européens pour lesquels des informations publiques sont disponibles sous forme de rapports publics d'évaluation, sont composés à 100% de ZnO, sans ajout d'excipient. D'autres AMM existent toutefois en Europe où le produit fini comporte des excipients. Ils sont présentés en sac de 25kg. Les sacs sont composés de plusieurs couches de matériaux, à base de papier et de polyéthylène.

La formule chimique de l'oxyde de Zn est ZnO et son poids moléculaire de 81,41g. Son numéro CAS est le 1314-13-2. L'atome de Zn représente 80,3% du poids total de la molécule de ZnO. Ce composé se présente sous la forme d'une poudre amorphe, lisse, de couleur blanche à jaunâtre. A ce jour, le ZnO présente une large gamme d'utilisation, principalement dans l'industrie du caoutchouc et des pneumatiques (afin de diminuer le temps de vulcanisation), le verre et les céramiques. Il est également utilisé dans l'industrie cosmétique dans le maquillage et les crèmes solaires.

Le Zn étant un oligo-élément essentiel, le ZnO est aussi utilisé en alimentation animale (Commission européenne, 2012) afin de satisfaire les besoins en Zn de l'animal. Il est également utilisé comme principe actif en santé humaine pour des médicaments à usage topique. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour la synthèse de ZnO, les deux plus importantes à l'échelle industrielle étant des méthodes pyrométallurgiques, la méthode directe ou la méthode indirecte :

- ✓ Méthode directe (ou méthode française) : du Zn métallique de grande pureté est porté à ébullition pour être vaporisé ($T^{\circ} > 907^{\circ}\text{C}$), puis oxydé dans de l'air chaud. Les particules de ZnO ainsi formées sont ensuite aspirées et triées selon leur taille.
- ✓ Méthode indirecte (ou méthode américaine) : des minerais contenant du Zn (sous forme de sulfures, silicates et carbonates) sont chauffés à hautes températures en présence de chaux ou de charbon. Les vapeurs de Zn ainsi formées sont ensuite oxydées hors du four par de l'air chaud (O_2 ou CO_2), comme dans le procédé direct. Les particules ZnO sont ensuite récoltées et triées.

La méthode française permet d'obtenir du ZnO de plus grande pureté que la méthode américaine (présence d'impuretés du charbon), notamment si le Zn métal utilisé comme matière première est très pur (>99%). La taille des particules obtenue par ces deux procédés est généralement de l'ordre du micromètre (μm).

Des techniques plus récentes existent, afin d'obtenir des particules de ZnO plus petites, des nanoparticules. Ces techniques comprennent le dépôt chimique en phase vapeur, des méthodes sol-gel, des méthodes de précipitation ou de synthèse par voie organométallique. Le point de départ de ces synthèses est l'utilisation de précurseurs à base de Zn (hydroxyde de Zn, sulfate de Zn, nitrates de Zn, etc.) en solution.

Le ZnO possède une monographie à la Pharmacopée européenne, référencée sous le numéro n°0252. La dernière mise à jour de ce texte date de 2008 (VROM, 2008). Les exigences de la Pharmacopée sont la pureté du ZnO qui doit être de 99% au minimum, et les métaux qui doivent être présents à l'état de traces :

- ✓ Fer : ≤ 200 ppm ;
- ✓ Arsenic ≤ 5 ppm ;
- ✓ Cadmium ≤ 10 ppm ;
- ✓ Plomb ≤ 50 ppm.

Les éventuelles impuretés inorganiques (carbonates, substances soluble et insolubles dans l'acide), sont également limitées par comparaison avec des solutions témoins (test limite). Les éventuelles impuretés organiques sont limitées à 1,0% en masse. La pharmacopée n'impose rien sur la taille des particules. C'est une exigence que l'on peut par contre avoir sur le produit fini.

Pour comparaison, les teneurs maximales en métaux lourds pour le ZnO utilisé comme additif dans l'alimentation animale (Règlement (UE) n°574/2011 de la Commission du 16 juin 2011) sont les suivantes :

- ✓ Fer : pas de teneur maximale ;
- ✓ Arsenic : < 100 ppm ;
- ✓ Cadmium : < 30 ppm ;
- ✓ Plomb : < 400 ppm.

Le ZnO est un composé très stable, peu réactif, qui se conserve longtemps sans précaution particulière. Il n'est pas sensible à l'humidité, ni à la chaleur et ne favorise pas la croissance microbienne. Comme indiqué précédemment, le ZnO est principalement fabriqué à partir de Zn métallique de haute pureté, ce qui permet de limiter la teneur en impuretés dans le ZnO ainsi produit. La synthèse se faisant à haute température, la présence d'impuretés organiques ou de contamination microbienne est nulle. Les spécifications du principe actif du ZnO sont au minimum identiques à celles définies dans la pharmacopée européenne. Le procédé de fabrication du prémélange à 100% consiste généralement à une homogénéisation de la poudre de ZnO reçue, et à son conditionnement en sac. Dans ce cas, les spécifications du prémélange sont similaires à celles du principe actif, avec des tests additionnels spécifiques du produit fini conditionné : masse de remplissage des sacs, contrôle de la contamination microbienne, densité réelle de la poudre et étanchéité du conditionnement. Le ZnO étant stable, le prémélange peut se conserver sans altération de 2 ans à 3 ans avant ouverture du sac. Des études ont été faites après incorporation de l'oxyde de Zn dans l'aliment à un taux de 0,31%. L'homogénéité du ZnO dans l'aliment sous forme de farine ou de granulé est satisfaisante et il n'y a pas de dégradation après 3 mois de stockage à 25°C.

Le ZnO étant décrit dans la Pharmacopée européenne actuellement en vigueur, son utilisation dans un médicament ne pose aucun problème particulier : sa pureté et sa teneur en impuretés organiques et inorganiques sont encadrées. Le mode de fabrication du ZnO, à très haute température ($>1000^{\circ}\text{C}$) à partir de Zn métallique de haute pureté, permet de limiter la présence d'impuretés. Lorsque les prémélanges autorisés dans l'Union européenne contiennent comme seul composé le ZnO, les critères de pureté du prémélange médicamenteux sont aussi stricts que ceux de la substance active, avec quelques tests spécifiques de la forme pharmaceutique. Le ZnO est un composé inorganique stable et peu réactif, il peut se conserver longtemps (3 ans), sans précaution particulière. De plus, aucune dégradation n'est mise en évidence jusqu'à 3 mois après son incorporation dans les aliments pour animaux. Les données présentées pour la partie qualité sont identiques à celles habituellement fournies pour tout médicament.

4.1.2 Efficacité du ZnO à doses élevées chez le porcelet au sevrage

L'efficacité d'un médicament vétérinaire doit être établie sur la base d'un ensemble de données comprenant :

- ✓ Des éléments de pharmacologie et de pharmacocinétique qui permettent de comprendre le mécanisme d'action, d'une part, et l'adéquation entre l'activité observée de la molécule et le siège de la maladie, d'autre part ;
- ✓ Des études préliminaires sur l'espèce cible (expérimentales ou de terrain) réalisées à différents dosages en vue de déterminer la dose optimale, complétées par des études de confirmation de dose ;
- ✓ Des études de terrain comparatives et multicentriques sur des grands effectifs d'animaux permettant de démontrer que les résultats précédemment obtenus dans un cadre expérimental sont extrapolables sur le terrain à la population cible. Ces études doivent pouvoir permettre de confirmer l'efficacité et de qualifier l'indication. Ils permettent également de préciser des contre-indications et des effets secondaires éventuels qui seront mentionnés dans le Résumé des Caractéristiques du Produit ;
- ✓ Pour démontrer l'efficacité d'un médicament en situation de prévention, il est nécessaire d'inclure un groupe témoin non traité. Ainsi, les essais de non-infériorité vis à vis d'un autre prémélange à base de ZnO, en situation de prévention, et sans groupe témoin non traité, ne sont pas retenus dans l'analyse car jugés non démonstratifs.

Données bibliographiques

Dans une étude (Poulsen et Larsen, 1995) sur 216 porcelets issus de 36 portées et sevrés à 28 jours, des porcelets répartis en 6 groupes ont été traités respectivement avec 0, 100, 200, 1000, 2500 et 4000 ppm de ZnO. Lorsque de la diarrhée est observée, elle commence 5 à 6 jours après le sevrage et est notée uniquement dans les deux semaines du post sevrage. Les animaux traités une semaine sont comparés à ceux traités 2 et 3 semaines (résultats poolés). Lorsque le traitement ne dure qu'une semaine, Poulsen n'observe pas de différence entre les groupes. Des effets significatifs du traitement ($p < 0,01$) sur la réduction de la diarrhée sont observés à partir de 2500 ppm pendant 2/3 semaines, mais l'auteur n'observe pas de différence significative entre 2500 et 4000 ppm. Sur les performances de croissance, ce sont les porcelets du groupe ayant reçu 2500 ppm qui ont la meilleure croissance alors qu'elle baisse dans le groupe recevant 4000 ppm. En conclusion de cette étude réalisée sur un grand nombre d'animaux, 2500 ppm de ZnO ressort comme une dose optimale lorsque le traitement est administré 2 ou 3 semaines, mais il est impossible de définir si la troisième semaine de traitement est nécessaire.

Un autre auteur recommande de ne pas dépasser deux semaines de traitement, mais l'étude est réalisée sur un faible nombre de porcelets (5/groupe) sevrés tardivement à 35 jours (Katouli *et al.*, 1999).

Dans une autre étude (Ou *et al.*, 2006) sur 32 porcelets sevrés à 28 jours, l'auteur a comparé un groupe traité à 100 ppm de ZnO à un groupe traité à 3000 ppm et a observé une très nette différence sur l'apparition des diarrhées (12/16 porcelets dans le groupe à 100 ppm entre 6 et 10 jours post-sevrage *versus* 1/16 dans le groupe traité à 3000 ppm).

Un essai montrant l'interaction entre le ZnO et les fibres de la ration sur des porcelets sevrés à 21 jours, confirme que 3000 ppm de ZnO pendant 12 jours réduit significativement la diarrhée avec 7/16 porcelets en diarrhée dans le groupe traité à 3000 ppm *versus* 14/16 dans le groupe non traité (Molist *et al.*, 2011).

Dans un modèle d'infection expérimentale sur 32 porcelets sevrés à 4 semaines, l'effet de 3100 ppm de ZnO a été étudié pendant 10 jours selon que les porcelets étaient élevés à l'intérieur ou à l'extérieur. L'aliment médicamenteux était donné dès le premier jour du sevrage (Slade *et al.*, 2011). A 3 jours post sevrage, les porcelets ont reçu un challenge *per os* de 10^9 CFU ETEC (*E. coli* O149) et ont été euthanasiés à 10 jours post sevrage. L'auteur observe que le traitement avec

le ZnO et l'élevage en extérieur réduisent l'excrétion d'ETEC, et ces effets sont additifs. Après challenge, les porcelets traités à 3100 ppm de ZnO mangent plus (278 vs 230 g/jour), ont un meilleur GMQ (312 vs 203 g/j) et ont un meilleur IC (0,81 vs 1,15). Par contre, de 24 h à 7 jours post challenge, il n'y a pas de différence sur les scores fécaux entre les traitements, uniquement une tendance à la réduction du score fécal (selles plus fermes) dans le lot traité à 3100 ppm de ZnO.

La littérature fait également état de nombreuses autres études comparant différentes doses de ZnO en dehors de tout contexte de diarrhée, en particulier :

- Sur 615 porcs (âge moyen au sevrage : 20,6 jours, poids moyen au sevrage : 6,3 kg), Hollis a comparé l'efficacité du ZnO (0 ou 2500 ppm) et sous forme méthionine (125, 250 et 500 ppm) et a montré l'intérêt de la dose de 2500 ppm de ZnO sur les performances de croissance. Il conclut que 2500 ppm de ZnO est plus efficace sur les performances de croissance que 500 ppm de Zn méthionine (Hollis *et al.*, 2005) ;
- Hill a testé 0, 500, 1000, 2000 ou 3000 ppm ZnO sur 1060 porcs (7 stations) pendant 28 jours post sevrage. L'aliment médicamenteux était également supplémenté en Chlortétracycline. L'auteur a réalisé une analyse séparée selon l'âge au sevrage des porcelets (avant 15 jours, après 21 jours). Sur les porcelets sevrés après 21 jours et sur la période de 28 jours post sevrage, les GMQ, la consommation alimentaire et l'IC augmentent respectivement de 10,5 et 5% chez les porcs traités à 2000 ppm par rapport à ceux recevant un aliment « basal » à 295 ppm. Hill constate un effet plateau entre 1500 et à 2000 ppm, et pas de bénéfice sur les performances au delà de 2000 ppm, que ce soit sur le sevrage à 15 jours ou à 21 jours (Hill *et al.*, 2001).

Selon la littérature, la dose permettant de prévenir les diarrhées semble se situer entre 2000 et 3000 ppm de ZnO. L'effet sur les performances de croissance est observé à partir de 2000 ppm. Concernant la durée de traitement, il y a peu de références dans la littérature pour justifier une durée de traitement optimale. Dans les dossiers de demande d'AMM pour lesquels des informations sont disponibles, les titulaires d'AMM se sont appuyés sur la littérature pour justifier le choix du protocole thérapeutique et n'ont pas réalisé de nouvelles études de détermination de dose.

Etudes de terrains

Une étude espagnole a été réalisée dans une ferme sur 600 porcelets de 21 jours, randomisée en deux groupes : un groupe traité avec un prémélange 100% de ZnO à raison de 3100 ppm dans l'aliment pendant 14 jours et un groupe non traité. Les paramètres retenus sont le poids vif à 0 jour et à 14 jours, la consommation alimentaire et le pourcentage de porcelets en diarrhée par jour. Une différence significative sur les performances zootechniques est observée en faveur du groupe traité. Sur la diarrhée, il n'y a pas de différence entre les groupes jusqu'à J3, ensuite la différence est en faveur du groupe traité. A la fin de l'étude, il y a 42% d'animaux diarrhéiques dans le lot traité versus 1% dans le groupe ZnO (Agence_Espagnole, 2012).

Dans une autre étude comparative sur 115 porcelets sevrés traités à 3100 ppm de ZnO pendant 14 jours (le premier jour étant celui du sevrage), les auteurs ont suivi les performances individuelles, ainsi que la consistance et la couleur des selles des porcelets. Le traitement montre une efficacité dans la prévention des diarrhées de post sevrage en réduisant le pourcentage de porcelets atteints de diarrhée (effet sur la consistance et la couleur des selles), mais cela ne se traduit pas sur les performances zootechniques, ni sur la consommation alimentaire, ni sur le gain de poids. Les différences significatives sur la morbidité sont surtout notées la première semaine de traitement (Agence_Espagnole, 2012).

L'aliment médicamenteux contenant du ZnO est toujours administré, dans les études publiées, avant la survenue des diarrhées, il s'agit donc clairement de « prévention » des diarrhées chez le porcelet en début de post-sevrage, et non de traitement des diarrhées.

Les études retenues ont été réalisées en comparaison d'un groupe non traité. Ces études montrent globalement une réduction du nombre de porcelets atteints de diarrhée et une amélioration de la consistance des fèces.

Il n'est pas possible d'extrapoler l'efficacité du prémélange de ZnO utilisé à fortes doses sur des formes graves avec mortalité et/ou sur la maladie de l'œdème et/ou sur des formes hémorragiques car la symptomatologie rencontrée dans les essais est toujours celle de maladies d'intensité modérée, sans mortalité.

Les données cliniques ne paraissent pas suffisantes pour cibler précisément l'indication sur les diarrhées colibacillaires, et ceci est cohérent avec le mode d'action peu spécifique du ZnO.

Ces essais ne permettent pas de valider la durée de 14 jours comme une durée optimale de traitement, une durée de traitement plus courte (entre 7 et 14 jours) n'ayant pas été testée. La dose utilisée dans les études terrain est toujours de 3100 ppm de ZnO. D'après la littérature, une dose inférieure (2500 ppm de ZnO) pourrait être suffisante.

Ce type d'essai permet de qualifier l'efficacité intrinsèque d'une spécialité mais ne permet pas de situer celle du ZnO par rapport aux médicaments ayant déjà l'AMM chez le porc, qu'il s'agisse d'anti-diarrhéiques (aluminal, kaopectate) ou bien d'anti-infectieux (colistine). Il est donc impossible de dire comment l'efficacité du ZnO se situe par rapport à celle de la colistine.

En l'absence d'essais cliniques comparant le ZnO et la colistine, il n'est pas possible de dire si le ZnO permettrait de remplacer la colistine ou bien si le ZnO sera un traitement associé à la colistine.

4.1.3 Autres bénéfiques

4.1.3.1 Alternative aux antibiotiques

4.1.3.1.1 *Usage de la colistine*

En Belgique, chez le porc, l'antibiotique le plus souvent administré par voie orale est la colistine (30,7%), Elle est donnée en cas de diarrhées post sevrage ou de maladie de l'œdème (Callens *et al.*, 2012).

De même, en Espagne, une enquête effectuée en 2001-2003 dans les élevages de porcs montre que l'antibiotique le plus souvent utilisé est la colistine ; c'est aussi l'antibiotique le plus souvent administré en cas de maladies digestives (Casal *et al.*, 2007).

En France, une enquête réalisée en 2000 montrait déjà la fréquence des traitements par colistine dans les élevages de porcs. En 2008, une nouvelle étude auprès de 83 élevages naisseurs–engraisseurs a permis d'évaluer la part relative des polypeptides (dont colistine) par rapport aux autres antibiotiques acquis et leur destination (Figure 4 et Figure 5 tirées du rapport indiqué en référence). 95% et 93% des élevages étaient acquéreurs de polypeptides ou de polypeptides destinés à la voie orale respectivement. 90% des élevages avaient acquis la colistine pour une administration en post-sevrage, 48% pour une administration en maternité ou aux truies et 19% pour des animaux en engraissement (Chauvin *et al.*, 2002 ; Chauvin, 2010).

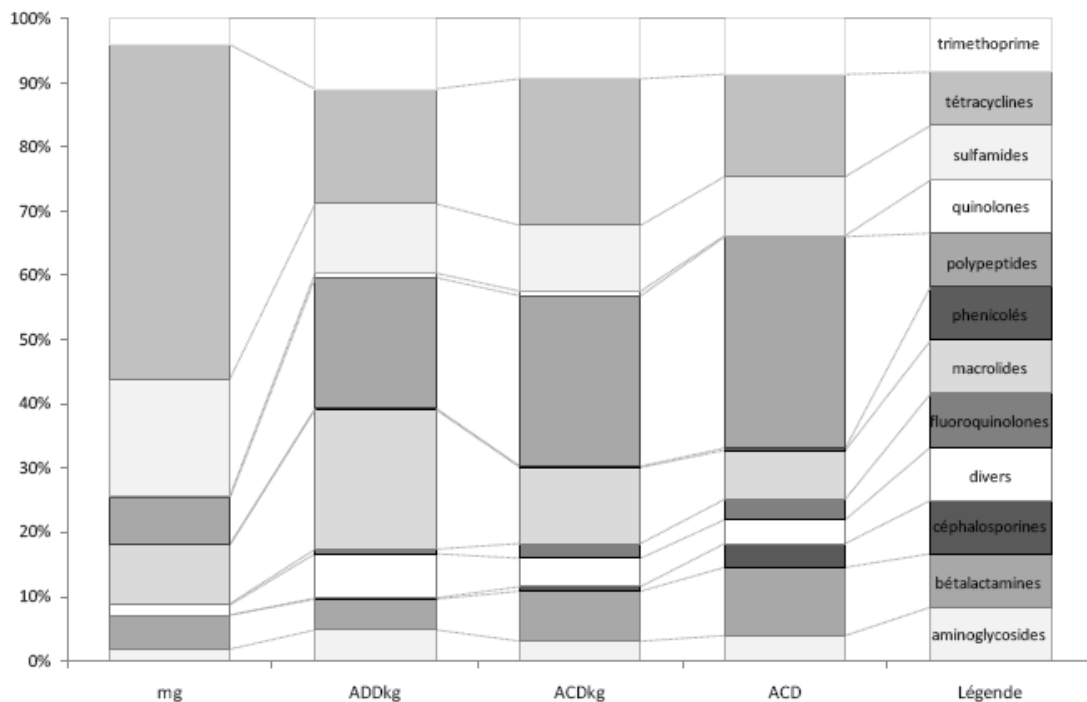


Figure 4 : Part relative des différentes familles antibiotiques dans les acquisitions recensées d'antibiotiques, selon les modalités de quantification et de l'indicateur utilisé (83 élevages naisseurs-engraisseurs, 2008)

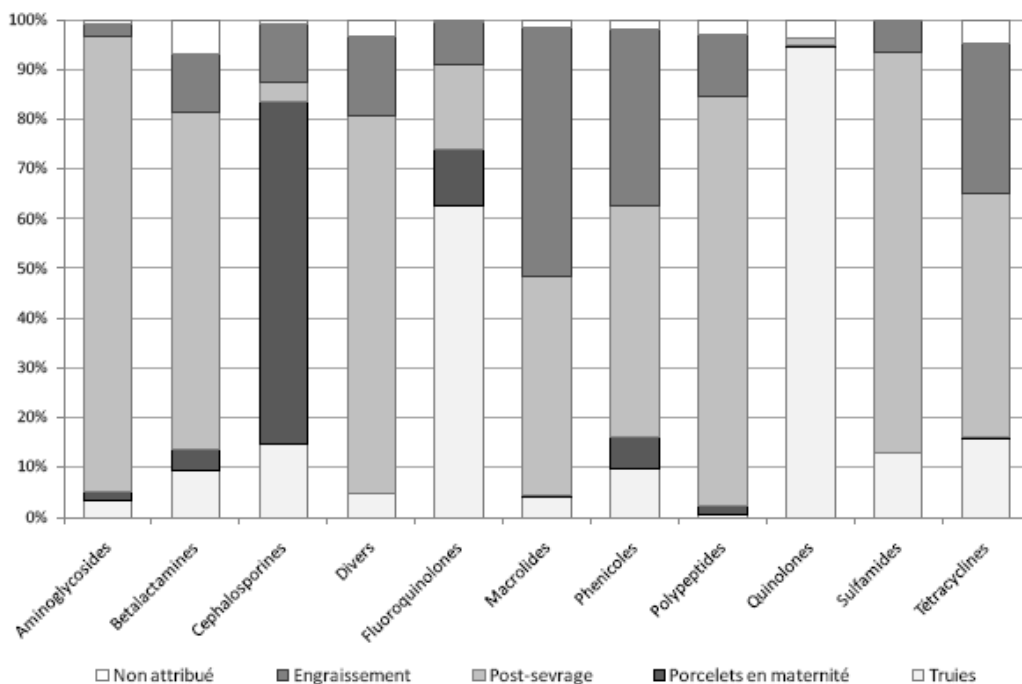


Figure 5: Part relative des différentes catégories d'animaux dans les acquisitions des différentes familles antibiotiques exprimées en ADDKg (83 élevages naisseurs-engraisseurs, 2008)

4.1.3.1.2 Résistance à la colistine

La résistance des souches d'*E. coli* d'origine animale ou humaine vis-à-vis de la colistine a été relativement peu étudiée, sans doute du fait du manque de fiabilité des tests de diffusion en gélose, lié à la mauvaise diffusion de cet antibiotique dans la gélose (Boyen *et al.*, 2010 ; Tan et

Ng, 2006 ; Tan et Ng, 2007). Les méthodes par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont donc préférables. Le seuil utilisé est le plus souvent de 2 mg/L (EUCAST).

Les résultats obtenus dans la littérature sont présentés dans le Tableau 4. En Europe, les taux de résistance observés sur les *E. coli* digestifs d'animaux sains sont inférieurs à 1%, lorsque la sensibilité est évaluée par détermination des CMI. Chez les souches de porcs malades, le pourcentage est supérieur (3% en Croatie, 9,6% en Belgique) (Boyen *et al.*, 2010 ; Habrun *et al.*, 2011). En Asie, des pourcentages plus élevés sont enregistrés pour les souches d'animaux sains (3% en Corée) (Byun *et al.*, 2012), et surtout sur des porcs présentant de la diarrhée (plus de 30% au Japon ou en Chine) (Harada *et al.*, 2005 ; Lu *et al.*, 2010).

Une vaste enquête concernant plus de 40000 bacilles à Gram négatif (Gales *et al.*, 2011) rapporte qu'il n'y a pas d'augmentation de la résistance vis-à-vis de la colistine parmi les souches humaines d'*E. Coli* ou de *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour les souches de *Salmonella*, les taux de résistance semblent différents selon les sérotypes. Ainsi *Salmonella* Dublin et *Salmonella* Enteritidis, appartenant toutes deux au sérotype O:9 (ou D1) - (O:1, 9,12) paraissent moins sensibles que les autres sérotypes (Agero *et al.*, 2012b).

Tableau 4 : Taux de résistance de souches d'*E. coli* vis-à-vis de la colistine

Référence	Résultats : pays, origine des souches, pourcentage de résistance	Méthode et seuils
Données Resapath	France	
(Belloc <i>et al.</i> , 2008)	France- Matières fécales de porcs, analyse par diffusion puis confirmation par CMI quand diamètre inférieur ou égal à 14mm 23 sur 4333 souches (0,5%) sont résistantes (CMI de 4 à 16)	Diffusion puis CMI
(De Jong <i>et al.</i> , 2012b)	Europe 1543 <i>E. coli</i> de porcs à l'abattoir 2002-2006, DK, Fr, Ge, NL, Sp : 0,4%	CMI, CLSI clinical BP
(De Jong <i>et al.</i> , 2012b)	Europe 1396 <i>E. coli</i> de bovins à l'abattoir Fr, Ge, Ir, I, UK : <0,1%	CMI, CLSI clinical BP
(De Jong <i>et al.</i> , 2009)	Europe 494 <i>E. coli</i> de porcs isolées en 2002-2003 (FR, GE, DK, NL, ES) : 0,4% de souches résistantes (souches ES)	Agar dilution CLSI Seuil R >ou = 4
(De jong <i>et al.</i> , 2012a)	Europe 502 souches bovines 0 % 520 souches porcines : 0,2% (correspondent aux souches espagnoles) 518 souches de poulets : 0%	CMI, seuil R >ou = 4
Rapport SVARM 2010	Suède 181 <i>E. coli</i> de poulets et 272 <i>E. coli</i> de chevaux testés : 0%	CMI, EUCAST
Rapport DANMAP 2009	Danemark 224 <i>E. coli</i> de porc 150 <i>E. coli</i> de viande de porc : 0% (mais 3,6% sur <i>E. coli</i> de poulets importés)	CMI, EUCAST
(NORM/NORM-VET, 2012)	Rapport NORMVET 2011 192 <i>E. coli</i> de porcs et 208 <i>E. coli</i> poulets : 0 %	
(Boyen <i>et al.</i> , 2010)	Belgique <i>E. coli</i> de porcs maladies : 15/157 (9.6%)	CMI agar, seuil à 2
(Callens <i>et al.</i> , 2012)	Belgique Poulets : 2/420 Porcs : 1/157 Vache : 1/154 Veaux : 5/34 (consomment souvent colistine) Colistine associée à MDR dans tous les groupes d'animaux	CMI seuil à 2 mg/l
(Habrun <i>et al.</i> , 2011)	Croatie 114 souches d' <i>E. coli</i> de porcelets morts de diarrhées : 3%R	Etest
(Hollzel <i>et al.</i> , 2010)	Allemagne Lisier de porc : 1,6% souches R Effluent : 0% souches R	CMI
(Enne <i>et al.</i> , 2008)	Grande Bretagne, à l'abattoir Fort taux de résistance chez le porc 34,1% sur 2480 isolats, alors que	Disk diffusion

	0 ou 0,2% chez bovins ou mouton (836 isolats pour chaque)	
(Walkty <i>et al.</i> , 2009)	Canada, Hôpitaux canadiens 3,480 de bacilles Gram négatif : 99,4% de 1732 <i>E. coli</i> ont CMI inférieure ou égale à 2	CMI liquide
(Kijima-Tanaka <i>et al.</i> , 2003)	Japon Abattoir, animaux sains Bovins : 3,1% (sur 356) Porcs : 0,8% sur 358 Poulets : 2,3% sur 304	Agar dilution Seuil 1.56 mg/l
(Harada <i>et al.</i> , 2005)	Japon, animaux maladies Bovins : 12% (n = 57) Porcs : 35,6% (n= 118) Parmi les souches de porcs malades, Pour 61STEC : plus de 60% de résistance Pour 57 non-STEC : moins de 10% de résistance (différence significative qui n'existe pas avec les souches de bovins) Les auteurs mentionnent que la colistine est très utilisée (first choice) pour le traitement des affections digestives mais également comme facteur de croissance	Agar dilution Seuil à 2mg/L
(Han <i>et al.</i> , 2002)	Corée Pour les souches isolées de porcs diarrhéiques, la CMI90 est 4 mg/L. Pour les souches isolées de porcs sevrés, la CMI90 est 2 mg/L.	Agar dilution
(Byun <i>et al.</i> , 2012)	Corée Porcelets avec diarrhée : 11,3% souches R Porcelets sains : 3% souches R Porcs sous la mère (nursery piglets) : 15,2% R	Diffusion
(Lu <i>et al.</i> , 2010)	Chine, matières fécales bovins laitiers (n = 60) : 11,7% porcs (n = 60) : 33,3% poulets (n = 62) : 12,9%	CMI microdilution
(Gales <i>et al.</i> , 2011)	Monde Isolats cliniques humains 17035 <i>E. coli</i> (souchier 2006-2009 mondial) :0,2%	Microdilution, EUCAST
(Wasył <i>et al.</i> , 2012)	Pologne 6337 Salmonella : 14,9% (dépend du sérotype) 2934 <i>E. coli</i> 1,1%	CMI EUCAST
(Agero <i>et al.</i> , 2012b)	Résistance chez <i>Salmonella</i> dépend du sérotype	

En France, le réseau Résapath assure la surveillance de l'antibiorésistance des bactéries isolées au cours d'infections animales grâce aux antibiogrammes réalisés en routine par les laboratoires d'analyses vétérinaires adhérant au réseau. Les données d'antibiorésistance relatives aux souches d'origine porcine sont ainsi disponibles depuis 2003. La Figure 6 représente l'évolution du pourcentage de souches d'*E. coli* catégorisées résistantes à la colistine par la méthode de diffusion en gélose, c'est-à-dire présentant un diamètre d'inhibition inférieur à 15 mm. Il est toutefois possible qu'une partie des souches donnant un diamètre de zone d'inhibition inférieur à 17 mm, et donc classées ici sensibles, présentent en fait des CMI supérieures à 2 mg/L, correspondant donc à des souches résistantes. Le pourcentage de souches résistantes est donc vraisemblablement sous-estimé, mais avec un biais identique au cours des années. Ce pourcentage a dépassé les 5% depuis 2009 pour les souches isolées de porcelets, mais reste inférieur à 1% pour les souches isolées de truies.

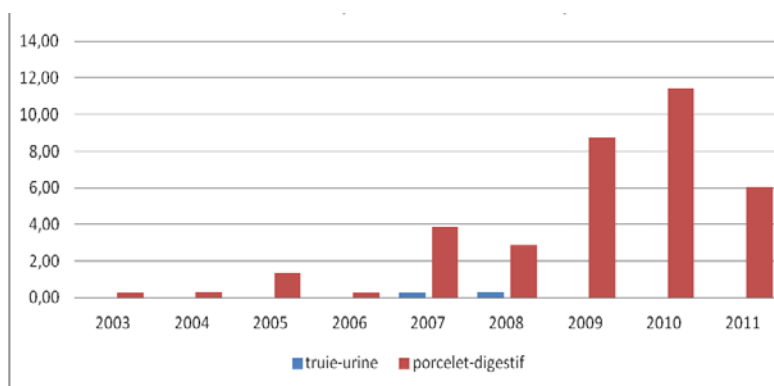


Figure 6 : Pourcentage de souches d'*E.coli* résistantes à la colistine détectées dans le Resapath

4.1.3.1.3 Mécanismes de résistance vis-à-vis de la colistine

La colistine est un décapeptide cationique, composé d'un cycle de sept acides aminés et d'une chaîne de trois acides aminés, elle-même liée à une chaîne d'acide gras

Les polymyxines sont actives vis-à-vis de bactéries à gram négatif, incluant *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* et d'autres entérobactéries, mais certains genres ou espèces telles que *Providencia* spp, *Neisseria* spp, *Proteus* spp, *Serratia marcescens* et *Burkholderia cepacia* sont intrinsèquement résistantes, de même que les bactéries à gram positif et les anaérobies (Falagas *et al.*, 2010).

La colistine déplace les ions Calcium (Ca^{++}) et Magnésium (Mg^{++}) qui stabilisent habituellement les lipopolysaccharides (LPS) de la paroi des bactéries, chargée négativement, et se lie par des interactions électrostatiques aux lipides A des LPS, ce qui conduit à une désorganisation de la membrane externe, qui facilite encore d'avantage l'accès de la colistine dans la bactérie, vers la membrane cytoplasmique. Il s'ensuit une augmentation de la perméabilité et une fuite des composants bactériens entraînant la mort bactérienne. Cependant ce mécanisme d'altération de la perméabilité membranaire ne se produit que pour des fortes concentrations de l'ordre de plusieurs fois la CMI (Clausell *et al.*, 2003). Pour des valeurs avoisinant la CMI, la colistine agit également sur la membrane bactérienne mais par un mécanisme différent, probablement par perturbation des phospholipides membranaires entourant l'espace périplasmique.

De plus, la colistine aurait une puissante activité anti endotoxine en se liant et en neutralisant les LPS, mais il n'est pas certain que cette activité soit effective *in vivo* (Falagas et Kasiakou, 2005).

Les bactéries Gram négatif peuvent devenir résistantes aux polypeptides, qu'ils soient produits par l'hôte ou médicamenteux, le plus souvent en modifiant leur membrane externe, en particulier les LPS. La modification du lipide A des LPS entraîne une réduction des charges négatives de surface et réduit l'affinité des polymyxines pour la membrane. La modification du lipide A consiste en l'addition du 4 -amino-4-deoxy L- arabinose (L-Ara4N) à un groupement phosphate du lipide A. Chez *Salmonella enterica* Typhimurium, les mutants résistants aux polymyxines présentent un plus fort taux de substitution des groupements phosphate du lipide A des LPS par le L-Ara4N.

Deux systèmes à deux composants (PmrA/PmrB et PhoP/PhoQ) régulent la synthèse de L-Ara4N. Des mutations décrites dans PmrA chez *S. Typhimurium*, et résultant en une expression constitutive de la protéine PmrA, entraînent une résistance aux polymyxines et à d'autres peptides antimicrobiens (Groisman *et al.*, 1997). Par ailleurs, *E. coli* possède une tyrosine -kinase Etk, capable de phosphoryler l'UDP-Glucose, en particulier dans des conditions de faible pH ou de faibles concentrations d'ions magnésium ; cette phosphorylation participe à la résistance aux polymyxines et un mutant délété du gène *Etk* est beaucoup moins résistant aux polymyxines (Lacour *et al.*, 2008).

Chez *Yersinia*, d'autres mécanismes de résistance mettent en jeu une pompe d'efflux expulsant le polypeptide et comprenant les protéines RosA et RosB (Bengoechea et Skurnik, 2000). La production de colistinase a été rapportée chez des souches de *Bacillus polymyxa*. Chez *Klebsiella pneumoniae*, l'augmentation de la production de polysaccharides capsulaires permet à la bactérie

de se protéger de l'action des polymyxines ou d'autres peptides antimicrobiens (Campos *et al.*, 2004). La transcription du gène en cause (*cps*) augmente en réponse à la présence de polymyxine ou de lactoferrine, cette dernière étant présente à la surface de l'appareil respiratoire. Chez *P. aeruginosa*, la surexpression de la protéine de membrane externe OprH observée lors d'adaptation des souches à un milieu pauvre en Mg^{++} ou chez certains mutants, s'accompagne d'une augmentation de la résistance aux polymyxines, ainsi qu'à la gentamicine.

Ainsi les mécanismes actuellement connus de résistance à la colistine sont chromosomiques et consistent essentiellement en une modification de la membrane externe des bactéries.

4.1.3.1.4 Impact de la colistine sur la physiologie des STEC

La croissance de la souche d'*E. coli* n'est pas inhibée à une fois la CMI, mais à 50 fois la CMI, il n'est plus possible de détecter de croissance bactérienne. A 50 fois la CMI, la colistine permet de réduire la production de toxine par *E. coli*, mais pas à la dose de 1 x CMI (Uemura *et al.*, 2003 ; Uemura *et al.*, 2004).

4.1.3.1.5 Données RESAPATH sur la résistance des *E. coli*

Comme indiqué dans la Figure 7, la surveillance de la résistance des souches d'*E. coli* pathogènes pour le porc a montré entre 2003 et 2010, une diminution de la proportion des *E. coli* sensibles au ceftiofur, céphalosporine de 3^{ème} génération (99,9% vs 93,3%). L'analyse bactériologique des souches adressées à l'Anses a montré que le principal mécanisme de résistance en cause était la production de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) de type CTX-M. Les proportions d'*E. coli* sensibles aux quinolones et aux fluoroquinolones étaient elles-aussi en diminution. Ainsi, 74,4% des *E. coli* étaient sensibles à la fluméquine en 2003, contre 65,8 % en 2010. Parmi les différents antibiotiques fréquemment testés, la tétracycline et l'association triméthoprime-sulfamide présentaient les plus faibles proportions d'*E. coli* sensibles : respectivement 18,2% et 32,2% en 2010.

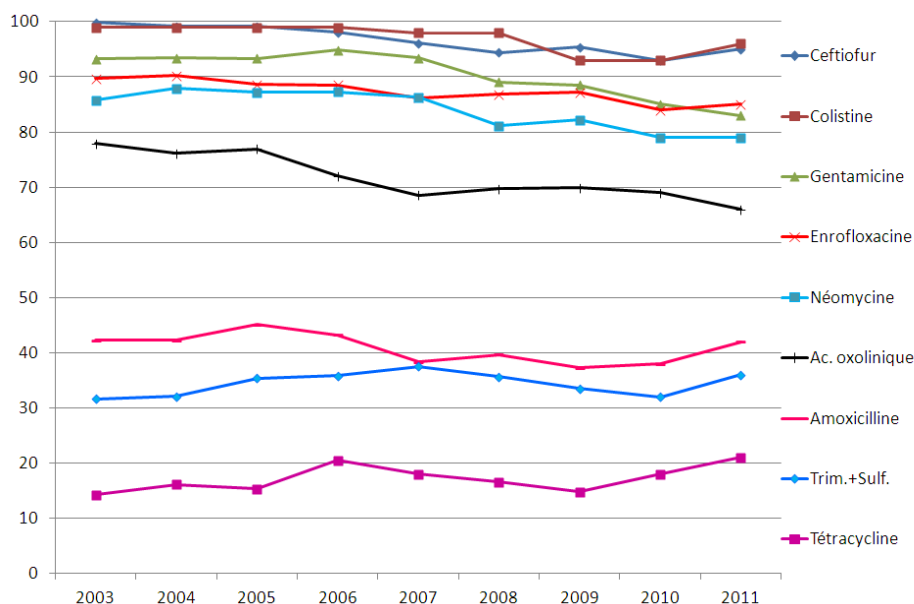


Figure 7 : Evolution du pourcentage de souches d'*E. coli* sensibles chez le porc

La résistance à la colistine chez les bactéries pathogènes et commensales existe même si le pourcentage de résistance reste faible. Il convient donc de continuer à surveiller le niveau de résistance à la colistine et de façon globale à tous les antibiotiques chez le porcelet. Une utilisation prudente d'antibiotiques, dont la colistine, est à préconiser chez le porcelet.

4.1.3.2 Facilités d'administration

Le ZnO n'étant pas soluble, son mode d'administration pourrait être sous forme de :

- prémélange médicamenteux incorporé à l'aliment dans une usine agréée ;
- poudre à mélanger dans la ration par l'éleveur (communément appelé « top-feeding »).

Avantages du prémélange

Les principaux avantages du prémélange médicamenteux sont que le taux d'incorporation et l'homogénéité du mélange sont optimaux, contrôlés et facilement contrôlables par l'autorité sanitaire. En effet, les usines d'aliment agréées pour fabriquer de l'aliment médicamenteux ont un plan de contrôle régulier de la teneur en matière active dans les produits finis ainsi qu'un contrôle d'homogénéité à réaliser. Par ailleurs, une prise d'échantillon de l'aliment et la conservation de l'échantillon pendant 6 mois sont systématiques. Ce mode de traitement est confortable pour l'éleveur, qui n'a pas à manipuler le médicament.

Inconvénients du prémélange

L'aliment médicamenteux nécessite un délai de fabrication, de livraison et la disponibilité d'un silo si l'aliment est présenté en vrac. Ces contraintes impliquent d'une part, un certain délai difficilement compatible avec l'urgence thérapeutique, et posent d'autre part, le problème de l'adéquation de la taille du silo aux besoins réels en aliments médicaments.

Avantages du top feeding

Le « top-feeding » présente l'avantage d'être utilisable « en urgence » en début d'épisode clinique. Ainsi, il peut être administré au cas par cas, en fonction de l'incidence de la maladie.

Aussi, dans la mesure où sa mise en œuvre est très contraignante pour l'éleveur, la révision du protocole de traitement est plus facilement réalisée comparativement à l'aliment médicamenteux.

Inconvénients du top feeding :

Le recours au « top feeding » assure une homogénéité plus aléatoire. Par ailleurs, il expose l'éleveur au ZnO (contact cutané, inhalation, etc.) ; les éleveurs étant plus difficiles à sensibiliser que les agents de fabrication à la nécessité d'adopter des moyens de protection lors de la manipulation des produits.

4.1.3.3 Réduction de pratiques à risque

La réduction des traitements antibiotiques au sein des productions animales est un objectif partagé par les scientifiques, l'administration, les vétérinaires en charge du suivi des élevages, les éleveurs et toute la filière. La réduction du recours aux antibiotiques dits « critiques », quinolones de troisième génération et céphalosporine, est également un objectif partagé.

La correction des facteurs zootechniques, alimentaires et la gestion des maladies intercurrentes doivent rester les premiers axes de travail pour prévenir les infections à *E. coli*.

La prescription du ZnO permettrait de :

- limiter le recours aux traitements antibiotiques préventifs à visée digestive après sevrage ;
- limiter le recours aux litières asséchantes et donc le risque de surdosage ou de contamination par des métaux lourds ;
- quantifier les apports relatifs à cette indication et mesurer l'impact environnemental.

4.2 Risques

4.2.1 Tolérance du Zn chez le porcelet, sécurité pour l'Homme (consommateur et manipulateur)

4.2.1.1 Tolérance chez le porcelet

Le profil toxicologique du Zn et de ses sels a été étudié chez l'animal de laboratoire.

La toxicité orale aiguë du Zn dépend de la source de Zn et du sel : elle est relativement faible pour les sels utilisés en médecine vétérinaire. Ceci est particulièrement vrai pour le ZnO comme en témoignent les fortes valeurs de DL₅₀ (> 5000 mg/kg chez la souris et le rat, avec une dose létale de 500 mg/kg chez l'homme) (EMA_dossier_LMR, 1996).

Sa toxicité après administrations orales répétées chez des espèces de laboratoire rongeur et non-rongeur est également faible comme le rapportent de nombreuses publications, avec des effets principalement gastro-intestinaux (Revy *et al.*, 2003 ; WHO, 2001).

Le Zn ne montre pas d'effet tératogène chez l'animal de laboratoire et n'affecte pas les performances reproductrices. Le Zn est dénué de potentiel mutagène dans de nombreux tests *in vitro* réalisés sur bactéries ou cellules de mammifères et dans des tests *in vivo*.

Le ZnO ne semble pas présenter de potentiel carcinogène chez l'animal (EMA_dossier_LMR, 1996 ; WHO, 2001).

Chez le porcelet, le ZnO est actuellement autorisé en France comme additif alimentaire à des doses ne devant pas dépasser 150 mg/kg dans les aliments complets².

La saisine concerne une utilisation du ZnO sous forme de prémélange médicamenteux à des doses de 2500 ppm pendant 14 jours de traitement.

Actuellement une telle présentation est autorisée dans plusieurs états membres à la concentration revendiquée.

A partir de différentes études de tolérance menées chez le porcelet au sevrage à la concentration de 2500 mg/kg pendant 14 jours (dossiers de demande d'AMM), ainsi qu'à partir de données de la littérature (Poulsen et Larsen, 1995) il apparaît que le ZnO est bien toléré, avec cependant des modifications significatives des phosphatases alcalines et de l' α amylase (augmentation de leur activité), ainsi qu'une augmentation de la zincémie, sans répercussion sur l'état général des animaux. Ces modifications sont réversibles 1 à 2 semaines après l'arrêt du traitement.

Une supplémentation en ZnO (3000 mg/kg) dans l'alimentation de porcelets (Wang *et al.*, 2012) entraîne aussi une augmentation de l'activité des phosphatases alcalines, mais également une augmentation de la concentration en IGF-I et en insuline.

Les études de tolérance ont été menées par des titulaires d'AMM avec des concentrations jusqu'à 3 fois supérieures à 2500 ppm. Dans une étude, une administration de 6200 ppm pendant 28 jours (2 fois la dose recommandée de 3100 ppm sur une durée correspondant à 2 fois la durée revendiquée), une altération des performances zootechniques a été observée. Par contre, aucun effet n'a été rapporté à la dose de 3100 ppm administrée pendant 14 ou 28 jours.

Dans une autre étude, lorsque le ZnO a été administré à des porcelets à la dose de 85 mg de Zn/kg pv/jour pendant 14 jours ou à la dose de 255 mg Zn/kg pv/jour (i.e. 3 fois la dose recommandée) pendant 14 jours, ou à la dose recommandée mais administrée pendant 28 jours (2 fois la durée revendiquée), aucun des traitements n'a entraîné d'effets chez les animaux traités. Seules des émissions de fèces décolorées (couleur gris-jaunâtre) ont été rapportées. Ces dernières persistaient à l'arrêt du traitement. Les paramètres biochimiques n'ont pas été modifiés et l'autopsie des animaux n'a révélé aucune lésion qui aurait pu être attribuée au produit (Agence_Espagnole, 2012).

Un problème d'inappétence de l'aliment complétement en ZnO a été mis en évidence quand les porcelets avaient le choix entre un aliment sans supplémentation et un aliment supplétementé avec 3100 mg/kg) (Reynolds, 2010). Actuellement les possibles interactions du ZnO avec d'autres

² Règlement (CE) n° 1334/2003 de la Commission du 25 juillet 2003 et son rectificatif publié au JOUE L14 du 21-1-2004 p54. Modification par le Règlement (CE) n° 1980/2005 de la Commission du 5 décembre 2005.

médicaments vétérinaires n'ont pas été étudiées. Seules les interactions avec d'autres métaux sont documentées. En effet, chez le porcelet sevré précocement à 11 jours, l'apport de 3000 ppm de Zn au lieu de 100 dans un aliment additionné de 10 ppm de cuivre conduit, au bout de 28 jours, à une détérioration du statut en cuivre qui se manifeste par une diminution de la cuprémie ainsi que par une diminution de l'activité de la superoxyde dismutase à cuivre et à Zn dans les érythrocytes et dans le foie. Toutefois, ces effets ne sont pas observés chez les animaux sevrés à 24 jours ou avec des durées d'exposition n'excédant pas 14 jours (Carlson *et al.*, 1999). Chez des porcelets sevrés à un âge d'au moins 17 jours, ni la cuprémie (Buff *et al.*, 2005 ; Carlson *et al.*, 2004c ; Rincker *et al.*, 2005) ni la teneur en cuivre du foie (Rincker *et al.*, 2005 ; Han et Thacker, 2009) ne sont affectés par l'exposition pendant 14 jours à un aliment contenant 2000 ppm de Zn lorsque les aliments sont additionnés d'au moins 10 ppm de cuivre. Dans l'étude de Hill (Hill *et al.*, 2000), la distribution d'un aliment contenant 3000 ppm de Zn à des porcelets sevrés de 22 jours pendant 28 jours n'a pas d'effet sur la cuprémie.

Le ZnO utilisé comme prémélange médicamenteux chez le porcelet au sevrage à une concentration de 3100 ppm pendant 14 jours n'induit pas d'effets indésirables chez les animaux traités. Les seules modifications significatives observées sont une augmentation de l'activité des phosphatases alcalines et de l'α-amylase, ainsi qu'une augmentation de la zincémie. Ces modifications sont sans répercussion sur l'état général des animaux et sont réversibles 1 à 2 semaines après l'arrêt du traitement.

4.2.1.2 Sécurité pour le consommateur

Le ZnO ainsi que d'autres sels de Zn sont classés au tableau 1 du Règlement LMR 470/2009 du 6 mai 2009. Aucune LMR n'est requise quelle que soit l'espèce productrice de denrées animales. Les médicaments aujourd'hui sur le marché ont toutefois un temps d'attente « viande et abats » notifiés dans leur RCP. Ceci est lié à l'existence d'une DJA de 1 mg/kg comme indiqué dans le résumé public LMR : "The joint FAO/WHO Expert Committee on food Additives (JECFA) evaluated Zn in 1982 and set a provisional maximum tolerable daily intake for man of 0.3 – 1.0 mg/kg."

Ce temps d'attente est généralement établi à 9 jours pour les prémélanges utilisés à 3100 ppm pendant 14 jours. Les études de résidus réalisées chez le porc (3100 ppm de ZnO pendant 14 jours) dans le cadre des dossiers d'AMM ont montré une augmentation des concentrations dans le foie et le rein après traitement alors que les concentrations dans le muscle et la graisse restaient identiques à celles des animaux témoins. Aux premiers temps d'abattage, la consommation de la totalité du « panier de la ménagère » (300 g de muscle, 100 g de foie, 50 g de rein et 50 g de peau+graisse) est susceptible de dépasser la DJA. De manière pragmatique, un temps d'attente de 9 jours a été retenu pour assurer la sécurité du consommateur. Etant donné la cible du traitement (porcelet au sevrage), la durée de ce temps d'attente n'est pas un point critique pour ces médicaments.

Pour évaluer le risque pour l'homme suite à l'ingestion d'eau de boisson, la méthodologie proposée dans le « Reflection paper on assessing the toxicological risk to humans of veterinary pharmaceuticals in ground water » est retenue.

La concentration maximale tolérable dans l'eau de boisson (MTC_{dw}) est donc calculée selon l'équation suivante :

$$MTC_{dw} = \frac{ADI \times BW \times P}{C_w}$$

Les paramètres utilisés pour calculer la MTC_{dw} sont indiqués dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Paramètres utilisés pour calculer MTC_{dw}

	Paramètres	Unité	Valeur par défaut
BW	Body weight	[kg _{bw}]	60
MTC _{dw}	Maximum tolerable concentration in drinking water	[µg.L ⁻¹]	–
ADI	Acceptable daily intake	[µg.kg _{bw} ⁻¹ .d ⁻¹]	–
P	Fraction of the ADI to be used by the intake of drinking water	[–]	0.1
C _w	Daily consumption of drinking water	[L.d ⁻¹]	2

Pour le Zn, la DJA a été fixée à 1 mg/kg, ce qui donne une concentration maximale tolérable dans l'eau de boisson :

$$MTC_{dw} = \frac{1000 \times 60 \times 0.1}{2} = 3000$$

En comparant cette concentration maximale à la concentration dans l'eau souterraine (cf chapitre 4.2.2.3.6.2), cela donne le ratio suivant :

$$RQ_{gw} = \frac{PEC_{gw}}{MTC_{dw}} = \frac{15}{3000}$$

Ce ratio inférieur à 1 indique l'absence de risque pour l'homme par l'eau de boisson vis-à-vis du Zn.

4.2.1.3. Sécurité pour l'utilisateur

La forme pharmaceutique « prémélange médicamenteux » réduit les risques pour l'éleveur car le contact est réduit. L'éleveur n'intervient pas dans la préparation de l'aliment médicamenteux contrairement à l'utilisation des solutions ou poudres orales pour eau de boisson par exemple. Des mesures de gestion de risque sont présentes dans les Résumés des Caractéristiques des Produits à l'attention des personnels qui préparent l'aliment médicamenteux :

- « Éviter tout contact direct avec la peau, les yeux et les muqueuses en portant un équipement de protection consistant en une combinaison, des gants en caoutchouc imperméables et des lunettes de sécurité lors du mélange et de la manipulation du médicament vétérinaire. En cas de contact accidentel avec les yeux, rincer abondamment à l'eau claire. Demandez conseil à votre médecin si l'irritation persiste.
- Lors de la manipulation du médicament vétérinaire, il est recommandé d'éviter d'inhaler la poussière : porter un masque de protection respiratoire jetable conforme à la norme européenne EN 149 ou un masque non jetable conforme à la norme EN 140 équipé d'un filtre conforme à la norme EN 143. Éviter toute ingestion accidentelle. Les vêtements contaminés doivent être immédiatement enlevés et toute éclaboussure sur la peau doit être lavée immédiatement. Se laver les mains après utilisation. En cas d'ingestion accidentelle, demandez immédiatement conseil à un médecin et montrez-lui la notice ou l'étiquetage».

4.2.2 Risque pour l'environnement du ZnO utilisé comme médicament

4.2.2.1 Introduction

L'ensemble des abréviations spécifiques utilisées dans ce chapitre est défini dans l'Annexe 9.

Dans son avis du 14 mars 2003 relatif à l'utilisation du zinc en tant qu'additif dans les aliments des animaux, le Comité scientifique pour l'alimentation animale appelait déjà l'attention sur l'utilisation connue du zinc à des teneurs de 2500 à 5000 mg/kg d'aliment dans le but de prévenir ou de limiter la diarrhée des porcelets, sur le fait que cette utilisation ne respectait pas la législation relative aux additifs des aliments des animaux et qu'elle n'avait donc pas été prise en compte dans l'avis, que cette utilisation avait à coup sûr un impact sur le rejet du zinc dans l'environnement, et que si cette utilisation venait à être validée par le gestionnaire du risque, son impact sur l'environnement devrait être réévalué dans la mesure où les limites fixées pour l'épandage de lisier s'en trouveraient dépassées (Scientific Committee for Animal Nutrition (SCAN), 2003).

Dans un premier temps une évaluation du risque pour l'environnement (ERE) du ZnO, comme habituellement réalisée pour les médicaments chimiques vétérinaires, est conduite en conformité avec les lignes directrices actuellement en vigueur :

- ✓ VICH GL6: Environmental impact assessment (EIAS) for veterinary medicinal products - Phase I (CVMP/VICH/592/1998) (VICH, 1998) ;
- ✓ VICH GL38: Environmental impact assessments for veterinary medicinal products (VMPs) - Phase II (CVMP/VICH/790/2003) (VICH, 2003) ;
- ✓ Environmental Impact Assessment for Veterinary Medicinal Products in support of the VICH guidelines GL6 and GL38 (EMA/CVMP/ERA/418282/2005-Rev.1) encore appelé Technical Guide Document (TGD) (EMA, 2005).

Le principe de l'ERE consiste à évaluer, d'une part l'exposition des différents compartiments de l'environnement au ZnO (calcul de l'exposition, caractérisée par les valeurs de PEC [Predicted Environmental Concentration]), d'autre part les effets du ZnO sur ces compartiments (caractérisés par les valeurs de PNEC [Predicted No Effect Concentration]), permettant de caractériser le risque pour l'environnement par le calcul du rapport PEC/PNEC.

Les hypothèses de travail sont :

- ✓ Administration de ZnO sur tous les porcelets d'une bande donnée, à la dose de 3100 mg de ZnO/kg d'aliment pendant 14 jours après le sevrage ;
- ✓ Toutes les bandes au cours d'une année sont traitées selon le même schéma ;
- ✓ Aucun autre apport de Zn (additif, matière première) n'est inclus dans cette évaluation ;
- ✓ Les lisiers considérés correspondent aux rejets des porcelets durant la phase de post-sevrage ;
- ✓ Les lisiers ne subissent pas de traitement pour réduire la teneur en azote (N) ;
- ✓ L'épandage des lisiers respecte la directive nitrate correspondant à un épandage annuel maximal de 170 kg N/ha (Directive n° 91/676/CEE).

L'ERE d'un médicament vétérinaire comprend deux phases. La phase I qui correspond au calcul de l'exposition dans le sol (PECsol initial). Si le résultat du calcul est supérieur à la valeur limite de 100 µg/kg, une évaluation de phase II est nécessaire. En phase II, un certain nombre de données concernant le devenir de cet élément et ses effets est requis, conduisant ainsi à une caractérisation des risques pour les milieux terrestres et aquatiques (Figure 8).

Dans un second temps, compte tenu de la spéciation du Zn dans l'environnement (transformation du ZnO en d'autres formes de Zn), une ERE élargie aux sels solubles de Zn est conduite.

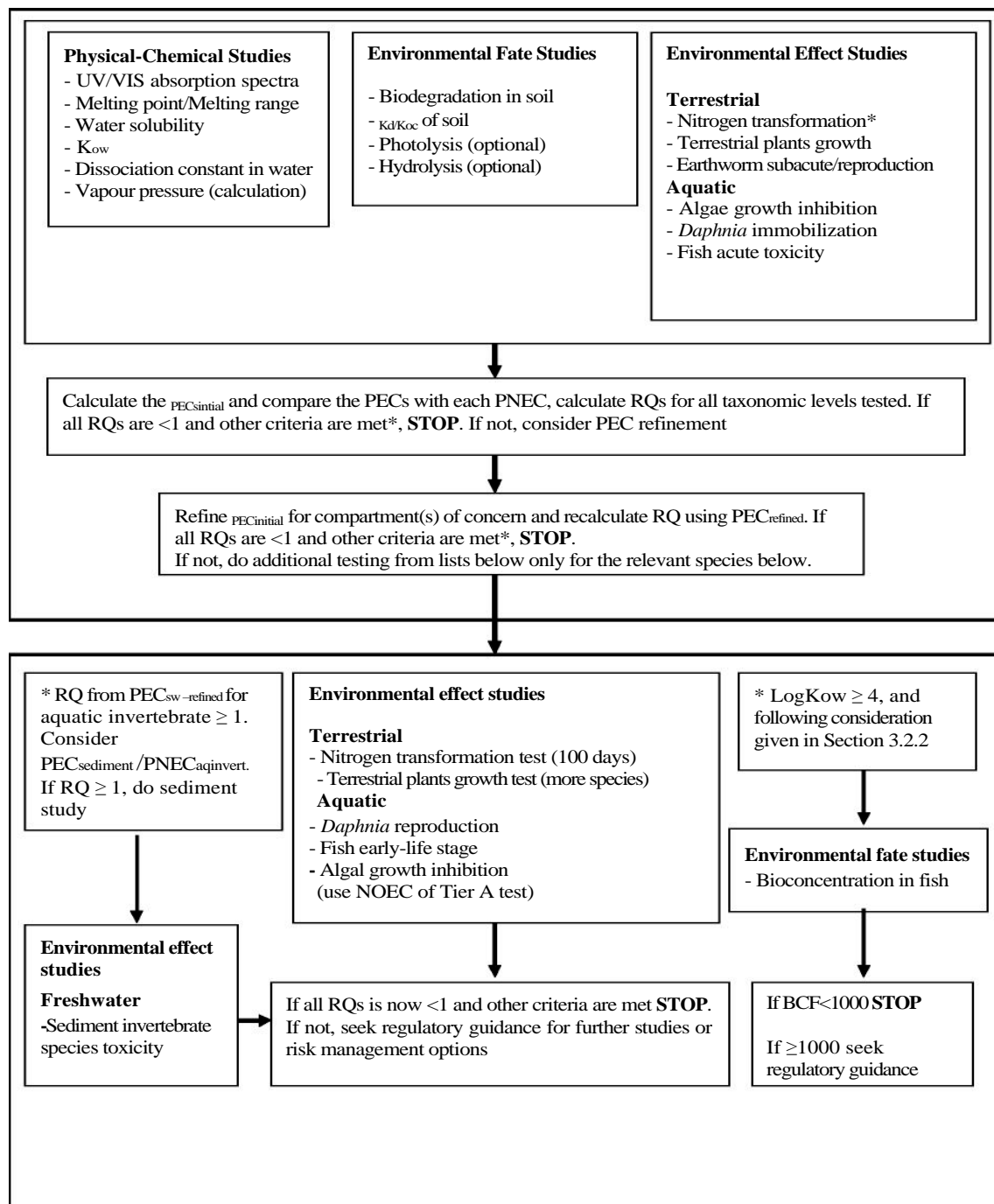


Figure 8 : Arbre de décision (extrait de VICH GL38 : flow diagram for VMPs used for intensively-reared animal systems)

4.2.2.2 Evaluation de phase I

Calcul de la PECsol initial

Le calcul de la PECsol initial est effectué en fonction de la posologie du médicament, de l'équation et des paramètres définis dans le document guide technique de l'EMA (EMA, 2005):

Le calcul donne une valeur de PECsol initial en ZnO de 12164 µg/kg de sol (soit 9772 µg Zn/kg).

Pour le détail des calculs se reporter à l'Annexe 5.

La valeur de PECsol initial étant supérieure à la valeur limite de 100 µg/kg, une évaluation de phase II est par conséquent nécessaire.

4.2.2.3 Evaluation de phase II

4.2.2.3.1 *Propriétés physico-chimiques*

Tableau 6 : Résumé des propriétés physico-chimiques du ZnO

Propriétés	Resultats
Poids moléculaire	81,38
Présentation	solide, poudre
Melting point	> 1975 °C (haute pression)
Densité relative	5.6
Solubilité dans l'eau	<1,6 mg/L
Solubilité dans d'autres solvants	Insoluble dans l'alcool; soluble dans les acides
Coefficient de partition n-octanol/water (log value)	Non applicable
Flammabilité	Non inflammable
Pression	Non applicable
Granulometrie	Taille des particules: 100-10000 nm

Ce tableau est extrait du rapport « Risk Assessment Report ZnO » (p. 8) (VROM, 2008). Ces données physico-chimiques du ZnO sont issues de la littérature.

4.2.2.3.2 *Métabolisme et excrétion*

Une très grande partie du ZnO administrée à l'animal va se retrouver excrétée par celui-ci (taux d'excrétion estimé supérieur à 95%). Par conséquent un taux d'excrétion de 100% est retenu pour les calculs d'expositions (*cf* chapitre 3.1.).

4.2.2.3.3 *Devenir et comportement dans l'environnement*

4.2.2.3.3.1 **Biodégradation**

En dépit du fait que certains facteurs environnementaux peuvent augmenter ou diminuer la biodisponibilité des métaux (*e.g* pH, composition du sol), les métaux ne se dégradent pas dans l'environnement. En conséquence, on ne peut disposer de DT₅₀, et il est donc impossible de calculer une PECplateau (concentration maximale prévisible de l'élément dans le sol).

4.2.2.3.3.2 **Adsorption**

Dans les sols, le Zn va interagir avec les différents constituants du sol tels que les oxydes et hydroxydes, la silice, le carbonate de calcium, les particules d'argiles et la matière organique. Le coefficient de partage pour le Zn métal (valable également pour les sels de Zn tels que l'oxyde, le chlorure et le sulfate de Zn) a été fixé suite à une revue de la littérature. Ce coefficient de partage est basé sur la fraction de Zn métal qui est mobile et qui est présumé être en équilibre avec la phase aqueuse. Le coefficient de partage dans le sol est : LogKpsoil= 2,2 (Buchter *et al.*, 1989) cité dans (Monteiro *et al.*, 2010).

4.2.2.3.4 Bioaccumulation

Dans plusieurs groupes taxonomiques, par exemple les mollusques, les crustacés, les poissons et les mammifères, l'accumulation de Zn est régulée. Ceci est confirmé par les résultats d'études de terrain, dans lesquelles des différences relativement faibles de teneur en Zn ont été retrouvées chez de petits mammifères issus de sites pollués ou de sites témoins. Ces données indiquent un faible potentiel de bioaccumulation du Zn (JRC-IHCP, 2010).

4.2.2.3.5 Effets biologiques

Les études d'écotoxicologie avec le ZnO sont très limitées (contrairement aux nombreuses études avec des sels de Zn plus solubles). Les études d'écotoxicité aquatique réalisées avec ZnO et résumées ci-après proviennent d'études complètes réalisées par des firmes (VROM, 2008). Les études d'écotoxicité terrestre avec ZnO proviennent du rapport ERA Zn métal (microorganismes) (JRC-IHCP, 2010) ou sont issues de la littérature (vers de terre) (Lock et Janssen, 2003).

4.2.2.3.5.1 Espèces aquatiques

Tableau 7 : Etudes de toxicité aquatique issues du rapport ZnO (VROM, 2008)

Organisme	Composé et pureté	Ligne directrice	pH	Dureté	Temps d'exposition	Critères	Résultat (mg ZnO/L)	Résultat (mg Zn/L)	Références
Algues									
<i>Selenastrum capricornutum</i>	ZnO (Red seal-grade) 99,77%	OCDE 201	8,5	12	72-h	EC _{50r} NOEC _r	0,17 0,010	0,135(Cn-d) 0,008(Cn-d)	(Lisec, 1997),
<i>Selenastrum capricornutum</i>	ZnO (EPM-grade) 99,37%	OCDE 201	7,5	24	72-h	EC _{50r} NOEC _r	0,17 0,03	0,136 (Cd) 0,024 (Cd)	(Van Ginneken, 1994b)
Crustacés									
<i>Daphnia magna</i>	ZnO (EPM-grade) 99,37%	OCDE 202	7,7	261	48-h	EC ₅₀	2,2	1,76 (Cd)	(Van Ginneken, 1994a)
Poissons									
<i>Brachydanio rerio</i>	ZnO (EPM-grade) 99,37%	OCDE 203	7,9	266	96-h	NOEC	>5,9	>4,7 (Cd)	(Van Woensel, 1994)

Tous les tests: eau artificielle et système statique sauf pour le test chez les poissons (système dynamique)

r: taux de croissance

Cn-d: concentration nominale dans l'eau, basée sur des analyses de Zn dans une solution stock filtrée sur 0,1 µm

Cd: concentration mesurée dans l'eau, basée sur des analyses de Zn dans une eau filtrée sur 0,45 µm

4.2.2.3.5.2 Espèces terrestres

Microorganismes

Tableau 8 : Etudes issues du rapport Zn métal (JRC-IHCP, 2010)

Test	Composé/sol	pH	MO%	Argile	Température °C	Temps d'exposition	Critères	Résultat (mg Zn/kg dw)	Référence
Respiration (test limite) (sol UE)	ZnO / sable	6,0	4	6	30	5-m	NOEC	1000 (Cn) 1074 (Cn+Cb)	(Bhuiya et Cornfield, 1972)
Minéralisation de l'azote (test limite) (sol UE)	ZnO / sable	7,7	4	6	30	6-sem	EC(32%)	1000 (Cn) 1074 (Cn+Cb)	(Bhuiya et Cornfield, 1974)
Nitrification (test limite) (sol UE)	ZnO / sable	7,7	4	6	30	6-sem	EC(33%)	1000 (Cn) 1074 (Cn+Cb)	(Bhuiya et Cornfield, 1974)

Cn : concentration nominale de Zn dans le sol

Cb : concentration de base de Zn dans le sol (dérivée ou calculée à partir des données rapportées)

Vers de terre

Aucune étude n'est répertoriée dans le rapport Zn métal (JRC-IHCP, 2010) ou dans celui du ZnO VROM (VROM, 2008). Par contre, les données utilisées sont issues de la littérature (Lock et Janssen, 2003).

Tableau 9 : Etudes d'écotoxicité pour les vers de terre

Organisme	Composé	Ligne directrice	Sol	Survie (mg Zn/kg MS)	Reproduction (mg Zn/kg MS)	référence
<i>Enchytraeus albidus</i>	ZnO	OCDE 220	Artificiel (OECD 207)	LC ₅₀ (95% CI) = 2950 (2700 -3200)	EC ₅₀ (95% CI) = 461 (369-546)	(Lock et Janssen, 2003)
<i>Eisenia fetida</i>	ZnO	Van Gestel, 1989	Artificiel (OCDE 207)	LC ₅₀ = 3140	EC ₅₀ (95% CI) = 764 (426-1030)	(Lock et Janssen, 2003)

Plantes

Il n'existe pas d'études répertoriées ni dans le rapport JRC-IHCP (2010), ni dans le rapport Monteiro (Monteiro *et al.*, 2010) ni dans celui de VROM ([VROM, 2008](#)).

4.2.2.3.6 Calcul de l'exposition

4.2.2.3.6.1 PECsol

Pour rappel, la PECsol initial calculée en phase I est de 12164 µg ZnO/kg (9772 µg Zn/kg).

Le Zn présente une forte affinité pour les sols et a tendance à s'y accumuler. Cependant, son accumulation dans le sol constitue également une source d'exposition de l'eau du sol et de l'eau de surface suite aux phénomènes de lessivage, drainage et ruissellement (Monteiro *et al.*, 2010). Le Zn étant une substance métallique, on ne dispose pas de valeur de DT₅₀ permettant le calcul d'une PECplateau. La formule du TGD VM (EMEA, 2005), ne pouvant s'appliquer (de même que celle de la ligne directrice d'évaluation des additifs), il a été décidé de calculer une PECsoil steady state par analogie avec l'approche proposée par le TGD européen sur les substances chimiques (TGD EU) et qui s'applique aux résidus des boues d'épuration (Commission_european, 2003). Le résultat des calculs (pour le détail se reporter à l'Annexe 6) montre qu'après 10 années d'épandage de lisier de porcelets traités avec du ZnO, (en intégrant l'ensemble de la phase de sevrage), la PECsol sera égale à 110989 µg/kg ZnO (89168 µg Zn/kg). Cela montre clairement que l'apport continu de ZnO entraîne un enrichissement progressif des sols en Zn.

4.2.2.3.6.2 PECeau souterraine (PECgw)

Selon les équations du TGD MV (EMEA, 2005), avec une PECsol initial (à 20cm) de 3041 µg/kg ($PEC_{sol\ initial} / 4$) et un Kpsoil de 158,48 ($\log Kpsoil = 2,2$), la valeur de PECgw est de 19,22 µg/L ZnO (15,45 µg/L Zn) (pour le détail des calculs se reporter à l'Annexe 7).

La valeur de PECgw est très supérieure à 0,1 µg/L. Cependant il est important de noter que la méthode de calcul utilisée surestime vraisemblablement la concentration réelle. Selon le TGD MV, lorsque la PECgw calculée est supérieure à 0,1 µg/L, il est recommandé d'utiliser le modèle FOCUS qui permet d'affiner la PECgw. Cependant, dans le cas du Zn, l'outil FOCUS, conçu pour des molécules organiques, n'est pas utilisable en l'état et il a donc été décidé de ne pas l'employer.

4.2.2.3.6.3 PECeau de surface (PECsw)

Le calcul de la PECsw selon l'équation du TGD MV (EMEA, 2005), donne le résultat suivant :

$$PECsw = PECgw / 3 = 19,23/3 = 6,41 \mu\text{g/L ZnO} \text{ (5,15 } \mu\text{g/L Zn soit 1,94 } \mu\text{g/L Zn dissous)}$$

4.2.2.3.7 Caractérisation du risque environnemental

4.2.2.3.7.1 Compartiment aquatique

Tableau 10 : Calcul du risque (RQ) pour le compartiment aquatique (Tiers A)

Organisme	PECsw (µg/L Zn dissous)	Critères (mg/L Zn dissous)	Facteur d'incertitude	PNEC (µg/L Zn dissous)	RQ
<i>Daphnia magna</i>	1,94	EC ₅₀ 48h : 1,76	1000	1,76	1,1
<i>Brachydanio rerio</i>	1,94	NOEC > 4,7	1000	>4,7	< 0,41
<i>Selenastrum capricornutum</i>	1,94	EC ₅₀ 72h: 0,135	100	1,35	1,44

Les résultats du Tableau 10 indiquent un risque potentiel pour les taxons crustacés et algues.

Pour les algues il est possible d'affiner le risque (Tiers B) puisqu'une NOEC est disponible (moyenne géométrique des 2 NOECs disponibles) :

Tableau 11 : Calcul affiné du risque pour le compartiment aquatique (Tiers B)

Organisme	PECsw (µg/L Zn dissous)	Critères (Zn mg/L)	Facteur d'incertitude	PNEC (µg/L Zn dissous)	RQ
<i>Selenastrum capricornutum</i>	1,94	NOEC: 0.014	10	1,4	1,38

Le Tableau 11 indique un risque potentiel pour les algues (Tiers B). Par ailleurs étant donné que le RQ pour les crustacés est supérieur à 1 (Tiers A), le risque pour le compartiment sédiment doit être évalué.

Sédiment

Selon l'équation du TGD MV (EMEA, 2005) avec une PECsw de 1,94 µg Zn/L dissous (5,15 µg Zn/L) et un Kpsed de 73000 L/kg (Wenema, 1994), cité dans (Monteiro *et al.*, 2010), la valeur de PECsed est 141620 µg Zn/kg de MS de sédiment (pour le détail des calculs se reporter à l'Annexe 8). En l'absence de PNECsed pour le ZnO, celle-ci peut être estimée à partir de la PNECcrustacé (EMEA, 2005). Avec une PNECcrustacé de 1,76 µg Zn/L dissous

et un Kpsed de 73000 L/kg, la valeur estimée de PNECsed est 128482 µg Zn/kg de MS de sédiment.

Tableau 12 : Calcul du risque pour les sédiments

Compartiment environnemental	PECsed (mg Zn/kg sédiment)	PNECsed (mg Zn/kg sédiment)	RQ
Sédiment	141,6	128,5	1,10

Le Tableau 12 indique un risque potentiel pour les organismes des sédiments.

4.2.2.3.7.2 Compartiment terrestre

Il n'est pas possible de procéder comme recommandé dans le TGD MV (EMEA, 2005), pour les trois taxons habituellement testés (microorganismes, vers de terre et plantes) pour trois raisons :

- ✓ absence de données disponibles pour la toxicité sur les plantes de ZnO ;
- ✓ absence de test de transformation de l'azote selon la ligne directrice OCDE 216 ;
- ✓ absence de NOEC disponible dans l'étude ver de terre (par conséquent le critère EC₅₀ avec un facteur d'incertitude de 100 a été retenu).

Tableau 13 : Calcul du risque pour le compartiment terrestre

Taxonomic level	PECsoil initial (mg/kg Zn)	PECsoil 10 ans (mg/kg Zn)	Critères	Facteur d'incertitude	RQ initial	RQ 10 ans
Transformation azotée	9,14	89,168	≤25% of control	-	-	-
Plantes terrestres	9,14	89,168	EC ₅₀ : ?	100	?	?
Ver de terre	9,14	89,168	EC ₅₀ : 461 mg/kg Zn	100	1,98	19,34

Il existe donc un risque potentiel pour le taxon ver de terre.

4.2.2.3.8 Conclusion phase II

Avec les données disponibles issues de la littérature scientifique, seule une caractérisation partielle des risques du ZnO a pu être réalisée selon les lignes directrices en vigueur pour les médicaments vétérinaires.

Cette caractérisation a pu mettre en évidence une accumulation du Zn dans les sols suite à l'épandage de lisier des porcelets en post-sevrage et traités avec du ZnO (14)), un risque toxique potentiellement inacceptable pour les crustacés, algues, organismes des sédiments ainsi que pour les vers de terre.

Pour pouvoir affiner l'évaluation de risque environnemental, il est nécessaire d'inclure les très nombreux résultats des études réalisées avec des sels de Zn plus solubles (notamment sulfate et chlorure).

En effet, une fois émis dans l'environnement, le ZnO va se transformer en d'autres formes de Zn (spéciation). La spéciation du Zn qui inclut formation de complexes, précipitations et adsorption est dépendante des conditions environnementales. Par conséquent, les différents sels de Zn émis dans l'environnement, indépendamment de leur source d'origine ou de leur forme chimique, contribuent à l'effet global du Zn dans l'environnement. C'est la raison pour laquelle la caractérisation du risque de ZnO dans le cadre de la réglementation européenne (EU Existing Chemicals Regulation 793/93) est basée sur le Zn, considéré comme facteur responsable de la toxicité, et non pas sur le ZnO en tant que tel.

4.2.2.4 Evaluation élargie aux différents sels de Zn

Pour évaluer les effets environnementaux du Zn sous différentes formes de sels, une grande quantité de données est disponible. Pour évaluer les effets du Zn sur les différents organismes, les critères suivants ont été appliqués :

- ✓ PNEC_{add} : pour tenir compte de la présence naturelle de Zn dans l'environnement, la PNEC_{add} correspond aux effets dus à l'apport anthropique de Zn ;
- ✓ seuls les effets chroniques ont été retenus pour déterminer les PNEC_{add} ;
- ✓ les données de la littérature ont été évaluées pour leur pertinence et leur fiabilité en accord avec les principes décrits dans le TGD EU ;
- ✓ les NOECs ou EC10% ont été utilisés pour déterminer les PNEC_{add} ;
- ✓ les caractéristiques spécifiques du Zn telles que sa biodisponibilité et son caractère d'élément essentiel ont été intégrées dans l'évaluation.

Pour plus de détails se reporter au rapport scientifique de Monteiro (Monteiro *et al.*, 2010).

4.2.2.4.1 *PNEC compartiment aquatique*

EAU

Les NOEC provenant d'études chroniques de sels solubles de Zn (chlorure et sulfate) sur les organismes aquatiques d'eau douce sont très nombreuses (Monteiro *et al.*, 2010) : 26 valeurs de NOEC pour les algues, 61 pour les invertébrés et 74 pour les poissons ont été retenues.

A partir de ces NOECs, une distribution de la sensibilité des espèces (SSD) a été réalisée résultant en une valeur de HC₅₋₅₀ (concentration médiane à laquelle 5% des espèces sont affectées) de 15,6 µg Zn/L. Compte tenu de l'ensemble des données disponibles, un facteur d'incertitude de 2 a été appliqué à cette valeur de HC₅₋₅₀ résultant en une PNEC_{add} eau de 7,8 µg/L de Zn dissous dans l'eau (PNEC également utilisée pour l'eau marine).

Pour les eaux douces (caractérisées par une dureté < 24 mg/L), cette PNEC_{add} eau n'est pas considérée comme étant suffisamment protectrice. Une PNEC_{add} eau douce a donc été fixée en considérant un ratio de 2,5 (JRC-IHCP, 2010) ce qui conduit à une PNEC_{add} eau douce de 3,1 µg/L de Zn dissous dans de l'eau douce.

Tableau 14 : Calcul de la PNEC pour l'eau

Compartiment environnemental	PNEC _{add}	PNEC _{add} en Zn	Remarque
Eau douce (Dureté ≥ 24 mg/L) (1)	PNEC _{add, aquatique}	7,8 µg/L 21 µg/L	Zn dissous Zn total (2)
Eau douce (Dureté ≤ 24 mg/L) (1)	PNEC _{add, aquatique eau douce}	3,1 µg/L	Zn dissous

(1) Dureté totale (mg/L) en CaCo₃

(2) Concentration totale en Zn : calculée à partir de la PNEC_{add, aquatique} de 7,8 µg/L pour le Zn dissous, de la C_{susp} de 15 mg/L (selon le TGD EU) et de la K_{psusp} de 110000 L/kg

SÉDIMENT

Il existe peu de données étudiant la toxicité du Zn sur les organismes vivants dans les sédiments. Seules 4 valeurs de NOEC utiles sont disponibles : une pour l'oligochète *Tubifex tubifex* (1101 mg/kg MS de sédiment), deux pour l'insecte *Chironomus tentans* (609 et 795 mg/kg MS de sédiment) et une pour le crustacé *Hyalella azteca* (488 mg/kg MS de sédiment). Ces valeurs de NOECs sont exprimées en concentration ajoutée de Zn (retrait de la concentration naturelle en Zn du sol). Ces données étant trop limitées pour réaliser une extrapolation statistique, la PNEC_{add, sédiment} a été fixée à partir de la NOEC la plus faible (488 mg/kg MS de sédiment). Ces trois espèces benthiques représentent trois groupes taxonomiques d'invertébrés avec des conditions de vie différentes et, par conséquent, selon le TGD (Commission, 2003), un facteur d'incertitude de 10 doit être utilisé résultant en une PNEC_{add, sédiment} de 49 mg/kg MS (Monteiro *et al.*, 2010).

Tableau 15 : Calcul de la PNEC pour les sédiments

Compartiment environnemental	PNEC _{add}	PNEC _{add} en Zn	Remarque
Sédiment dulçaquicole	PNEC _{add, sédiment}	49 mg/kg MS 11 mg/kg MH	Poids sec de sédiment (1) Poids humide de sédiment (1)

(1) Pour la normalisation MS-MH de la PNEC_{add, sédiment} il est fait l'hypothèse que le sédiment humide contient 10% de solides (densité 2500 kg/m³) et 90% d'eau (densité 1000 kg/m³) par volume, i.e. 22% de solides par rapport au poids.

4.2.2.4.2 PNEC compartiment terrestre

Les NOEC (ou EC10) provenant d'études chroniques de sels solubles de Zn (chlorure, nitrate et sulfate) sur les organismes terrestres sont très nombreuses (Monteiro *et al.*, 2010) : 31 valeurs de NOEC pour les plantes, 43 pour les invertébrés et 97 pour les microorganismes ont été retenues. A partir de ces NOECs, deux PNECs ont été déterminées. L'une à partir des NOECs issues des études sur les plantes et invertébrés et la seconde à partir des NOECs issues des études sur les microorganismes. Au final une PNEC_{add,sol} de 26 mg Zn/kg MS est retenue. Cette PNEC_{add,sol} est dérivée de la valeur de HC₅₋₅₀, issue d'une SSD sur les plantes et invertébrés (52 mg Zn/kg MS), à laquelle un facteur d'incertitude de 2 a été appliqué. Cette valeur est très proche de la PNEC_{add,sol} obtenue à partir des NOECs déterminées chez les microorganismes (27 mg/kg MS).

Tableau 16 : Calcul de la PNEC pour le compartiment terrestre

Compartiment environnemental	PNEC _{add}	PNEC _{add} en Zn	Remarque
Sol	PNEC _{add, terrestre}	26 mg/kg MS 23 mg/kg MH	Poids sec de sol (1) Poids humide de sol (1)

(1) Pour la normalisation MS-MH de la PNEC_{add, terrestre} il est fait l'hypothèse que le sédiment humide contient 60% de solides (densité 2500 kg/m³) et 20% d'eau (densité 1000 kg/m³) par volume, i.e. 88% de solides par rapport au poids.

4.2.2.4.3 Caractérisation du risque

4.2.2.4.3.1 Compartiment aquatique

Tableau 17 : Calcul du risque pour le compartiment aquatique

Compartiment environnemental	PEC après 1 année d'épandage	PNEC _{add} en Zn	RQ
Eau douce (Dureté ≥ 24 mg/L)	5,15 µg/l	21 µg/L (Zn total)	0,24
Eau douce (Dureté ≤ 24 mg/L)	5,15 µg/l	8,2 µg/L (Zn total)	0,63
Sédiment	141 mg/kg	49 mg/kg MS	2,88

Le Tableau 17 indique un risque potentiel pour les sédiments avec un RQ>1.

Pour le **milieu aquatique**, on peut estimer qu'un risque de toxicité (RQ>1) **apparaît au bout de 5 années d'épandages** consécutifs sur la même parcelle pour les eaux caractérisées par une dureté >24 mg/L (estimation basée sur une PEC_{sol} 5 ans de 45,2 mg/kg Zn résultant en une PEC_{sw} de 23 µg/L).

Pour les eaux caractérisées par une dureté < 24 mg/L, le RQ est supérieur à 1 dès la deuxième année d'épandages consécutifs (estimation basée sur une PEC_{sol} 2 ans de 18,2 mg/kg Zn résultant en une PEC_{sw} de 9,6 µg/L).

4.2.2.4.3.2 Compartiment terrestre

Tableau 18 : Calcul du risque pour le compartiment terrestre

Compartiment environnemental	PEC après 1 année d'épandage	PNEC _{add} en Zn	RQ
Sol	9,14 mg/kg MS	26 mg/kg MS	0,35

Compartiment environnemental	PEC après 10 ans d'épandage	PNEC _{add} en Zn	RQ
Sol	89,17 mg/kg MS	26 mg/kg MS	3,43

Compartiment environnemental	PEC après 10 ans d'épandage (profondeur labour 20 cm)	PNEC _{add} en Zn	RQ
Sol	22,29 mg/kg MS	26 mg/kg MS	0,86

Afin de tenir compte du labourage de la parcelle dans le calcul de la PECsol 10 ans, une profondeur de 20 cm (profondeur de labour) peut être retenue, ce qui a pour conséquence de diviser la PECsol 10 ans par un facteur 4.

Un risque pour le compartiment **sol** (RQ>1) **apparaît au bout de 12 années d'épandages consécutifs** sur la même parcelle.

4.2.2.4.4 Remarques

L'incertitude sur les PNECs est faible car elles sont dérivées d'approches probabilistes (SSD) sur de nombreuses données (excepté pour la PNEC sédiment).

En revanche, l'incertitude sur les PECs est plus élevée, notamment pour les PEC eau et sédiment. En effet, les calculs présentés sont issus de méthodes surestimant ces PECs.

Il est intéressant de comparer les résultats obtenus ici avec un avis scientifique de l'EFSA sur un additif à base de Zn (150 ppm de Zn sur la vie entière) (EFSA, 2012). Pour le compartiment terrestre, les PECs sols calculées ne dépassent la PNEC qu'après une période d'épandage de 50 ans. Pour le compartiment aquatique, un risque potentiel a été identifié pour un scénario de drainage et deux scénarios en ruissellement. Deux de ces scénarios concernent des sols de type acide. Pour ces scénarios, le RQ sera supérieur à 3 après 10 années d'épandage de lisier et supérieur à 5 après une période de 50 ans. Cette évaluation du risque environnemental conduit à des résultats qualitativement identiques à ceux conduits ci-dessus.

Une évaluation des risques pour l'environnement du Zn a été réalisée : c'est une ERE qui ne tient pas compte des spécificités locales géographiques influençant sa teneur naturelle dans l'environnement, sa spéciation, sa biodisponibilité dans les compartiments terrestre et aquatique. Cette ERE a été réalisée en conformité avec les lignes directrices européennes sur le médicament vétérinaire actuellement en vigueur.

Cette ERE indique un risque toxique pour le compartiment sédiment et un risque non immédiat mais décalé dans le temps pour les compartiments aquatique et terrestre.

Pour le compartiment aquatique, un risque (RQ>1) apparaît au bout de 5 années d'épandage consécutifs sur la même parcelle et dès 2 années consécutives pour les eaux caractérisées par une dureté inférieure à 24 mg/L.

Pour le compartiment terrestre, un risque (RQ>1) apparaît au bout de 12 années d'épandage consécutifs sur la même parcelle. Rappelons que les calculs de PEC sont basés sur un taux d'épandage de 170 kg N/ha/an et ne concernent que l'épandage de lisiers de porcelets en post-sevrage.

4.2.3 Risque pour l'environnement selon le type d'élevage et différents scénarios d'apport de Zn alimentaire

Compte tenu de la spécificité des élevages français où les exploitations de type post-sevrage sont très minoritaires, des calculs basés sur des données CORPEN ont été conduits pour tenir compte du mélange des lisiers de différents stades de production mais également des apports en Zn des différents lisiers suite à l'utilisation d'additif dans l'alimentation des animaux à tous les stades physiologiques.

Les différents types d'élevage considérés sont :

- ✓ des élevages naisseurs engraisseurs intégrant les reproducteurs, les porcelets en post-sevrage et la totalité des porcs charcutiers engraisés jusqu'à leur abattage à 115 kg ;
- ✓ Des élevages post-sevrage engraisseurs, d'où sont exclus les reproducteurs ;
- ✓ Des élevages naisseurs post-sevrage, n'intégrant que les reproducteurs et les porcelets en post-sevrage ;
- ✓ Des élevages post-sevrage.

Les différents scénarios de concentrations alimentaires de Zn correspondent (Tableau 19) :

- ✓ à la teneur maximale autorisée par la réglementation européenne (2003) ;
- ✓ aux recommandations du NRC (1998), auxquelles sont ajoutés 10 mg/kg d'aliment comme marge de sécurité ;
- ✓ au scénario précédent dans lequel l'impact positif de la phytase microbienne sur la disponibilité du Zn serait valorisé (Jondreville *et al.*, 2005). Par rapport au scénario précédent, les apports alimentaires de Zn aux porcelets sevrés et aux porcs charcutiers sont diminués de 20 mg/kg d'aliment.

Pour ces trois scénarios, deux modalités sont envisagées : avec ou sans l'introduction de 2500 ppm de ZnO pendant les 14 jours qui suivent le sevrage.

Tableau 19 : Teneur en Zn des aliments (mg / kg) selon les différents scénarios

ZnO	Réglementation		NRC		Phytase	
	-	+	-	+	-	+
Stade physiologique						
Truies lactation	150	150	60	60	60	60
Truies gestation	150	150	60	60	60	60
Post sevrage premier âge	150	2650	110	2610	90	2590
Post sevrage deuxième âge	150	150	90	90	70	70
Engraissement-Croissance	150	150	70	70	50	50
Engraissement-Finition	150	150	60	60	40	40

Pour chaque catégorie d'élevage, les bilans d'azote et de Zn ont été calculés selon le bilan réel simplifié proposé par le CORPEN (2003) au moyen de l'application téléchargeable (<http://w3.rennes.inra.fr/CORPEN/>). Les teneurs en matière azotée totale des aliments sont de 165, 140, 185, 165 et 150 g/kg pour les truies en lactation, les truies en gestation, les porcelets en post-sevrage, les porcs en croissance et les porcs en finition. Les performances des animaux sont identiques à celles que propose le CORPEN. Les quantités épandables de Zn sont exprimées pour 170 kg d'azote présents dans le lisier, puis ramenés au kg de sol en considérant qu'un hectare correspond à 750 kg de sol sec (5 cm d'épaisseur, 1500 kg/m³). Le Tableau 20 et la Figure 9 présentent le délai d'apparition d'un risque environnemental par l'épandage des lisiers et les contributions respectives des matières premières, additifs et du ZnO utilisé après le sevrage dans l'enrichissement annuel du sol en Zn, selon les différents scénarios.

Tableau 20 : Enrichissement annuel du sol en Zn ($\mu\text{g} / \text{kg sol sec}^1$) et délai d'apparition d'un risque environnemental par l'épandage des lisiers sur la même parcelle, selon différents scénarios d'apport de Zn dans différents types d'élevage

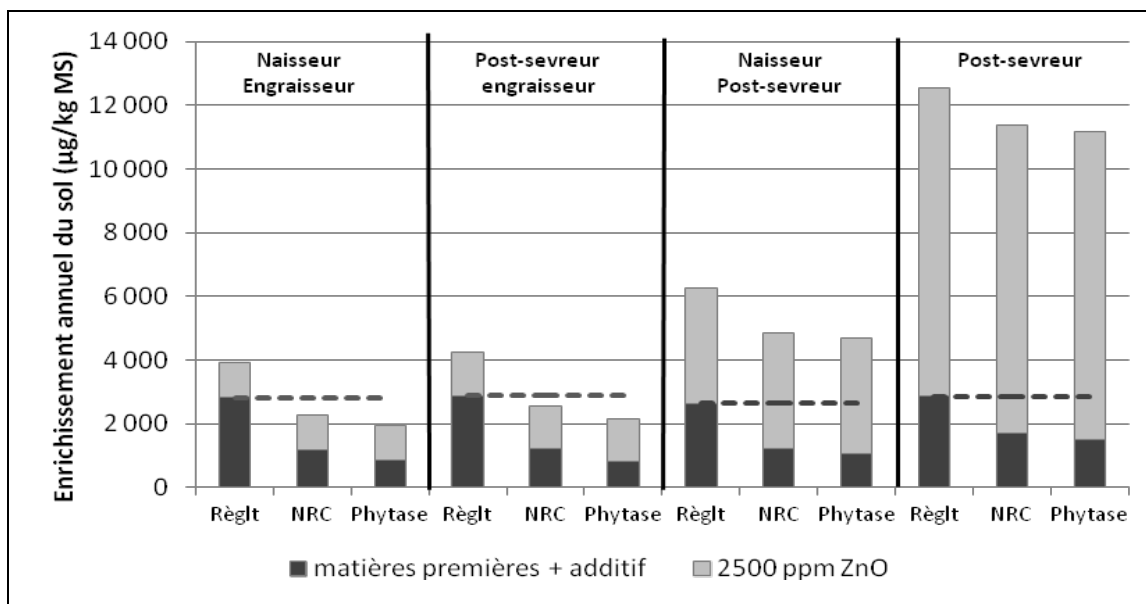
Scénario ²	Règlement				NRC				Phytase			
Type d'élevage ³	N/E	PS/E	N/PS	PS	N/E	PS/E	N/PS	PS	N/E	PS/E	N/PS	PS
Enrichissement annuel du sol en Zn ($\mu\text{g Zn/ kg sol sec}$)												
Sans ZnO	2 821	2 888	2 640	2 857	1 170	1 217	1 231	1 684	838	809	1 075	1 485
Avec ZnO	3 914	4 230	6 264	12 521	2 262	2 560	4 855	11 347	1 930	2 152	4 699	11 149
Contribution de ZnO à l'enrichissement annuel du sol ($\mu\text{g Zn/kg sol sec}$)⁴												
	1 092	1 343	3 624	9 664	1 092	1 343	3 624	9 664	1 092	1 343	3 624	9 664
Délai avant l'apparition d'un risque (RQ>1) (année)												
Milieu aquatique												
Sans ZnO	17	17	18	17	41	40	39	29	58	60	45	33
Avec ZnO	12	11	8	4	21	19	10	4	25	22	10	4
Milieu terrestre												
Sans ZnO	41	40	44	41	99	95	94	69	138	143	108	78
Avec ZnO	30	27	19	9	51	45	24	10	60	54	25	10

¹ pour une épaisseur de sol de 5 cm, soit 750 kg de sol sec par hectare

² Voir Tableau 19

³ N/E, naisseur engraisseur ; PS/E, post-sevrer/engraisneur ; N/PS, naisseur/post-sevrer ; PS, post-sevrer

⁴ Calculé comme la différence entre l'enrichissement annuel du sol en Zn lorsque 2500 ppm de Zn sous forme d'oxyde sont utilisés pendant les 14 jours qui suivent le sevrage et l'enrichissement annuel sans cet usage (« scénario avec ZnO »- « scénario »)



¹ 2500 ppm de Zn sous forme d'oxyde pendant les 14 jours qui suivent le sevrage

² pour une épaisseur de sol de 5 cm, soit 750 kg de sol sec par hectare

----- : enrichissement annuel du sol en Zn par l'apport des additifs à la teneur maximale autorisée

Figure 9 : Contributions respectives des matières premières et des additifs ainsi que du ZnO utilisé après le sevrage¹ dans l'enrichissement annuel du sol en Zn ($\mu\text{g/kg sol sec}^2$), selon différents scénarios d'apport de Zn dans différents types d'élevage²

Quels que soient le type d'élevage et le scénario envisagé, l'enrichissement des sols en Zn existe déjà du fait des apports par les additifs et les matières premières. L'utilisation supplémentaire de ZnO après sevrage, accroîtrait ce phénomène indépendamment du scénario alimentaire. En revanche, l'impact de cette pratique serait très dépendant du type d'élevage considéré. Dans les élevages où seuls sont présents les porcelets sevrés (post-sevrer), elle causerait une augmentation de l'enrichissement annuel du sol de près de 10000 $\mu\text{g/kg}$. En présence de

reproducteurs dans l'élevage (naissseurs post-sevreurs), cette augmentation serait divisée par 3 environ (3624 vs 9664). La présence des porcs en engraissement la diviserait par 7 (1343 vs 9664). Dans le cas d'élevages naisseurs engraisseurs, l'impact de l'usage du ZnO en post-sevrage serait divisé par 9 (1092 vs 9664).

En revanche, le scénario d'apport alimentaire de Zn par les matières premières et les additifs influence de façon importante les rejets totaux de Zn, donc l'enrichissement annuel en Zn du sol. Lorsque que l'apport réglementaire de Zn est pris comme référence, l'abaissement des apports par les matières premières et les additifs aux niveaux des scénarii NRC et phytase permettent de compenser les rejets supplémentaires dus à l'usage d'oxyde de Zn en post-sevrage, dans les élevages comportant un atelier d'engraissement (naissseurs engraisseurs et post-sevreurs engraisseurs). En revanche, dans les élevages naisseurs et naisseurs post-sevreurs, aucune compensation n'est envisageable. Néanmoins, ces élevages sans atelier d'engraissement représentent environ 6% des élevages français et détiennent moins de 14% des truies élevées en France (données 2012-IFIP communication personnelle).

En corollaire, l'épandage de lisiers de porcs nourris avec des aliments contenant des quantités de Zn conformes à la réglementation actuelle (additif), peut causer un risque toxique en milieu terrestre au bout d'une quarantaine d'années, indépendamment du type d'élevage. Lorsque du ZnO est apporté après le sevrage, ce délai d'apparition est réduit à 30 années pour un élevage naisseur engraisseur et à 9 années pour un élevage de post-sevrage uniquement, sans compensation possible pour cette dernière catégorie d'élevages.

Certains éleveurs traitent les lisiers pour en épurer l'azote ce qui conduit à concentrer les autres éléments. Si le taux d'épuration se situe à 50%, l'enrichissement annuel du sol en Zn, et par conséquent, l'impact de l'usage du ZnO en post-sevrage sont multipliés par deux en raison du calcul des quantités épandues basé sur la quantité d'azote du lisier.

La prise en compte de possibles effets de dilution du zinc par des lisiers moins concentrés issus d'animaux engraisés montre qu'en présence de porcs en engraissement dans l'élevage, l'impact environnemental de l'oxyde de zinc est réduit.

La réduction des apports de zinc par les matières premières et les additifs durant la phase d'engraissement (besoin en zinc des animaux inférieur au maximum réglementaire) et la valorisation du zinc de l'aliment par l'apport de phytases exogènes permettent de compenser l'impact environnemental de l'utilisation de l'oxyde de zinc pendant le post-sevrage.

Cette réduction de l'impact environnemental pourrait être néanmoins minorée lors du traitement d'épuration du lisier en azote.

4.2.4 Co-sélection de résistance aux antibiotiques, résistance au Zn, résistance croisées aux antibiotiques

4.2.4.1 Détection de la résistance au Zn

La détection se fait par mesure des concentrations minimales inhibitrices (CMI), calculées en mg de métal ou en millimoles par litre de milieu (1mM de Zn correspond à 65,39 mg de Zn par litre) (Hasman *et al.*, 2006).

Pour les bactéries, il est classique de tester des concentrations en Zn variant de <1mM à 30mM de sulfate de Zn, mais certaines bactéries supportent des concentrations de 1M (*Acidocella*). Pour un pH supérieur à 5,5 le sulfate de Zn précipite. Il est classique d'utiliser des milieux minimum car dans un milieu complexe, les métaux risquent de ne pas être sous une forme disponible pour la bactérie. Il est indispensable de comparer des CMI effectuées dans un même milieu, si possible dans un milieu standardisé, comme par exemple le milieu de Mueller-Hinton (MH).

Le Zn⁺⁺ étant un acide faible, la supplémentation du milieu abaisse le pH. Il faut donc vérifier le pH après avoir ajouté le métal, faute de quoi l'inhibition observée pourrait être due à l'effet du pH.

Trois types de test sont utilisés pour évaluer la résistance (tolérance) des bactéries aux métaux : soit des gradients de concentration (mais qui sont difficilement reproductibles), soit des déterminations de CMI en milieu gélosé ou en milieu liquide. Il est fréquent d'utiliser des concentrations de métaux linéaires (plutôt qu'exponentielles).

4.2.4.2 Niveaux de tolérance des bactéries

A la différence des antibiotiques, il n'y a pas de valeurs seuils communément reconnues. Une étude danoise (Aarestrup et Hasman, 2004) a été réalisée sur des souches isolées d'animaux de rente (*Salmonella*, *E. coli*, Staphylocoques, Entérocoques) sur milieu MH à un pH de 5,5. Les CMI étaient inférieures ou égales à 4mM pour *Salmonella*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. hyicus*, mais pouvaient atteindre 8mM pour *E. faecium* ou 16mM pour *E. faecalis*. En Australie, une collection d'entérocoques isolés de porcs est analysée et 40% des souches sont résistantes au Zn, majoritairement des souches d'*E. faecalis* (Fard et al., 2011).

Des isolats tolérants pour le Zn ont été trouvés à partir d'environnements contenant de fortes concentrations de ce métal. Les genres ou espèces détectés tolérants étaient *Acidiphilium*, *Acidocella*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. coli*, *Flavobacterium*, *K. pneumoniae*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Ralstonia (Wausteria) metallidurans*, *Salmonella*, *S. aureus* et *S. hyicus* (Hasman et al., 2006).

4.2.4.3 Mécanismes de résistance au Zn : maintien des concentrations cellulaires en Zn, systèmes de captation et systèmes d'efflux

Les cellules bactériennes doivent maintenir une concentration cellulaire en Zn suffisante car cet élément métallique est essentiel à leur métabolisme, tout en évitant son accumulation à des concentrations toxiques. Toutes les cellules bactériennes ont des systèmes de captation et d'efflux du Zn ; selon l'environnement écologique, ces systèmes sont plus ou moins développés. Des bactéries exposées à des concentrations élevées de métaux contiennent dans leur génome des gènes de protection, parfois en de multiples copies, comme par exemple *Ralstonia metallidurans* – précédemment appelée *Alcaligenes eutrophus* – qui est une bactérie présente dans des biotopes industriels ou pollués riches en métaux.

Chez *E. coli*, la captation du Zn est assurée, en cas de déficience, par le système ZnuABC un transporteur de type ABC (ATP Binding Cassette). Si le Zn est en excès, le système est réprimé. Il existe un autre système de captation du Zn, régulé par le Zn et par le fer : ZupT (de la famille des ZIP transporteurs = Zn regulated transporter, iron regulated transporter-like protein) et d'autres substrats. Le Zn peut aussi être pris en charge sous forme de complexes métal-phosphate, par le système PitA (inorganic phosphate uptake system). Des systèmes de captation du magnésium pourraient également transporter le Zn. Des systèmes homologues de ZnuABC ont été mis en évidence chez d'autres bactéries (*Haemophilus*, *Neisseria*, *Salmonella*, *Bacillus*) et des systèmes de type ZIP sont détectés dans les génomes d'autres bactéries, ainsi que d'autres transporteurs de métaux à large spectre.

Pour limiter la concentration de Zn intracellulaire, les bactéries ont des systèmes d'efflux, soit chromosomiques, soit plasmidiques. Les protéines de la famille des facilitateurs de diffusion des cations (cation diffusion facilitator : CDF) sont des protéines avec des domaines membranaires et cytoplasmiques, permettant l'échange d'un proton contre un cation métallique. Le Zn est expulsé dans l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif, ou directement dans le milieu extérieur chez les bactéries Gram positif. Chez *E. coli*, *zitB* et *yjiP* sont des gènes codant pour des protéines des systèmes CDF. Chez *S. aureus*, *zntA* (aussi appelé RzcB ou CzcB) code pour une protéine de la famille CDF et *zntR* code pour un régulateur de la famille ArsR. La souche de référence CH34 de *Ralstonia metallidurans* contient aussi un système CDF, *czcDRSE* impliqué dans la résistance au Zn. Des gènes codant pour des protéines de la famille CDF sont présents sur les génomes de nombreuses bactéries séquencées, ce qui semble faire du système CDF un modèle ubiquitaire.

Par ailleurs, un groupe d'ATP-ases de type P peut charger le Zn (Zn^{2+}), le cadmium (Cd^{2+}) et le plomb (Pb^{2+}). Il s'agit de protéines cytoplasmiques qui utilisent l'énergie de l'ATP pour transporter les cations métalliques à travers la membrane. L'un des ces transporteurs est *cadA* de *S. aureus*

porté par le plasmide pl258 et formant avec *cadC* un opéron. Un gène *czrA*, homologue de *cadC* est mis en évidence sur le chromosome de *S. aureus*. *czrA* constitue avec *czrB* (un homologue de *czcD*, gène de résistance au Zn, au cobalt et au cadmium chez *B. subtilis*) un opéron dont la transcription est augmentée en présence de Zn, mais pas des autres métaux testés. Les expériences d'inactivation de gènes et de complémentation montrent que *czrAB* joue un rôle dans le transport du Zn à travers la membrane cellulaire de *S. aureus* (Kuroda *et al.*, 1999). Puis, le gène *czrC* a été mis en évidence dans la cassette de résistance à la méticilline des *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) du complexe clonal CC398, le clone émergent chez les animaux de rente (et notamment le porc) (Cavaco *et al.*, 2010 ; Cavaco *et al.*, 2011). Ce gène serait responsable de la résistance au Zn et au cadmium (mais pas au sulfate de cuivre ou au nitrate d'argent) très fréquemment observée parmi les souches de SARM porcines CC398 (Aarestrup *et al.*, 2010), alors que les souches sensibles à la méticilline sont sensibles au Zn et ne possèdent pas le gène *czrC*. Enfin, dans une étude récente au Danemark, quatre souches d'un nouveau type de SARM sont mises en évidence ; elles appartiennent au complexe clonal CC30 ; toutes ont une sensibilité réduite au Zn (CMI= 8mM) et contiennent le gène *czrC*. Les souches du même CC30 sensibles à la méticilline sont aussi sensibles au Zn et ne possèdent pas le gène *czrC* (Agerso *et al.*, 2012a).

Chez *E. coli*, une ATP-ase ZntA spécifique de $Zn^{2+}/Cd^{2+}/Pb^{2+}$ est codée par le chromosome. Le génome de *Ralstonia metallidurans* CH34 contient également onze gènes putatifs d'ATP-ases de type P1, dont au moins huit transportent des métaux. Des ATP-ases de ce type ont été mises en évidence chez de nombreuses autres bactéries, soit sur le chromosome soit sur des plasmides.

Des complexes de type CBA, composés d'un transporteur RND (résistance nodulation cell division), d'une protéine de fusion membranaire et d'une protéine de membrane externe peuvent également prendre en charge le transport de métaux lourds monovalents (Cu ou Ag) ou divalents (Co, Zn, Cd, Ni) de même que des composés organiques (Nies, 2003). La protéine CzcA de *R. metallidurans* fait partie des CBA transporteurs et fonctionne par échange d'un proton. Le gène est présent sur un des deux grands plasmides et code pour la résistance au Zn, au cadmium et au cobalt. Douze gènes homologues ou paralogues de *czcA* sont présents dans le génome de CH34, indiquant la spécialisation de cette bactérie pour son biotope. Cette multiplication chez *R. metallidurans* de gènes de résistance aux métaux résulte de transferts horizontaux de gènes ou de duplications de gènes ancestraux. De telles souches ou leurs gènes sont utilisés pour des applications industrielles (biosenseurs, bioréacteurs pour l'immobilisation des métaux dans les sols pour permettre de nouveau les cultures végétales...) (Mergeay *et al.*, 2003).

La formation de biofilms pourrait aussi permettre aux bactéries de survivre à des concentrations élevées de métaux, par des phénomènes chimiques, physiques et physiologiques (Harrison *et al.*, 2007).

4.2.4.4 Localisation et mobilisation des gènes responsables de la résistance au Zn

Une résistance au Zn codée sur un plasmide a été montrée chez *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* et *Acidocella* (Hasman *et al.*, 2006). Pour cette dernière, la résistance peut être transférée à *E. coli* (Ghosh *et al.*, 1999 ; Ghosh *et al.*, 2005) et les gènes sont alors intégrés au chromosome. Inversement, le gène de la résistance au Zn *czc* de *E. coli* peut être transféré vers *R. metallidurans* *in vitro* ou au laboratoire dans des échantillons de sols (Top *et al.*, 1990). Chez *Shigella dysenteriae* également la résistance au Zn est portée par un plasmide (Lankeshwar et Bagde, 2008). Comme indiqué précédemment, chez *S. aureus*, les gènes de résistance au Zn sont situés sur le chromosome, sur une cassette *mec* ou sur un plasmide.

Des éléments codant la résistance au Zn ont également été identifiés sur un plasmide d'*E. coli*, de grande taille et autotransférable, pMIP233 (InchI3), contenant par ailleurs des gènes d'utilisation de glucides et de résistance au tellurite (Alonso *et al.*, 2002) Certains gènes de pMIP233 présentent des homologies avec les gènes *silA* et *silC* du plasmide pMG101 de *Salmonella Typhimurium* ou du système *czc* de *R. metallidurans*, qui confère une résistance au Zn et au cobalt.

4.2.4.5 Impact direct des métaux sur la physiologie des bactéries

Il a été montré que, en présence de Zn, le système à deux composants CzcR de *P. aeruginosa* induit l'expression de la pompe d'efflux CzcCBA, mais réprime l'expression de OprD, la porine permettant l'entrée des carbapénèmes. Mais *czcR* affecte également l'expression d'autres gènes, impliqués dans la pathogénicité de cette bactérie (Dieppois *et al.*, 2012), en contrôlant la synthèse de la toxine pyocyanique, d'élastase, de rhamnolipides ou la production de biofilm. Les concentrations élevées en Zn des sécrétions bronchiques de malades atteints de mucoviscidose pourraient jouer un rôle dans leur sensibilité aux infections liées à *P. aeruginosa* (Dieppois *et al.*, 2012).

De même, chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, le Zn (500µM) abolit la formation de biofilm en microplaques ou sur cathéters : le Zn ayant une très forte affinité pour Fur, le régulateur de transport du fer (10000 fois plus que le fer), leurre ce dernier et les systèmes de captation du fer sont réprimés, conduisant ainsi à une carence de la bactérie en fer, même si des quantités importantes de fer sont présentes dans le milieu. Il faut aussi souligner que le régulateur Fur contrôle également d'autres fonctions cellulaires telles que le métabolisme des succinate, fumarate et de l'acétate, le chimiotactisme, la synthèse de flagelles, la réponse aux stress oxydatifs ou acides et joue un rôle dans la pathogénicité (Hancock *et al.*, 2010).

4.2.4.6 Relations entre résistance aux métaux et résistance aux antibiotiques

Des études rapportent des corrélations entre la résistance aux métaux et la résistance aux antibiotiques de populations bactériennes, mais elles sont souvent difficiles à prendre en compte, en l'absence de populations bactériennes de contrôle sensibles. Par exemple au Mexique, Mondragon (Mondragon *et al.*, 2011) observe des corrélations entre l'origine d'eaux de surface et la résistance de leurs entérocoques aux métaux lourds ou entre la résistance d'*E. faecalis* aux antibiotiques ou aux métaux. Des souches d'entérocoques isolées d'eaux de mer en Turquie montrent également une association entre la résistance à certains antibiotiques (aminosides) et la résistance aux métaux lourds (Kimiran-Erdem *et al.*, 2007). Des souches de *Pseudomonas* spp. obtenues à partir de sols irrigués avec des eaux profondes présentent moins de résistance vis-à-vis des métaux lourds et d'antibiotiques, en comparaison d'isolats de sols irrigués avec des eaux usées ou de rivières (Malik et Aleem, 2011). Plus de 50% des souches de *Micrococcus*, d'*Arthrobacter*, *Acinetobacter* et *Enterobacter* sont trouvées résistantes au Zn (1,6 mg/mL) dans des eaux de distribution de l'Oregon et il existe une corrélation positive entre la résistance aux antibiotiques et la tolérance aux métaux. Les souches d'eaux de distribution sont plus fréquemment résistantes aux antibiotiques et aux métaux que les souches isolées d'eaux brutes, et les auteurs soupçonnent que les métaux des réseaux de distribution puissent sélectionner ces bactéries multirésistantes (Calomiris *et al.*, 1984). La détection de faibles quantités de Zn dans les lisiers est associée avec des taux inférieurs d'*E. coli* multi-résistants et les échantillons contenant les concentrations les plus élevées présentent les taux d'*E. coli* sensibles à tous les antibiotiques les plus bas (Hölzel *et al.*, 2012).

Plusieurs mécanismes pourraient expliquer ces relations entre présence de métaux et antibiorésistance : tout d'abord les cations métalliques peuvent complexer certains antibiotiques (tétracycline) et donc réduire leur absorption ou affecter leur stabilité (bêta-lactamines), conduisant ainsi à des concentrations d'antibiotiques permettant le développement de souches résistantes. De plus, certains métaux peuvent induire des pompes d'efflux multi-drogues, ou interagir avec des gènes ou des protéines intervenant dans la résistance aux antibiotiques (bêta-lactamases Zn-dépendantes ou système d'efflux de la tétracycline). Les métaux peuvent jouer un rôle dans certains mécanismes cellulaires comme la conjugaison bactérienne (Hölzel *et al.*, 2012). Enfin, la présence sur les mêmes éléments génétiques mobiles de gènes codant pour la résistance aux métaux et d'autres gènes codant pour la résistance aux antibiotiques risque d'entraîner des phénomènes de co-sélection, conduisant à la diffusion des gènes de résistance dans les environnements riches en métaux. Quelques exemples sont décrits ci-dessous.

Chez *P. aeruginosa*, la résistance inductible au Zn (*czcCBA*) est associée à la résistance aux carbapénèmes causée par une réduction de l'expression du transporteur de carbapénèmes *oprD*, par le biais du système à deux composants *czcR-czcS* (Perron *et al.*, 2004). En effet, l'exposition

de cette bactérie à de faibles concentrations de Zn induit une résistance au Zn alors que l'exposition à des concentrations élevées favorise la sélection de mutants constitutifs résistants aux métaux lourds. Les bactéries induites ou les mutants constitutifs présentent également une résistance à l'imipénème. Chez les mutants, l'expression de la pompe CzcCBA est augmentée de même que celle de son régulateur, le système à deux composants *czcR-czcS*. La même mutation V194L est détectée dans la protéine CzcS chez tous les mutants. Chez les mutants résistants, l'expression de la porine OprD est diminuée. Il est également possible que la présence de Zn facilite la formation des métallo-bêta-lactamases dans l'espace périplasmique (Giakkoupi *et al.*, 2008). En médecine humaine, il a été montré que le Zn libéré de cathéters urinaires diminuait l'expression de la porine OprD, causant ainsi une résistance aux carbapénèmes (Dieppois *et al.*, 2012).

Chez *S. Typhimurium*, le régulateur BaeR du système à deux composants BaeSR réagit à la présence de Zn en activant la transcription de *acrD* et *mdtABC*, qui participent aux systèmes d'efflux multi-drogues et donc de résistance vis-à-vis des antibiotiques et des métaux (Nishino *et al.*, 2007). De même chez *E. coli*, l'excès de Zn, à des concentrations trouvées dans l'environnement ou dans des situations cliniques, induit l'opéron *mdtABC*, augmentant l'efflux des antibiotiques et du Zn (Baker-Austin *et al.*, 2006) : une étude transcriptomique de souches d'*E. coli* exposées à une concentration sub-léthale de ZnSO₄ (0,2 mM) montre que 64 gènes sont surexprimés, dont les gènes responsables de la tolérance au Zn (*zntA*, *zraP*, et *hydG*) et l'opéron *mdtABC*. Certains gènes, dont *basR* et *basS* (système senseur-régulateur) ou encore *fliM* (synthèse du flagelle), paraissent essentiels puisque leur inactivation rend la bactérie sensible. Parmi les gènes réprimés, il faut noter des gènes impliqués dans la protection contre le stress acide (Lee *et al.*, 2005).

Chez *S. aureus*, le gène *cadA*, conférant la résistance au Zn et au cadmium, est situé sur le plasmide pI258 qui contient également le gène *blaZ* responsable de la résistance à la pénicilline (Nucifora *et al.*, 1989 ; Wang et Novick, 1987). De plus, la perte de la résistance à la méticilline de certaines souches de SARM s'accompagne de la perte de la résistance à différents métaux dont le Zn (Poston et Li Saw Hee, 1991). Il a maintenant été montré que la cassette *mec* de résistance à la méticilline chez les SARM de porcs CC398 ou CC30 comporte le gène *czcC* (Agero *et al.*, 2012a).

4.2.4.7 Impact de suppléments en Zn sur la résistance de la flore digestive

Moodley (Moodley Arshnee *et al.*, 2011) rapporte les résultats d'une expérimentation chez le porc : des lots de porcs naturellement infectés ou non par le SARM CC398 sont constitués et traités ou non à l'aide de ZnO (2,5 g/kg d'aliment pendant trois semaines), de tétracycline (25 mg/kg) ou de ZnO et tétracycline. Les prélèvements réalisés sur les animaux montrent que l'administration de ZnO ou de tétracycline augmente le nombre de SARM dans les cavités nasales des animaux traités en comparaison des animaux non traités. Dans l'étude rapportée par Jacob (Jacob *et al.*, 2010), la supplémentation de jeunes bovins par 300 mg/kg de ZnSO₄ (associé ou non à une supplémentation par du cuivre) ne modifie que très marginalement la sensibilité des souches d'*E. coli* ou d'Entérocoques.

Les bactéries présentes dans la flore digestive des animaux tolèrent des concentrations de Zn de l'ordre de quelques milli-Moles. Pour limiter la concentration de Zn intracellulaire, les bactéries possèdent des systèmes d'efflux, codés par des gènes ayant pour support soit des chromosomes, soit des plasmides, ces derniers pouvant alors être transmis entre bactéries de même espèce ou d'espèces différentes. Des concentrations élevées en Zn induisent l'expression de ces pompes d'efflux spécifiques du Zn ou susceptibles de prendre en charge d'autres molécules, telles que des antibiotiques, conduisant ainsi à une légère réduction de la sensibilité vis-à-vis de ces inhibiteurs. Par ailleurs, les gènes de résistance au Zn sont parfois situés sur les mêmes éléments génétiques mobiles que des gènes de résistance aux antibiotiques. C'est le cas en particulier chez *Staphylococcus aureus* : l'administration de ZnO entraîne une augmentation du nombre de *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) dans les cavités nasales des porcs traités.

5 Alternatives

Les alternatives potentielles à l'utilisation des antibiotiques pour la prévention ou le traitement des diarrhées des porcelets en post-sevrage sont multiples. L'objet de ce rapport n'est pas d'en effectuer une analyse quantitative, mais plutôt d'indiquer les voies de recherches envisagées actuellement, à partir des publications récentes.

5.1 Alternatives nutritionnelles

5.1.1 Les prébiotiques

Ce sont des oligosaccharides résistant aux enzymes digestives, qui agissent comme substrat sélectif de la microflore intestinale au détriment d'éventuelles bactéries pathogènes (Gibson *et al.*, 2004). Il a été montré qu'ils empêchent l'adhésion à la paroi intestinale en monopolisant les sites de fixation des bactéries pathogènes, en accroissant l'acidité gastrique et en améliorant la production d'acide gras (Gibson *et al.*, 2004).

Leur potentiel semble intéressant mais la démonstration de leur intérêt réel dans la prévention des diarrhées du sevrage est encore mal établie.

5.1.2 Les probiotiques

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, ajoutés à l'aliment, colonisent la partie caudale de l'iléon et du caecum, prolifèrent, puis modifient la microflore de l'intestin. Ils entrent alors en compétition avec les éventuelles bactéries pathogènes en consommant les mêmes nutriments, en se fixant aux mêmes sites sur la paroi intestinale pour inhiber leur développement, ou en produisant des toxines pour les éliminer (Cromwell, 2000 ; Vondruskova *et al.*, 2010). Par ailleurs, ils stimulent la réaction immunitaire de l'animal hôte en émettant des cytokines qui augmentent la production d'immunoglobulines A et réduisent l'inflammation induite par les toxines des ETEC (Zanello *et al.*, 2011).

Les microorganismes utilisés sont des levures du genre *Saccharomyces*, des bactéries de genre *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* ou productrices d'acide lactique : *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecalis* (Vondruskova *et al.*, 2010).

Si les probiotiques sont bien placés pour prendre la relève des antibiotiques, c'est parce qu'ils ont montré en élevage des aptitudes nutritionnelles et antimicrobiennes intéressantes : augmentation du GMQ et de l'ingestion chez les porcelets après sevrage, réduction de la fréquence des diarrhées en post-sevrage ainsi que du taux de mortalité (Huang *et al.*, 2004 ; Pollman *et al.*, 1980).

Il a récemment été montré que la distribution de *Saccharomyces cerevisiae* dans l'aliment à une dose 5 fois supérieure à la dose habituellement donnée à des fins nutritionnelles permettait de réduire de façon significative le nombre de cas de diarrhée dans un élevage très sévèrement atteint par une diarrhée colibacillaire, en dépit d'un traitement à base de colistine administré par voie alimentaire, et alors même que la souche bactérienne était sensible à cet antibiotique (Marchand *et al.*, 2012).

5.1.3 Les acides organiques

Les acidifiants (ou acides organiques : formique, acétique, propionique, tartrique, lactique, citrique, maléique, fumarique, sorbique) ont longtemps été considérés comme de simples conservateurs alimentaires alors qu'ils présentent des avantages zootechniques et sanitaires importants.

Ils sont produits par fermentation de certains sucres dans le gros intestin (Partanen et Mroz, 1999). Ils augmentent la digestibilité de la ration et inhibent le développement ou l'activité des bactéries

pathogènes via la diminution de pH qu'ils induisent dans le milieu (Mroz, 2005 ; Vondruskova *et al.*, 2010). En effet, la plupart des bactéries de la flore intestinale se développe en milieu acide (pH de 3,5 à 4), alors que les bactéries pathogènes ont besoin d'un milieu plus alcalin (pH 6 à 8). Les sels de calcium associés aux phytases réduisent le pouvoir tampon des aliments.

Leurs effets ont été vérifiés en particulier par De Busser (De Busser *et al.*, 2011) qui a constaté que pour une acidification de l'eau de boisson à pH 5, le GMQ et l'indice de consommation chez le porcelet dans les semaines suivant le sevrage étaient augmentés, et que le nombre de coliformes et la fréquence d'apparition des diarrhées étaient diminués. Le nombre de lactobacilles dans l'intestin grêle, flore s'opposant au développement des coliformes pathogènes, est augmenté (Gong *et al.*, 2008 ; Partanen et Mroz, 1999).

Aujourd'hui, ce sont les probiotiques et les acidifiants qui apparaissent comme les produits de substitution des antibiotiques les plus prometteurs, mais leurs conditions d'utilisation doivent être précisées en particulier dans le contrôle des cas les plus graves.

5.1.4 Les argiles

Les argiles, via leurs propriétés physiques, exercent une action favorable sur le tractus digestif : en ralentissant le transit, elles renforcent l'efficacité digestive et diminuent les troubles intestinaux. Les argiles les plus couramment utilisées sont la sépiolite, la clinoptilote, la zéolite, la bentonite et la kaolinite.

Mais leur effet positif est rarement significatif. Une étude de 2001 montre une amélioration du GMQ de 3% en moyenne et une diminution de l'indice de consommation de 0,3% chez la moitié des élevages utilisateurs d'argile (Royer *et al.*, 2001).

5.1.5 Les plantes et extraits de plantes

Il s'agit principalement d'huiles essentielles de plantes aromatiques dont les principes actifs sont bénéfiques, mais aussi parfois de produits analogues de synthèse. Elles ont des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-oxydantes et antiparasitaires. Ainsi, en 2010, Vondruskova (Vondruskova *et al.*, 2010) montrent une diminution de la prévalence des problèmes digestifs en élevage avec leur utilisation. D'autre part, ils stimulent le système immunitaire (Wenk, 2003).

Les pouvoirs antimicrobiens du thym, de l'origan, de la cannelle, du laurier et de la citronnelle ont été démontrés à plusieurs reprises (Hammer *et al.*, 1999 ; Namkung *et al.*, 2004 ; Smith-palmer *et al.*, 1998).

Les algues possèdent également des propriétés antimicrobiennes. D'après Leonard (Leonard *et al.*, 2011), un apport de 10 g/jour d'extrait d'algues dans l'alimentation des truies entre le 109^{ème} jour de gestation et le sevrage augmente le GMQ et l'ingestion des porcelets sous la mère, et diminue le nombre de coliformes présents dans l'appareil digestif des porcelets 10 jours après sevrage.

5.1.6 Les enzymes

L'incorporation d'enzymes dans les aliments permet de renforcer la digestibilité de certains constituants des matières premières, en particulier celle des hémicelluloses, et favoriserait une réduction des diarrhées. En effet, elles améliorent la digestibilité de l'aliment et influencent la qualité et la quantité des substrats à disposition de la flore digestive de l'intestin grêle et du gros intestin. Une étude de l'ITP montre une augmentation moyenne du GMQ de 2,8% et une diminution de l'indice de consommation de 1,8% en post-sevrage dans 50% des élevages étudiés (Royer *et al.*, 2001).

5.1.7 Les parois de levure

L'influence des polysaccharides naturels (végétaux, levures, céréales, bactéries, *etc.*) sur le système immunitaire des mammifères est désormais reconnue (Tzianobos, 2000). C'est la raison

pour laquelle divers additifs alimentaires à base de glucanes et de mannanes, principalement extraits de parois cellulaires de levures (espèce *Saccharomyces cerevisiae*), sont commercialisés (Gallois et Oswald, 2009).

5.1.8 Les glucanes

Chez le porc, plusieurs études démontrent les propriétés anti-inflammatoires des glucanes : ils préviennent l'élévation sanguine du taux de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- α) (et par conséquent la libération des protéines de la phase aiguë), tout en stimulant la synthèse de cytokines impliquées dans la maîtrise des processus inflammatoires (IL-10) (Li *et al.*, 2005 ; Li *et al.*, 2006a).

Cependant, localement, les propriétés anti-inflammatoires des glucanes sont moins nettes (Dritz *et al.*, 1995). Par exemple, la réponse immunitaire pulmonaire en cas d'infection locale ne semble pas influencée par la présence ou non de glucanes dans l'aliment des porcelets (Sauerwein *et al.*, 2007).

Ainsi, les effets de la supplémentation alimentaire en glucanes sur l'immunité sont assez divergents, tout comme leur effet sur la croissance. En effet, l'incorporation de glucanes à la ration n'a, la plupart du temps, aucun effet sur la croissance des animaux ; néanmoins cette incorporation peut parfois favoriser la croissance et/ou l'ingestion d'aliment (Decuyper *et al.*, 1998 ; Li *et al.*, 2006a), ou au contraire les réduire (Dritz *et al.*, 1995 ; Kim *et al.*, 2000).

5.1.9 Les mannanes

La capacité des mannanes à adsorber les bactéries pathogènes et à moduler les fonctions immunitaires rend leur emploi en nutrition animale potentiellement intéressant (Sohn, 2000).

Les mannanes ne semblent pas influencer la colonisation de la *lamina propria* par les macrophages, mais engendrent chez ces derniers une stimulation de leur activité phagocytaire. Il se pourrait aussi que les mannanes réduisent la réponse inflammatoire associée au stress du sevrage, sans pour autant diminuer la concentration des protéines de l'inflammation aiguë (Davies et Nightingale, 1975).

Finalement, comme pour les glucanes, l'incorporation de mannanes dans l'aliment donne des résultats contrastés concernant leur influence sur l'immunité et les performances ou la santé des porcelets.

5.2 Les vaccins et la protection passive spécifique

La vaccination de la truie protège le porcelet sous la mère, en particulier grâce à l'immunité lactogène. Mais celle-ci cesse brusquement au sevrage et le porcelet devient très vulnérable. Il est donc nécessaire d'induire une réponse immunitaire intestinale active, avec production d'IgA sécrétoires spécifiques.

Aucun des vaccins actuellement disponibles en France ne peut apporter de solution aux colibacilloses du sevrage : tous sont destinés à la protection passive du porcelet contre les seules colibacilloses néonatales, par vaccination de la truie en fin de gestation.

Plusieurs voies d'immunisation du porcelet peuvent être envisagées.

La moins efficace est la voie parentérale, par vaccination du porcelet sous la mère avec des souches d'*E. coli* F4 inactivées. Les résultats sont très variables selon la dose d'antigène utilisée : avec 1 mg de fimbriae F4 inactivé par le formol, la réponse systémique en IgA est inférieure à celle que l'on obtient avec une infection naturelle (Van den Broeck *et al.*, 1999a). La réponse est améliorée avec des doses d'antigènes 10 fois inférieures (Van der Stede *et al.* 2002). Cependant, la production d'IgA systémique n'est pas nécessairement associée à la présence de cellules sécrétoires ni à l'induction d'une mémoire par le GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue : îlots lymphoïdes disséminés dans la muqueuse intestinale (Melkebeek *et al.*, 2012). La voie parentérale ne peut donc pas apporter de solution simple et fiable dans tous les cas, en l'état actuel des connaissances.

Les vaccins oraux sous-unitaires, préparés avec des vaccins contenant des fimbriae F4 purifiés, permettent d'obtenir une réponse en IgA spécifique équivalente à celle d'une infection naturelle. La protection est complète lors d'administration pendant 3 jours consécutifs, suivie d'un rappel 16 jours plus tard (Van den Broeck *et al.*, 1999b). Le concept n'est valable que sur des porcs qui expriment le récepteur F4 à la surface des entérocytes. Le vecteur de cet antigène peut être une luzerne transgénique exprimant l'adhésine F4 (Joensuu *et al.*, 2006).

Ce concept n'est malheureusement pas applicable aux souches F18 car si l'adhésine de F4 est une sous-unité majeure, celle de F18 n'est que faiblement exprimée et les préparations actuelles sont peu efficaces (Cox *et al.*, 2012). Or, les vaccins du futur devront protéger à la fois contre les adhésines F4 et F18. La mise au point de leur stabilité et de leur efficacité demandera encore du temps (Tiels *et al.*, 2007).

La solution la plus prometteuse est fondée sur la vaccination orale avec des souches F4 et/ou F18 dotées de facteurs d'attachement mais ne produisant pas de toxine. Un vaccin dénommé Coliprotec, préparé avec une souche F4, est actuellement enregistré au Canada. Il réduit significativement la colonisation de l'intestin par les souches pathogènes et de ce fait la durée et l'intensité de la diarrhée (Fairbrother *et al.*, 2005). Il est distribué dans l'eau de boisson à partir de l'âge de 17 jours. La vaccination ne doit cependant pas être trop précoce car le vaccin peut être inhibé par les anticorps maternels. De tels vaccins ont été également développés avec des souches F18 (Hur et Lee, 2012). Il reste à savoir si leur efficacité sera satisfaisante compte-tenu des particularités de l'adhésine F18.

Des stratégies d'encapsulation sont également étudiées pour augmenter l'efficacité de la vaccination orale avec des vaccins sous-unitaires qui évitent l'altération de la préparation avant son arrivée dans l'intestin. Les fimbriae F18 ou les souches d'*E. coli* F18 peuvent être encapsulées dans des microsphères de poly(lactide-co-glycolide) (Felder *et al.*, 2000). Ces procédés ne sont encore qu'à l'état d'études préliminaires car, si l'antigénicité des fimbriae F18 n'est pas modifiée, il semble que la viabilité des bactéries entières puisse être altérée et que l'encapsulation soit susceptible de modifier la réponse immunitaire. D'autres procédés sont à l'étude, en particulier l'utilisation de nanoparticules comme adjuvants (nanoparticules de Gantrez) (Vandamme *et al.*, 2011).

Une autre approche consiste en une supplémentation de l'aliment avec des anticorps produits sur oeuf de poule après immunisation par des adhésines F4 ou F18 (Fairbrother *et al.*, 2005).

Des vaccins destinés plus précisément à protéger contre la maladie de l'œdème sont également à l'étude mais leur développement est moins avancé. Ils font appel à des souches vérotoxigènes d'*E. coli* rendues moins pathogènes par manipulation génétique, ou à des vaccins classiques préparés avec la toxine inactivée.

5.3 Autres

5.3.1 La résistance génétique

Il est enfin possible dans un futur plus ou moins lointain d'envisager l'élevage de porcs génétiquement résistants aux souches F4 et F18 de colibacilles (Fairbrother *et al.*, 2005). Le mécanisme de résistance, aussi bien pour les souches F4 que les souches F18 commence à être mieux connu, mais l'héritabilité du phénotype doit encore être investigué (Yan *et al.*, 2009). Point intéressant, le gène FUT1, gouvernant la résistance à *E. coli* F18 est associé à une amélioration des performances de reproduction, en particulier du nombre de porcelets nés vivants et du poids de la portée, non seulement au sevrage mais aussi à la naissance (Bao *et al.*, 2011).

5.3.2 Bactériophages

Les bactériophages peuvent être isolés à partir du lisier de porcs, de préférence en été, la chaleur favorisant l'expression des bactériophages à des niveaux détectables. Neuf bactériophages lysant *E. coli* O149:H10:F4, souche prédominante en Ontario, ont été isolés et étudiés avec des résultats encourageants : les auteurs considèrent que cette piste doit être considérée comme

intéressante pour la prévention et le traitement des entérites colibacillaires du sevrage à ETEC O149 (Jamalludeen *et al.*, 2007).

Un travail récent confirme l'intérêt de cette piste. L'utilisation au sevrage pendant 14 jours d'un additif alimentaire incorporé à la ration au taux de 1 ppm et contenant 10^9 PFU/g de bactériophage permet de réduire significativement l'implantation de souches pathogènes K88 (F4) et K99 (F5) d'*E. coli*, à la fois dans l'iléon, le colon et les nœuds lymphatiques mésentériques (Kim *et al.*, 2012).

A ce jour, aucun de ces moyens de contrôle n'apparaît cependant capable à lui seul de maîtriser totalement la pathologie digestive du porcelet au sevrage.

De nombreuses alternatives aux antibiotiques sont à l'étude pour contrôler les colibacilloses du sevrage et certaines sont prometteuses : c'est en particulier le cas des probiotiques et des acides organiques. Néanmoins, l'usage d'une de ces alternatives quelle qu'elle soit, suppose préalablement une validation scientifique de son efficacité. Il est probable qu'aucune ne règlera le problème à elle seule, il faudrait les associer et, de plus, mettre en place des mesures sanitaires appropriées, une alimentation bien étudiée à la fois dans ses aspects quantitatifs et qualitatifs. Il faudrait par ailleurs maîtriser les maladies intercurrentes fréquentes à cet âge, en particulier coccidioses et infection par le PCV2 (porcine circovirus 2) puisque ce virus altère l'intestin précisément au moment du sevrage même si l'infection reste inapparente.

Parmi les pistes envisagées, l'approche vaccinale est certainement la plus prometteuse, mais elle se heurte à la nécessité d'obtenir une protection solide sur de très jeunes sujets qui risquent d'être atteints avant d'avoir eu la possibilité de développer une réponse immunitaire complète. Par ailleurs, la présence d'anticorps maternels peut interférer avec les vaccins vivants, pourtant les plus intéressants, et la diversité des souches circulant sur le terrain rend encore plus complexe le développement de vaccins efficaces. Le vaccin idéal, adapté à toutes les souches et toutes les formes cliniques de colibacillose, est encore loin d'être disponible.

L'approche génétique, très séduisante, n'en est qu'à ses balbutiements. Comme la vaccination, mais pour des raisons différentes, elle présente l'inconvénient d'être très spécifique.

Quoi qu'il en soit, ces mesures ne seront pas suffisantes en cas d'infection par des souches très pathogènes, surtout en cas de maladie de l'œdème du fait de sa rapidité d'évolution.

6 Conclusions de l'expertise collective

De l'analyse bénéfique/risque de l'utilisation du ZnO chez le porcelet en post-sevrage, le Groupe de Travail émet les **conclusions** suivantes :

- ✓ La situation réglementaire du ZnO en tant que prémélange médicamenteux pour le porcelet n'est pas harmonisée au sein de l'Union Européenne.
- ✓ Le ZnO étant décrit dans la Pharmacopée Européenne actuellement en vigueur et les sels de Zn étant inscrits dans l'annexe du règlement (UE) 37/2010, son utilisation dans un médicament ne pose aucun problème particulier. Sa pureté et sa teneur en impuretés inorganiques sont encadrées.
- ✓ L'efficacité du ZnO en prévention des diarrhées modérées du post-sevrage chez le porcelet est démontrée (la dose utilisée dans les études terrain de dossiers d'AMM est toujours de 3 100 ppm alors que des données publiées suggèrent qu'une dose inférieure pourrait être suffisante). Le ZnO peut être considéré comme un moyen de prévention de ces affections digestives. En revanche, son efficacité pour prévenir les formes graves ou la maladie de l'œdème, et son efficacité curative ne sont pas documentées à ce jour.
- ✓ L'évaluation du risque environnemental du ZnO en tant que prémélange médicamenteux (épandage de lisier de porcelets en post-sevrage) indique un risque toxique pour les différents compartiments (sédiment, aquatique et terrestre). Le niveau d'impact dépend des contextes d'utilisation, notamment du type d'élevage de porcs et de la teneur en Zn dans l'aliment, tout au long de la période d'élevage.
- ✓ Des phénomènes de résistance bactérienne au Zn et de résistance croisée ou de co-sélection avec certains antibiotiques sont décrits dans la littérature mais on ne peut préjuger de leurs évolutions en cas d'utilisation de ZnO.
- ✓ L'utilisation d'antibiotiques, comme la colistine, reste une pratique efficace vis-à-vis des infections digestives bactériennes établies. Il convient de noter le caractère émergent de la résistance à la colistine en élevage de porc, même si son niveau est faible aujourd'hui.
- ✓ La comparaison de l'efficacité du ZnO à celle de la colistine sur la maîtrise des diarrhées en post-sevrage n'est pas documentée. Aussi, l'évaluation des bénéfices comparés de la colistine et du ZnO n'a pas été réalisée.
- ✓ En matière d'évaluation quantitative de risque, la comparaison des risques liés à l'utilisation de la colistine à celle du ZnO n'apparaît pas opportune en l'état actuel des données. En effet, si les effets négatifs du ZnO sur l'environnement ont pu être modélisés à moyen et long terme, il persiste de fortes incertitudes scientifiques concernant, d'une part l'évolution de la résistance à la colistine et d'autre part, l'évolution des phénomènes de résistance bactérienne au Zn ou de co-sélection de résistance aux antibiotiques à court et moyen terme.
- ✓ De nombreuses autres alternatives aux antibiotiques sont à l'étude pour contrôler les colibacilloses du sevrage et, même si certaines sont prometteuses, leur utilisation suppose préalablement une validation scientifique de leur efficacité. Cependant, il est probable que ces alternatives ne seront pas suffisantes en cas d'infection par des souches très pathogènes.

En conséquence de ses conclusions, le Groupe de Travail émet les **recommandations** suivantes :

- ✓ Au regard du risque environnemental lié à l'utilisation du ZnO comme prémélange médicamenteux chez le porcelet en post-sevrage, des mesures de gestion visant à compenser ce risque doivent être envisagées. La première consiste à n'utiliser le ZnO que dans des élevages avec ateliers d'engraissement, et ne traitant pas les lisiers avant épandage. En outre, dans ces élevages, d'autres mesures de gestion devraient également être étudiées, comme la réduction des teneurs en Zn en tant qu'additif dans l'aliment, durant la phase d'engraissement. La teneur maximale réglementaire du Zn étant supérieure aux besoins du porc durant cette phase, elle peut être réduite, d'autant plus que l'utilisation des phytases dans l'aliment peut favoriser la valorisation de ces apports.
- ✓ La démonstration de l'efficacité du ZnO dans le cas d'affections digestives graves et dans la maladie de l'œdème ou de diarrhées installées n'étant pas documentée, l'utilisation des antibiotiques, notamment de la colistine, ne peut être exclue dans ces contextes. L'usage de la colistine devrait être prudent et associé à une surveillance de la résistance bactérienne.
- ✓ L'autorisation éventuelle du ZnO comme prémélange médicamenteux pour les porcelets en post-sevrage devrait s'accompagner de la mise en place d'un système de surveillance de la résistance au Zn, de la résistance croisée ou co-sélectionnée à certains antibiotiques et d'une surveillance annuelle des quantités utilisées au niveau national.
- ✓ Une demande d'autorisation de mise sur le marché de prémélange médicamenteux à base de ZnO, devrait comporter :
 - Les éléments étayant précisément l'indication au regard des affections visées et au mode d'action allégué (prévention/traitement) ;
 - Les éléments étayant la posologie ;
 - Les mesures de gestion devant accompagner l'usage du produit afin de limiter le risque environnemental mis en évidence par la présente évaluation.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail

GT ZnO : 4 février 2013

CNMV : 15 janvier 2013

CES SANT : 9 janvier 2013

CES ALAN : 22 janvier 2013

7 Bibliographie

7.1 Publications

- Aarestrup, F.M. et Hasman, H., (2004). Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Veterinary Microbiology*, 100: 83-89.
- Aarestrup, F.M., Cavaco, L. et Hasman, H., (2010). Decreased susceptibility to zinc chloride is associated with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in Danish swine. *Veterinary Microbiology*, 142: 455-457.
- Adeola, O., (1995). Digestive utilization of minerals by weanling pigs fed copper- and phytase-supplemented diets. *Canadian Journal of Animal Science*, 75: 603-610.
- Agence Espagnole, (2012). Rapports Publics d'Evaluation des spécialités Apsamix, Zincopremix, Zintestin, Oxyde de zinc Calier (AEMPS).
- Agerso, Y., Hasman, H., Cavaco, L.M., Pedersen, K. et Aarestrup, F.M., (2012a). Study of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Danish pigs at slaughter and in imported retail meat reveals a novel MRSA type in slaughter pigs. *Veterinary Microbiology*, 157: 246-250.
- Agerso, Y., Torpdahl, M., Zachariassen, C., Seyfarth, A., Hammerum, A.M. et Nielsen, E.M., (2012b). Tentative colistin epidemiological cut-off value for *Salmonella* spp. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9: 367-369.
- Aliaga-Leyton, A., Webster, E., Friendship, R., Dewey, C., Vilaça, K. et Peregrine, A.S., (2011). An observational study on the prevalence and impact of *Isospora suis* in suckling piglets in southwestern Ontario, and risk factors for shedding oocysts. *Can Vet J.*, 184: 8.
- Alonso, G., VÃ-lchez, G., Bruzual, I. et RodrÃ-guez-Lemoine, V., (2002). Characterization of plasmid MIP233 (IncHI3) of the H complex. *Research in Microbiology*, 153: 149-153.
- Anjum, M.F., Mafura, M., Slickers, P., Ballmer, K., Kuhnert, P., Woodward, M.J. et Ehricht, R., (2007). Pathotyping *Escherichia coli* by using miniaturized DNA microarrays. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 5692.
- Augspurger, N.R., Spencer, J.D., Webel, D.M. et Baker, D.H., (2004). Pharmacological zinc levels reduce the phosphorus-releasing efficacy of phytase in young pigs and chickens. *Journal of Animal Science*, 82: 1732-1739.
- Baker-Austin, C., Wright, M.S., Stepanauskas, R. et McArthur, J.V., (2006). Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends in Microbiology*, 14: 176-182.
- Bao, S., Liu, M.-J., Lee, B., Besecker, B., Lai, J.-P., Guttridge, D.C. et Knoell, D.L., (2010). Zinc modulates the innate immune response in vivo to polymicrobial sepsis through regulation of NF-kappaB. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 298: L744-754.
- Bao, W.B., Ye, L., Pan, Z.Y., Zhu, J., Zhu, G.Q., Huang, X.G. et Wu, S.L., (2011). Beneficial genotype of swine FUT1 gene governing resistance to *E. coli* F18 is associated with important economic traits. *Journal of Genetics*, 90: 315-318.
- Bastian, S.N., Carle, I. et Grimon, t.F., (1998). Comparison of 14 PCR systems for the detection and subtyping of *stx* genes in Shiga-toxin-producing *Escherichia coli*. *Research in Microbiology*, 149: 457-72.
- Belloc, C., Nam Lam, D. et Laval, A., (2008). Low occurrence of colistin-resistant *Escherichia coli* in faecal content of pigs in French commercial herds. *Revue de Medecine Veterinaire*, 159: 634-637.
- Bengoechea, J.A. et Skurnik, M., (2000). Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. *Molecular Microbiology*, 37: 67-80.
- Bhuiya, M.R.H. et Cornfield, A.H., (1972). Effects of addition of 1000 ppm Cu, Ni, Pb and Zn on carbon dioxide release during incubation of soil alone and after treatment with straw. *Environ. Pollut.*, 3: 173-177.
- Bhuiya, M.R.H. et Cornfield, A.H., (1974). Incubation study on effect of pH on nitrogen mineralisation and nitrification in soils treated with 1000 ppm lead and zinc, as oxides. *Environ. Pollut.*, 7: 161-164.

- Boyen, F., Vangroenweghe, F., Butaye, P., De Graef, E., Castryck, F., Heylen, P., Vanrobaeys, M. et Haesebrouck, F., (2010). Disk prediffusion is a reliable method for testing colistin susceptibility in porcine *E. coli* strains. *Veterinary Microbiology*, 144: 359-62.
- Broes, A. et Renault, L., (1990). Nouvelle classification des souches d'*E. coli* responsables d'infection intestinale chez le porcelet.
- Buchter, B., Davidoff, B., Amacher, M.C., Hinz, C., Iskandar, I.K. et Selim, H.M., (1989). Correlation of Freundlich Kd and retention parameters with soils and elements. *Soil Sci.*, 148: 370-379.
- Buckley, W.T., (2000). Trace elements dynamics. In : J.P.F. D'Mello (eds), *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CABI Publishing, Edinburgh, UK: 161-182.
- Buff, C.E., Bollinger, D.W., Ellersieck, M.R., Brommelsiek, W.A. et Veum, T.L., (2005). Comparison of growth performance and zinc absorption, retention, and excretion in weanling pigs fed diets supplemented with zinc-polysaccharide or zinc oxide. *Journal of Animal Science*, 83: 2380-2386.
- Byun, J.W., Kim, H.Y., Jung, B.Y., Bae, Y.C. et Lee, W.K., (2012). Antimicrobial resistance and frequency of BlaTEM in *Escherichia coli* isolated from non-diarrheic and diarrheic piglets. *Korean Journal of Veterinary Research*, 52: 133-139.
- Callens, B., Boyen, F., Catry, B., Ingenbleek, A., Butaye, P., Haesebrouck, F., Maes, D., Persoons, D., Postma, M., Laanen, M. et Dewulf, J., (2012). Reply to letter to the Editor by Moore and Elborn (2012) concerning the manuscript "Prophylactic and metaphylactic antimicrobial use in Belgian fattening pig herds" by B. Callens et al. (2012) *Preventive Veterinary Medicine*.
- Calomiris, J.J., Armstrong, J.L. et Seidler, R.J., (1984). Association of metal tolerance with multiple antibiotic resistance of bacteria isolated from drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 47: 1238-42.
- Campos, M.A., Vargas, M.A., Regueiro, V., Llompart, C.M., AlbertÃ-, S. et Bengoechea, J.A., (2004). Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infection and Immunity*, 72: 7107-7114.
- Carlos, C., Pires, M., Stoppe, N., Hachich, E., Sato, M., Gomes, T., Amaral, L. et Ottoboni, L., (2010). *Escherichia coli* phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination. *BMC Microbiology*, 10: 161.
- Carlson, D., Poulsen, H.D. et Sehested, J., (2004a). Influence of weaning and effect of post weaning dietary zinc and copper on electrophysiological response to glucose, theophylline and 5-HT in piglet small intestinal mucosa. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 137: 757-765.
- Carlson, D., Poulsen, H.D. et Vestergaard, M., (2004b). Additional dietary zinc for weaning piglets is associated with elevated concentrations of serum IGF-I. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 88: 332-339.
- Carlson, D., Beattie, J.H. et Poulsen, H.D., (2007). Assessment of zinc and copper status in weaned piglets in relation to dietary zinc and copper supply. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 91: 19-28.
- Carlson, M.S., Hill, G.M. et Link, J.E., (1999). Early- and traditionally weaned nursery pigs benefit from phase-feeding pharmacological concentrations of zinc oxide: Effect on metallothionein and mineral concentrations. *Journal of Animal Science*, 77: 1199-1207.
- Carlson, M.S., Boren, C.A., Wu, C., Huntington, C.E., Bollinger, D.W. et Veum, T.L., (2004c). Evaluation of various inclusion rates of organic zinc either as polysaccharide or proteinate complex on the growth performance, plasma, and excretion of nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 82: 1359-1366.
- Casal, J., Mateu, E., Meja, W. et Martan, M., (2007). Factors associated with routine mass antimicrobial usage in fattening pig units in a high pig-density area. *Veterinary Research*, 38: 481-492.
- Case, C.L. et Carlson, M.S., (2002). Effect of feeding organic and inorganic sources of additional zinc on growth performance and zinc balance in nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 80: 1917-1924.
- Cavaco, L.M., Hasman, H., Stegger, M., Andersen, P.S., Skov, R., Fluit, A.C., Ito, T. et Aarestrup, F.M., (2010). Cloning and occurrence of *czrC*, a gene conferring cadmium and zinc resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54: 3605-3608.
- Cavaco, L.M., Hasman, H. et Aarestrup, F.M., (2011). Zinc resistance of *Staphylococcus aureus* of animal origin is strongly associated with methicillin resistance. *Veterinary Microbiology*, 150: 344-348.

- Chauvin, C., Beloeil, P.A., Orand, J.P., Sanders, P. et Madec, F., (2002). A survey of group-level antibiotic prescriptions in pig production in France. *Preventive Veterinary Medicine*, 55: 109-120.
- Chauvin, C., (2010). Étude des acquisitions de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques dans un échantillon d'élevages porcins naisseurs-engraisseurs : année 2008 et comparaison 2008/2005.
- Clausell, A., Pujol, M., Alsina, M.A. et Cajal, Y., (2003). Influence of polymyxins on the structural dynamics of Escherichia coli lipid membranes. *Talanta*, 60: 225-234.
- Clermont, O., Bonacorsi, S. et Bingen, E., (2000). Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 4555.
- Commission_european, (2003). Technical Guidance -Document on Risk Assessment-Calculation of PEC local for the soil compartment, Section 2.3.8.5.
- Commission_européenne, (2012). Registre européen des additifs en alimentation animale. *Règlement (EC) n° 1831/2003. European register of feed additives-edition 147 ; annexes 3c et 4, annex : list of additives-06.09.2012.*
- Corbin, B.D., Seeley, E.H., Raab, A., Feldmann, J., Miller, M.R. et Torres, V.J., (2008). Metal chelation and inhibition of bacterial growth in tissue abscesses. *Science*, 15: 962.
- Coupel, A., (2005). *Porc Magazine*, 390.
- Cousins, R.J., (1985). Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol. Rev*, 65: 238-309.
- Cousins, R.J. et McMahon, R.J., (2000). Integrative aspects of zinc transporters. *Journal of Nutrition*, 130 (Suppl.): 1384S-1387S.
- Cousins, R.J., Liuzzi, J.P. et Lichten, L.A., (2006). Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *Journal of Biological Chemistry*, 281: 24085-24089.
- Cox, E., Loos, M., Coddens, A., Devriendt, B., Melkebeek, V., Vanrompay, D. et Goddeeris, B.M., (2012). Post-weaning E. coli infections in pigs and importance of the immune system. *Proceedings de l'Association de Médecine Vétérinaire*.
- Crane, J.K., Naeher, T.M., Shulgina, I., Zhu, C. et Boedeker, E.C., (2007). Effect of zinc in enteropathogenic Escherichia coli infection. *Infection and Immunity*, 75: 5974-5984.
- Crane, J.K., Byrd, I.W. et Boedeker, E.C., (2011). Virulence inhibition by zinc in Shiga-toxicogenic Escherichia coli. *Infection and Immunity*, 79: 1696-1705.
- Cromwell, G.L., (2000). Antimicrobial and Promicrobial Agents. 401- 426.
- Damera, G., Xia, B. et Sachdev, G.P., (2006). IL-4 induced MUC4 enhancement in respiratory epithelial cells in vitro is mediated through JAK-3 selective signaling. *Respir. Res.*, 7: 39.
- Davies, N.T. et Nightingale, R., (1975). The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole body retention of zinc, copper, iron and manganese in rats. *British Journal of Nutrition*, 34: 243-258.
- De Busser, E.V., Dewulf, J., Zutter, L.D., Haesebrouck, F., Callens, J., Meyns, T., Maes, W. et Maes, D., (2011). Effect of administration of organics aids in drinking water on faecal shedding of E. coli, performance parameters and health in nursery pigs. *Vet. J.* 184-188.
- De Jong, A., Bywater, R., Butty, P., Deroover, E., Godinho, K., Klein, U., Marion, H., Simjee, S., Smets, K., Thomas, V., Vallé, M. et Wheadon, A., (2009). A pan-European survey of antimicrobial susceptibility towards human-use antimicrobial drugs among zoonotic and commensal enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63: 733-744.
- De jong, A., Thomas, V., Simjee, S., Godinho, K., Schiessl, B., Klein, U., Butty, P., Vallé, M., Marion, H. et Shryock, T.R., (2012a). Pan-European monitoring of susceptibility to human-use antimicrobial agents in enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67: 638-651.
- De Jong, A., Thomas, V., Simjee, S., Vallé, M., Moyaert, H., El Garch, F., Butty, P. et Klein, U., (2012b). European antimicrobial susceptibility surveillance in animals: results on enteric bacteria from healthy cattle in the EU, 3rd ASM conference on AMR in zoonotic bacteria and foodborne pathogens. ASM, Aix en Provence, France, pp. 100-101.

- De rycke, J., Milon, A. et Oswald, E., (1999). Necrotoxic *Escherichia coli* (NTEC): two emerging categories of human and animal pathogens. *Veterinary Research*, 30: 221-233.
- Decuypere, J., Dierick, N. et Boddez, S., (1998). The potentials for immunostimulatory substances in pig nutrition. *J. anim. Feed Sci.*: 259-265.
- Dewey, C.E., Johnston, W.T., Gould, L. et Whiting, T.L., (2006). Postweaning mortality in Manitoba swine. *Can J Vet Res*, 70: 161-7.
- Dieppo, G., Ducret, V., Caille, O. et Perron, K., (2012). The transcriptional regulator CzcR modulates antibiotic resistance and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS ONE*, 7.
- Dourmad, J.Y., Pomar, C. et Massé, D., (2002). Modélisation du flux de composés à risque pour l'environnement dans un élevage porcin. *Journées de la Recherche Porcine*, 34: 183-194.
- Dritz, S.S., Shi, J., Kielian, T.L., Goodband, R.D., Nelssen, J.L., Tokach, M.D., Chengappa, M.M., Smith, J.E. et Blecha, F., (1995). Influence of dietary β -glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. *Journal of Animal Science*: 3341-3350.
- Edwards, H.M. et Baker, D.H., (1999). Bioavailability of zinc in several sources of zinc oxide, zinc sulfate, and zinc metal. *Journal of Animal Science*, 77: 2730-2735.
- EFSA, (2012). Scientific Opinion on safety and efficacy of zinc compounds (E6) as feed additive for all animal species: Zinc oxide, based on a dossier submitted by Grillo Zinkoxid GmbH/EMFEMA. *EFSA Journal*, 2970.
- EMA dossier LMR, (1996). summary report EMEA/MRL/113/96-FINAL.
- EMA, (2005). Environmental Impact Assessment for Veterinary Medicinal Products in support of the VICH guidelines GL6 and GL38, EMEA/CVMP/ERA/418282/2005-Rev.1.
- Enne, V.I., Cassar, C., Sprigings, K., Woodward, M.J. et Bennett, P.M., (2008). A high prevalence of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from pigs and a low prevalence of antimicrobial resistant *E. coli* from cattle and sheep in Great Britain at slaughter. *FEMS Microbiology Letters*, 278: 193-199.
- Escobar-Páramo, P., Clermont, O., Blanc-Potard, A.B., Bui, H., Le Bouguéneq, C. et Denamur, E., (2004). A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol Biol Evol.*, 21: 1085.
- EUCAST: <http://www.srga.org/eucastwt/MICTAB/index.html>.
- Fairbrother, J.M., (1993). Les colibacilloses du porc. *Ann.Méd. Vét.*, 137: 369-375.
- Fairbrother, J.M., (2002). Physiologie et facteurs de risque de la diarrhée colibacillaire. *Communication aux RIPP*.
- Fairbrother, J.M., Nadeau, E. et Gyles, C.L., (2005). *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Animal Health Research Reviews*, 6: 17-39.
- Fairbrother, J.M. et Gyles, C.L., (2006). *Escherichia coli* infections. *Diseases of Swine*, 9th Edition: 639-674.
- Fairbrother, J.M. et Gyles, C.L., (2012). *Escherichia coli* infections. *Diseases of Swine*, 10th edition.
- Falagas, M.E. et Kasiakou, S.K., (2005). Colistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, 40: 1333-1341.
- Falagas, M.E., Rafailidis, P.I. et Matthaïou, D.K., (2010). Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Updates*, 13: 132-138.
- Fard, R.M., Heuzenroeder, M.W. et Barton, M.D., (2011). Antimicrobial and heavy metal resistance in commensal enterococci isolated from pigs. *Veterinary Microbiology*, 148: 276-82.
- Felder, C.B., Vorlaender, N., Gander, B., Merkle, H.P. et Bertschinger, H.U., (2000). Microencapsulated enterotoxigenic *Escherichia coli* and detached fimbriae for peroral vaccination of pigs. *Vaccine*, 19: 706-715.
- Fernandes, G., Nair, M., Onoe, K., Tanaka, T., Floyd, R. et Good, R.A., (1979). Impairment of cell-mediated immunity functions by dietary zinc deficiency in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76: 457-461.
- Ford, D., (2004). Intestinal and placental zinc transport pathways. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63: 21-29.
- Fraker, P., King, L., Garvy, B. et Medina, C., (1993). Immunopathology of zinc deficiency: a role for apoptosis. in: *Human nutrition: A comprehensive treatise* (Klurfeld D. Ed), 8: 267-283.

- Gales, A.C., Jones, R.N. et Sader, H.S., (2011). Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: Results from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2006-09). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66: 2070-2074.
- Gallois, M.P. et Oswald, I., (2009). Les additifs immunomodulateurs dans l'alimentation du porcelet sont-ils une alternative aux antimicrobiens facteurs de croissance? *Journées Recherche Porcine*: 79-88.
- Ghosh, S., Mahapatra, N.R. et Banerjee, P.C., (1999). Cloning of metal-resistance conferring genes from an Acidocella strain, *Process Metallurgy*, pp. 21-28.
- Ghosh, S., Mahapatra, N.R., Nandi, S. et Banerjee, P.C., (2005). Integration of metal-resistant determinants from the plasmid of an Acidocella strain into the chromosome of Escherichia coli DH5 α . *Current Microbiology*, 50: 28-32.
- Giakkoupi, P., Vourli, S., Polemis, M., Kalapothaki, V., Tzouveleki, L.S. et Vatopoulos, A.C., (2008). Supplementation of growth media with Zn²⁺ facilitates detection of VIM-2-producing Pseudomonas aeruginosa. *Journal of Clinical Microbiology*, 46: 1568-1569.
- Gibson, G.R., Probert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A. et Roberfroid, M.B., (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition research reviews* 17: 259-75.
- Gong, J., Yu, H., Liu, T., Li, M., Si, W., De Lange, C. et Dewey, C., (2008). Characterization of ileal bacterial microbiota in newly-weaned pigs in response to feeding lincomycin, organic acids or herbal extracts. *Livestock Science*, 116: 318-322.
- Groisman, E.A., Kayser, J. et Soncini, F.C., (1997). Regulation of polymyxin resistance and adaptation to low-Mg²⁺ environments. *Journal of Bacteriology*, 179: 7040-7045.
- Habrun, B., Dragica, S., Kompes, G. et Beni, M., (2011). Antimicrobial susceptibility of enterotoxigenic strains of Escherichia coli isolated from weaned pigs in Croatia. *Acta Veterinaria*, 61: 585-590.
- Haeryfar, S.M. et Berczi, I., (2001). The thymus and the acute phase response. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 47: 145-156.
- Hahn, J.D. et Baker, D.H., (1993). Growth and plasma zinc responses of young pigs fed pharmacologic levels of zinc. *Journal of Animal Science*, 71: 3020-3024.
- Hambidge, K.M., Miller, L.V., Westcott, J.E., Sheng, X.Y. et Krebs, N.F., (2010). Zinc bioavailability and homeostasis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 91: 1478S-1483S.
- Hammer, K.A., Carson, C.F. et Riley, T.V., (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*: 985-990.
- Han, D.U., Choi, C., Kim, J., Cho, W.S., Chung, H.K., Ha, S.K., Jung, K. et Chae, C., (2002). Anti-microbial susceptibility for east1 + Escherichia coli isolated from diarrheic pigs in Korea. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 49: 346-348.
- Han, Y.K. et Thacker, P.A., (2009). Performance, Nutrient Digestibility and Nutrient Balance in Weaned Pigs Fed Diets Supplemented with Antibiotics or Zinc Oxide. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 868-875.
- Hancock, V., Dahl, M. et Klemm, P., (2010). Abolition of biofilm formation in urinary tract escherichia coli and klebsiella isolates by metal interference through competition for fur. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 3836-3841.
- Harada, K., Asai, T., Kojima, A., Oda, C., Ishihara, K. et Takahashi, T., (2005). Antimicrobial susceptibility of pathogenic Escherichia coli isolated from sick cattle and pigs in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 67: 999-1003.
- Harrison, J.J., Ceri, H. et Turner, R.J., (2007). Multimetal resistance and tolerance in microbial biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 5: 928-938.
- Hasman, H., Franke, S. et Rensing, C., (2006). Resistance to metals used in agriculture production. In: F.M. Aarestrup (Editor), Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press, Washington, DC, pp. 99-114.
- Hedemann, M.S., Jensen, B.B. et 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.
- Herzer, P.J., Inouye, S., Inouye, M. et Whittam, T.S., (1990). Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of Escherichia coli. *Journal of Bacteriology*, 172: 6175-6181.

- Hill, G.M., Cromwell, G.L., Crenshaw, T.D., Dove, C.R., Ewan, R.C., Knabe, D.A., Lewis, A.J., Libal, G.W., Mahan, D.C., Shurson, G.C., Southern, L.L. et Veum, T.L., (2000). Growth promotion effects and plasma changes from feeding high dietary concentrations of zinc and copper to weanling pigs (regional study). *Journal of Animal Science*, 78: 1010-1016.
- 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. et Veum, T.L., (2001). Effect of pharmacological concentrations of zinc oxide with or without the inclusion of an antibacterial agent on nursery pig performance. *Journal of Animal Science*, 79: 934-941.
- Højberg, O., Canibe, N., Poulsen, H.D., Hedemann, M.S. et Jensen, B.B., (2005). Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 2267-2277.
- Hollis, G.R., Carter, S.D., Cline, T.R., Crenshaw, T.D., Cromwell, G.L., Hill, G.M., Kim, S.W., Lewis, A.J., Mahan, D.C., Miller, P.S., Stein, H.H. et Veum, T.L., (2005). Effects of replacing pharmacological levels of dietary zinc oxide with lower dietary levels of various organic zinc sources for weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 83: 2123-2129.
- Höllzel, C.S., Schwaiger, K., Harms, K., Kochenhoff, H., Kunz, A., Meyer, K., Moller, C. et Bauer, J., (2010). Sewage sludge and liquid pig manure as possible sources of antibiotic resistant bacteria. *Environmental Research*, 110: 318-326.
- Höllzel, C.S., Müller, C., Harms, K.S., Mikolajewski, S., SchÄ¶fer, S., Schwaiger, K. et Bauer, J., (2012). Heavy metals in liquid pig manure in light of bacterial antimicrobial resistance. *Environmental Research*, 113: 21-27.
- Hopwood, D., Pethick, D., Pluske, J.R. et Hampson, D.J., (2004). Addition of pearl barley to a rice-based diet for newly weaned piglets increases the viscosity of the intestinal contents, reduces starch digestibility and exacerbates post-weaning colibacillosis. *British Journal of Nutrition*, 92: 419-427.
- Hu, C.H., GU, L.Y., Luan, Z.S., Song, J. et Zhu, K., (2012). Effects of montmorillonite-zinc oxide hybrid on performance, diarrhea, intestinal permeability and morphology of weanling pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 177: 108-115.
- Huang, C., Qiao, S., Li, D., Piao, X. et Ron, J., (2004). Effects of lactobacilli on performance, diarrhea incidence, VFA concentration and gastrointestinal microbial flora of weaning pigs. *Journal of Animal Science*, 17: 401-409.
- Hur, J. et Lee, J.H., (2012). Development of a novel live vaccine delivering enterotoxinogenic *Escherichia coli* fimbrial antigens to prevent post-weaning diarrhea in piglets. *Vet Immunol Immunopathol*, 146: 283-288.
- INRA, (1989). L'alimentation des animaux monogastriques : porcs, lapins, volailles. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.
- Jacob, M.E., Fox, J.T., Nagaraja, T.G., Drouillard, J.S., Amachavadi, R.G. et Narayanan, S.K., (2010). Effects of feeding elevated concentrations of copper and zinc on the antimicrobial susceptibilities of fecal bacteria in feedlot cattle. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7: 643-648.
- Jamalludeen, N., Johnson, R.P., Friendship, R., Kropinski, A.M., Lingohr, E.J. et Giles, C.L., (2007). Isolation and characterization of nine bacteriophages that lyse O149 enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*, 124: 47-57.
- Jensen-Waern, M., Melin, L., Lindberg, R., Johannisson, A., Petersson, L. et Wallgren, P., (1998). Dietary zinc oxide in weaned pigs - Effects on performance, tissue concentrations, morphology, neutrophil functions and faecal microflora. *Research in Veterinary Science*, 64: 225-231.
- Jin, T., Sun, D., Su, J.Y., Zhang, H. et Sue, H.J., (2009). Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, and *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Science*, 74: M46-M52.
- Joensuu, J.J., Verdonck, F., Ehrström, A., Peltola, M., Siljander-Rasi, H., Nuutila, A.M., Oksman-Caldentey, K.M., Teeri, T.H., Cox, E., Goddeeris, B.M. et Niklander-Teeri, V., (2006). F4 (K88) fimbrial adhesin FaeG expressed in alfalfa reduces F4+ enterotoxigenic *Escherichia coli* excretion in weaned piglets. *Vaccine*, 24: 2387-2394.
- Jondreville, C., Revy, P.S. et Dourmad, J.Y., (2003). Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter. *Livestock Production Science*, 84: 147-156.
- Jondreville, C., Hayler, R. et Feuerstein, D., (2005). Replacement of zinc sulphate by microbial phytase for piglets given a maize-soya-bean meal diet. *Animal*, 1: 77-83.

- JRC-IHCP, (2010). European Union Risk Assessment Report Zinc Metal.
- Katouli, M., Melin, L., Jensen-Waern, M., Wallgren, P. et Mollby, R., (1999). The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs. *Journal of Applied Microbiology*, 87: 564-73.
- Kijima-Tanaka, M., Ishihara, K., Morioka, A., Kojima, A., Ohzono, T., Ogikubo, K., Takahashi, T. et Tamura, Y., (2003). A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51: 447-451.
- Kim, J., Ha, Y., Jung, K., Choi, C. et Chae, C., (2004). Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res*, 68: 218-21.
- Kim, J.D., Hyun, Y., Sohn, K.S., Woo, H.J., Kim, T.J. et Han, I.K., (2000). Effects of immunostimulators on growth performance and immune response in pigs weaned at 21 days of age. *J. anim. Feed Sci.*: 333-346.
- Kim, S.J., Kim, J.H., Jun, S.Y. et Han, J.H., (2012). The protective effect of bacteriophage against *Escherichia coli* infection on weaned pigs. *Proceedings of the 22nd IPVS, Korea.*: 651.
- Kimiran-Erdem, A., Arslan, E.O., Sanli Yurudu, N.O., Zeybek, Z., Dogruoz, N. et Cotuk, A., (2007). Isolation and identification of enterococci from seawater samples: Assessment of their resistance to antibiotics and heavy metals. *Environmental Monitoring and Assessment*, 125: 219-228.
- King, J.C., (1990). Assessment of zinc status. *Journal of Nutrition*, 120: 1474-1479.
- Kitamura, H., Morikawa, H., Kamon, H., Iguchi, M., Hojyo, S., Fukada, T., Yamashita, S., Kaisho, T., Akira, S., Murakami, M. et Hirano, T., (2006). Toll-like receptor-mediated regulation of zinc homeostasis influences dendritic cell function. *Nature immunology*, 7: 971-977.
- Knoell, D.L., Julian, M.W., Bao, S., Besecker, B., Macre, J.E., Leikauf, G.D., DiSilvestro, R.A. et Crouser, E.D., (2009). Zinc deficiency increases organ damage and mortality in a murine model of polymicrobial sepsis. *Critical care medicine*, 37: 1380-1388.
- Krebs, N.F., (2000). Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *Journal of Nutrition*, 130: 1374S-1377S.
- Kuroda, M., Hayashi, H. et Ohta, T., (1999). Chromosome-determined zinc-responsive operon *czr* in *Staphylococcus aureus* strain 912. *Microbiol Immunol*, 43: 115-25.
- Lacher, D.W., Steinsland, H., Blank, T.E., Donnenberg, M.S. et Whittam, T.S., (2007). Molecular evolution of typical enteropathogenic *Escherichia coli*: clonal analysis by multilocus sequence typing and virulence gene allelic profiling. *Journal of Bacteriology*, 189: 342.
- Lacour, S., Bechet, E., Cozzone, A.J., Mijakovic, I. et Grangeasse, C., (2008). Tyrosine phosphorylation of the UDP-glucose dehydrogenase of *Escherichia coli* is at the crossroads of colanic acid synthesis and polymyxin resistance. *PLoS ONE*, 3.
- Lallès, J.P., Bosi, P., Smidt, H. et Stokes, C.R., (2007a). Weaning - A challenge to gut physiologists. *Livestock Science*, 108: 82-93.
- Lallès, J.P., Favier, C. et Jondreville, C., (2007b). A diet moderately deficient in zinc induces limited intestinal alterations in weaned pigs. *Livestock Science*, 108: 153-155.
- Lankeshwar, N. et Bagde, U.S., (2008). Mechanism of zinc resistance in *Shigella Dysenteriae*. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 10: 893-897.
- Le Guennec, J., (2012). *Communication à la réunion de l'Association Française de Médecine Vétérinaire Porcine*.
- Lee, L.J., Barrett, J.A. et Poole, R.K., (2005). Genome-wide transcriptional response of chemostat-cultured *Escherichia coli* to zinc. *Journal of Bacteriology*, 187: 1124-34.
- Leonard, S.G., Sweeney, T. et Bahar, B., (2011). Effect of dietary seaweed extracts and fish oil supplementation in sows on performance, intestinal microflora, intestinal morphology, volatile fatty acid concentrations and immune status of weaned pigs. *British Journal of Nutrition*: 549-560.
- Li, B.T., Van Kessel, A.G., Caine, W.R., Huang, S.X. et Kirkwood, R.N., (2001). Small intestinal morphology and bacterial populations in ileal digesta and feces of newly weaned pigs receiving a high dietary level of zinc oxide. *Canadian Journal of Animal Science*, 81: 511-516.

- Li, J., Xing, J. et Li, D., (2005). Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on humoral and cellular immunity in weaned piglets. *Arch Anim Nutr.* 309-312.
- Li, J., Xing, J.J., Cheng, Z.B. et Lai, C.H., (2006a). Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotrophic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Journal of Animal Science*: 2374-2381.
- Li, X.L., Yin, J.D., Li, D.F., Chen, X.J., Zang, J.J. et Zhou, X., (2006b). Dietary supplementation with zinc oxide increases IGF-I and IGF-I receptor gene expression in the small intestine of weanling piglets. *Journal of Nutrition*, 136: 1786-1791.
- Lisec, (1997). Alga, Growth Inhibition Test - Effect of Red Seal Zinc Oxide on the Growth of *Selenastrum capricornutum*. Study no. WE-06-142 (year of test: 1997), LISEC, Genk, Belgium (Sponsor: Zinc Oxide Producers Association S.G. (ZOPA), Brussels, Belgium).
- Lizardo, R., Torrallardona, D. et Brufau, J., (2004). Zinc oxide in phytase-low phosphorus diets impairs performance of weanling pigs. *Book of Abstracts of the 55th Annual Meeting of European Association for Animal Production, Bled, Slovenia*: 276.
- Lock et Janssen, (2003). Comparative toxicity of a zinc salt, zinc powder and zinc oxide to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus* and *Folsomia candida*. *Chemosphere*, 53.
- Lu, L., Dai, L., Wang, Y., Wu, C., Chen, X., Li, L., Qi, Y., Xia, L. et Shen, J., (2010). Characterization of antimicrobial resistance and integrons among *Escherichia coli* isolated from animal farms in Eastern China. *Acta Tropica*, 113: 20-25.
- Madec, F., Bridoux, N., Bounaix, S. et Jestin, A., (1998). Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. *Prev Vet Med* 5: 53-72.
- Mahan, D.C. et Shields, R.G., (1998). Macro- and micromineral composition of pigs from birth to 145 kilograms of body weight. *Journal of Animal Science*, 76: 506-512.
- Mainil, J., (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli*. *Ann. Méd. Vét*, 147: 105-126.
- Malik, A. et Aleem, A., (2011). Incidence of metal and antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. from the river water, agricultural soil irrigated with wastewater and groundwater. *Environmental Monitoring and Assessment*, 178: 293-308.
- Marchand, D., Perrin, H., Retureau, M., d'Incar, R., Auclair, E. et Laval, A., (2012). Effets d'une souche vivante de *Saccharomyces cerevisiae* sur la diarrhée colibacillaire du post-sevrage et la réduction des traitements antibiotiques. *Journées de la recherche Porcine en France (sous presse)*
- Martineau, G.P. et Morvan, H., (2010). *Maladies d'élevage des porcs* 2ème édition.
- Martinez-Montemayor, M.M., Hill, G.M., Raney, N.E., Rilmington, V.D., Tempelman, R.J., Link, J.E., Wilkinson, C.P., Ramos, A.M. et Ernst, C.W., (2008). Gene expression profiling in hepatic tissue of newly weaned pigs fed pharmacological zinc and phytase supplemented diets. *Bmc Genomics*, 9: 14.
- Martinez, M.M., Hill, G.M., Link, J.E., Raney, N.E., Tempelman, R.J. et Ernst, C.W., (2004). Pharmacological zinc and phytase supplementation enhance metallothionein mRNA abundance and protein concentration in newly weaned pigs. *Journal of Nutrition*, 134: 538-544.
- Mavromichalis, I., Peter, C.M., Parr, T.M., Ganessunker, D. et Baker, D.H., (2000). Growth-promoting efficacy in young pigs of two sources of zinc oxide having either a high or a low bioavailability of zinc. *Journal of Animal Science*, 78: 2896-2902.
- Melkebeek, V., Goddeeris, B.M. et Cox, E., (2012). ETEC vaccination in pigs. *Vet Immunol Immunopathol.*, 2427: 354-356.
- Mergeay, M., Monchy, S., Vallaeys, T., Auquier, V., Benotmane, A., Bertin, P., Taghavi, S., Dunn, J., Van Der Lelie, D. et Wattiez, R., (2003). *Ralstonia metallidurans*, a bacterium specifically adapted to toxic metals: Towards a catalogue of metal-responsive genes. *FEMS Microbiology Reviews*, 27: 385-410.
- Meyer, C., Joachim, A. et Dausgchies, A., (1999). Occurrence of *Isospora suis* in larger piglet production units and on specialized piglet rearing farms. *Vet Parasitol*, 82: 277-84.

- Meyer, T.A., Lindemann, M.D., Cromwell, G.L., Monegue, H.J. et Inocencio, N., (2002). Effects of pharmacological levels of zinc as zinc oxide on fecal zinc and mineral excretion in weanling pigs. *The Professional Animal Scientist*, 18: 162-168.
- Mocchegiani, E., Corradi, A., Santarelli, L., Tibaldi, A., DeAngelis, E., Borghetti, P., Bonomi, A., Fabris, N. et Cabassi, E., (1998). Zinc, thymic endocrine activity and mitogen responsiveness (PHA) in piglets exposed to maternal aflatoxicosis B1 and G1. *Vet Immunol Immunopathol*, 62: 245-260.
- Mocchegiani, E., Giacconi, R., Cipriano, C., Costarelli, L., Muti, E., Tesei, S., Giuli, C., Papa, R., Marcellini, F., Mariani, E., Rink, L., Herbein, G., Varin, A., Fulop, T., Monti, D., Jajte, J., Dedoussis, G., Gonos, E.S., Trougakos, I.P. et Malavolta, M., (2007). Zinc, metallothioneins, and longevity--effect of zinc supplementation: zincage study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1119: 129-146.
- Moehle, C., Ackermann, N., Langmann, T., Aslanidis, C., Kel, A. et Kel-Margoulis, O., (2006). Aberrant intestinal expression and allelic variants of mucin genes associated with inflammatory bowel disease. *J. Mol. Med*, 84: 1055-1066.
- Molist, F., Hermes, R.G., de Segura, A.G., Martin-Orue, S.M., Gasa, J., Manzanilla, E.G. et Perez, J.F., (2011). Effect and interaction between wheat bran and zinc oxide on productive performance and intestinal health in post-weaning piglets. *British Journal of Nutrition*, 105: 1592-1600.
- Mondragon, V.A., Llamas-Pérez, D.F., Gonzalez-Guzman, G.E., Marquez-Gonzalez, A.R., Padilla-Noriega, R., Duran-Avelar, M.D.J. et Franco, B., (2011). Identification of *Enterococcus faecalis* bacteria resistant to heavy metals and antibiotics in surface waters of the Mololoa River in Tepic, Nayarit, Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*, 183: 329-340.
- Montagne, L., Cavaney, F.S., Hampson, D., Lallès, J.P. et Pluske, J.R., (2004). Effect of diet composition on postweaning colibacillosis in piglets. *Journal of Animal Science*, 8: 2364-2374.
- Monteiro, Lofts et Boxall, (2010). Pre-Assessment of Environmental Impact of Zinc and Copper Used.
- Moodley Arshnee, A., Nielsen, S.S. et Guardabassi, L., (2011). Effects of tetracycline and zinc on selection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sequence type 398 in pigs. *Veterinary Microbiology*, 152: 420-423.
- Morales, J., Cordero, G., Pineiro, C., Pineiro, M. et Durosoy, S., (2012). Potentiated zinc oxide at low supplementation level improves productive performance and health status of piglets. *Proceedings of the 22nd IPVS, Korea*: 87.
- Mroz, Z., (2005). Organic Acids as Potential Alternatives to Antibiotic Growth Promoters for Pigs. *Advances in Pork Production*, 16: 169.
- Namkung, H., Li, M., Gong, J., Yu, H., Cottrill, M. et De Lange, C., (2004). Impact of feeding blends of organics acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 697: 704.
- Nies, D.H., (2003). Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 27: 313-339.
- Nishino, K., Nikaido, E. et Yamaguchi, A., (2007). Regulation of multidrug efflux systems involved in multidrug and metal resistance of *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 189: 9066-9075.
- NORM/NORM-VET, (2012). Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway.
- Nowak, J.E., Harmon, K., Caldwell, C.C. et Wong, H.R., (2012). Prophylactic zinc supplementation reduces bacterial load and improves survival in a murine model of sepsis. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*, 13: e323-329.
- NRC, (1998). Nutrient requirements of swine. National Academy Press, Washington DC.
- Nucifora, G., Chu, L., Misra, T.K. et Silver, S., (1989). Cadmium resistance from *Staphylococcus aureus* plasmid pI258 cadA gene results from a cadmium-efflux ATPase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86: 3544-3548.
- O'Dell, B.L., (1989). Mineral interactions relevant to nutrient requirements. *Journal of Nutrition*, 119: 1832-1838.
- Oberleas, D., Muhrer, M.E. et O'Dell, B.L., (1962). Effects of phytic acid on zinc availability and parakeratosis in swine. *Journal of Animal Science*, 21: 57-61.
- Oberleas, D., Muhrer, M.E. et O'Dell, B.L., (1966). Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat. *Journal of Nutrition*, 90: 56-62.

- Ou, D.Y., Li, D.F., Ca, Y.H., Li, X.L., Yin, J.D., Qiao, S.Y. et Wu, G.Y., (2006). Dietary supplementation with zinc oxide decreases expression of the stem cell factor in the small intestine of weanling pigs. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18: 820-826.
- Partanen, K.H. et Mroz, Z., (1999). Organic acids on performance enhancement in pig diets. *Nutrition research reviews* 117-145.
- Perron, K., Caille, O., Rossier, C., Van Delden, C., Dumas, J.L. et Kähler, T., (2004). CzcR-CzcS, a Two-component System Involved in Heavy Metal and Carbapenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biological Chemistry*, 279: 8761-8768.
- Pluske, J.R., Siba, P.M., Pethick, D.W., Durmic, Z., Mullan, B.P. et Hampson, D.J., (1996). The incidence of swine dysentery in pigs can be reduced by feeding diets that limit the amount of fermentable substrate entering the large intestine. *Journal of Nutrition*, 11: 2920-2933.
- Pointillart, A., (1994). Phytates, phytases : leur importance dans l'alimentation des monogastriques. *INRA Prod. Anim.*, 7: 29-39.
- Pollman, D.S., Danielson, D.M. et Peo, E.R., (1980). Effect of lactobacillus acidophilus on starter pigs fed a diet supplemented with lactose. *Journal of Animal Science*, 51: 638-644.
- Poston, S.M. et Li Saw Hee, F.L., (1991). Genetic characterisation of resistance to metal ions in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: elimination of resistance to cadmium, mercury and tetracycline with loss of methicillin resistance. *Journal of Medical Microbiology*, 34: 193-201.
- Poulsen, H.D. et Larsen, T., (1995). Zinc excretion and retention in growing pigs fed increasing levels of zinc oxide. *Livestock Production Science*, 43: 235-242.
- Prasad, A.S., Meftah, S., Abdallah, J., Kaplan, J., Brewer, G.J., Bach, J.F. et Dardenne, M., (1988). Serum thymulin in human zinc deficiency. *The Journal of clinical investigation*, 82: 1202-1210.
- Prasad, A.S., (2000). Effects of zinc deficiency on Th1 and Th2 cytokine shifts. *J. Infect. Dis.*, 182.
- Prasad, A.S., (2008). Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, 14: 353-357.
- Prasad, T. et Kundu, M.S., (1995). Serum IgG and IgM responses to sheep red blood cells (SRBC) in weaned calves fed milk supplemented with Zn and Cu. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 11: 712-715.
- Rahman, M.J., Sarker, P., Roy, S.K., Ahmad, S.M., Chisti, J. et Azim, T., (2005). Effects of zinc supplementation as adjunct therapy on the systemic immune responses in shigellosis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81: 495-502.
- Raqib, R., Roy, S.K., Rahman, M.J., Azim, T., Ameer, S.S. et Chisti, J., (2004). Effect of zinc supplementation on immune and inflammatory responses in pediatric patients with shigellosis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 79: 444-450.
- Revy, P.S., Jondreville, C., Dourmad, J.Y., Guinotte, F. et Nys, Y., (2002). Bioavailability of two sources of zinc in weanling pigs. *Animal Research*, 51: 315-326.
- Revy, P.S., Jondreville, C., Dourmad, J.Y. et Nys, Y., (2003). Le zinc dans l'alimentation du porc : oligoélément essentiel et risque potentiel pour l'environnement. *INRA Productions Animales*, 16: 3-18.
- Reynolds, (2010). The Animal Consortium. *Animal*, 4: 8.
- Rincker, M.J., Hill, G.M., Link, J.E., Meyer, A.M. et Rowntree, J.E., (2005). Effects of dietary zinc and iron supplementation on mineral excretion, body composition, and mineral status of nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 83: 2762-2774.
- Rodrigues-Filho, U.P., Vaz, S.J., Felicissimo, M.P., Scarpellini, M., Cardoso, D.R., Vinhas, R.C.J., Landers, R., Schneider, J.F., Mc Garvey, B.R., Andersen, M.L. et S.L.H., (2005). Heterometallic manganese/zinc-phytate complex as a model compound for metal storage in wheat grains. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99.
- Roselli, M., Finamore, A., Garaguso, I., Britti, M.S. et Mengheri, E., (2003). Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by *Escherichia coli*. *The Journal of nutrition*, 133: 4077-4082.
- Royer, E., Gourmelen, C. et Rugraff, Y., (2001). Bannissement des facteurs de croissance antibiotiques en Europe: Quelles conséquences pour les producteurs de porcs? *Porc-Québec*.
- Rucker, R.B., Lönnedal, B. et Keen, C.L., (1994). Intestinal absorption of nutritionally important trace elements. In : Johnson L.R. (ed), *Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York: 2183-2202.

- Sargeant, H.R., McDowall, K.J., Miller, H.M. et Shaw, M.-A., (2010a). Dietary zinc oxide affects the expression of genes associated with inflammation: Transcriptome analysis in piglets challenged with ETEC K88. *Vet Immunol Immunopathol*, 137: 120-129.
- Sargeant, H.R., Shaw, M.A., Abuoun, M., Collins, J.W., Woodward, M.J., La Ragione, R.M. et Miller, H.M., (2010b). The metabolic impact of zinc oxide on porcine intestinal cells and enterotoxigenic Escherichia coli K88. *Livestock Science*, 133: 45-48.
- Sargeant, H.R., Miller, H.M. et Shaw, M.A., (2011). Inflammatory response of porcine epithelial IPEC J2 cells to enterotoxigenic E. coli infection is modulated by zinc supplementation. *Molecular Immunology*, 48: 2113-2121.
- Sauerwein, H., Schmitz, S. et Hiss, S., (2007). Effects of a dietary application of a yeast cell wall extract on innate and acquired immunity, on oxidative status and growth performance in weaning piglets and on the ileal epithelium in fattened pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 369-380.
- Schlegel, P., Sauvants, D. et Jondreville, C., (2012). Bioavailability of zinc sources and their interaction with phytates and phytases in broilers and piglets. *Animal Feed Science and Technology*, in press.
- Scientific Committee for Animal Nutrition (SCAN), (2003). Opinion of the scientific Committee for animal Nutrition on the use of zinc in feedingstuffs.
- Shankar, A.H. et Prasad, A.S., (1998). Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68: 447S-463S.
- Slade, R.D., Kyriazakis, I., Carroll, S.M., Reynolds, F.H., Wellock, I.J., Broom, L.J. et Miller, H.M., (2011). Effect of rearing environment and dietary zinc oxide on the response of group-housed weaned pigs to enterotoxigenic Escherichia coli O149 challenge. *Animal*, 5: 1170-1178.
- Smith-palmer, A., Stewart, J. et Fyfe, L., (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol*: 118-122.
- Sohn, K.S., (2000). The role of immunostimulants in monogastric animal and fish. *Review. J. Anim. Sci*: 1178-1187.
- Spears, J.W., (2000). Micronutrients and immune function in cattle. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 59: 587-594.
- Spears, J.W. et Kegley, E.B., (2002). Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. *Journal of animal science*, 80: 2747-2752.
- Swinkels, J.W.G.M., Kornegay, E.T. et Verstegen, M.W.A., (1994). Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. *Nutrition Research Reviews*, 7: 129-149.
- Taina, M.L., Tapani, L., Maija, Y. et Marjukka, A., (2008). Risk factors for post-weaning diarrhoea on piglet producing farms in Finland. *Acta Vet Scand.*, 50: 21.
- Tam, K.H., Djurić, A.B., Chan, C.M.N., Xi, Y.Y., Tse, C.W., Leung, Y.H., Chan, W.K., Leung, F.C.C. et Au, D.W.T., (2008). Antibacterial activity of ZnO nanorods prepared by a hydrothermal method. *Thin Solid Films*, 516: 6167-6174.
- Tan, T.Y. et Ng, L.S.Y., (2006). Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58: 864-867.
- Tan, T.Y. et Ng, S.Y., (2007). Comparison of Etest, Vitek and agar dilution for susceptibility testing of colistin. *Clinical Microbiology and Infection*, 13: 541-544.
- Thymann, T., Sørensen, K.U., Hedemann, M.S., Elnif, J., Jensen, B.B., Banga-Mboko, H., Leser, T.D., T.D. et Sangild, P.T., (2007). Antimicrobial treatment reduces intestinal microflora and improves protein digestive capacity without changes in villous structure in weanling pigs. *British Journal of Nutrition*, 97: 1128-1137.
- Tiels, P., Verdonck, F., Coddens, A., Ameloot, P., Goddeeris, B.M. et Cox, E., (2007). Monoclonal antibodies reveal a weak interaction between the F18 fimbrial adhesin FedF and the major subunit FedA. *Veterinary Microbiology*, 119: 115-120.
- Top, E., Mergeay, M., Springael, D. et Verstraete, W., (1990). Gene escape model: Transfer of heavy metal resistance genes from Escherichia coli to Alcaligenes eutrophus on agar plates and in soil samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 2471-2479.

- Touchon, M., Hoede, C., Tenailon, O., Barbe, V., Baeriswyl, S., Bidet, P., Bingen, E., Bonacorsi, S., Bouchier, C., Bouvet, O., Calteau, A., Chiapello, H., Clermont, O., Cruveiller, S., Danchin, A., Diard, M., Dossat, C., Karoui, M.E., Frapy, E., Garry, L., Ghigo, J.M., Gilles, A.M., Johnson, J., Le Bouguéneq, C., Lescat, M., Mangenot, S., Martinez-Jéhanne, V., Matic, I., Nassif, X., Oztas, S., Petit, M.A., Pichon, C., Rouy, Z., Ruf, C.S., Schneider, D., Tourret, J., Vacherie, B., Vallenet, D., Médigue, C., Rocha, E.P. et Denamur, E., (2009). Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS One Genet*, 10: 1371.
- Tzianobos, A.O., (2000). Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. *Clin. Microbiol.*: 523-533.
- Uemura, R., Sueyoshi, M., Nagayoshi, M. et Nagatomo, H., (2003). Antimicrobial susceptibilities of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from pigs with edema disease in Japan. *Microbiology and Immunology*, 47: 57-61.
- Uemura, R., Sueyoshi, M., Taura, Y. et Nagatomo, H., (2004). Effect of antimicrobial agents on the production and release of shiga toxin by enterotoxaemic *Escherichia coli* isolates from pigs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66: 899-903.
- Underwood, E.J., (1977). Zinc. In : Trace Elements in Human and Animal Nutrition, Ed. 4. *Academic Press Inc., London, UK*: 196-242.
- Vahjen, W., Pieper, R. et Zentek, J., (2010). Bar-coded pyrosequencing of 16S rRNA gene amplicons reveals changes in ileal porcine bacterial communities due to high dietary zinc intake. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 6689-91.
- Vahjen, W., Pieper, R. et Zentek, J., (2011). Increased dietary zinc oxide changes the bacterial core and enterobacterial composition in the ileum of piglets. *Journal of Animal Science*, 89: 2430-9.
- Vahjen, W., Zentek, J. et Durosoy, S., (2012). Inhibitory action of analytical grade and of a new potentiated form of zinc oxide on the ex vivo growth of porcine small intestine bacteria. *Proceedings of the 22nd IPVS, Korea*: 85.
- Vallee, B.L., (1983). Zinc in biology and biochemistry. *Spiro T.G. (eds), Zinc Enzymes*, 1-24.
- Van den Broeck, W., Cox, E. et Goddeeris, B.M., (1999a). Induction of immune responses in pigs following oral administration of purified F4 fimbriae. *Vaccine*, 17: 2020-2029.
- Van den Broeck, W., Cox E. et B.M., G., (1999b). Receptor-dependent immune responses in pigs after oral immunization with F4 fimbriae. *Infection and Immunity*, 67: 520-526.
- Van Ginneken, I., (1994a). The Acute Toxicity of Zinc Oxide in the Waterflea *Daphnia magna*. *Report No. ADK6/0034 (year of test: 1994). Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse, Belgium (Sponsor: International Lead and Zinc Research Association Inc. (ILZRO), North Carolina, U.S.A.)*.
- Van Ginneken, I., (1994b). The Effect of Zinc Oxide on the Growth of the Unicellular Green Alga *Selenastrum capricornutum*. *Report No. AASc/0022 (year of test: 1993/1994). Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse, Belgium (Sponsor: International Lead and Zinc Research Association Inc. (ILZRO), North Carolina, U.S.A.)*.
- Van Heugten, E., Spears, J.W., Kegley, E.B., Ward, J.D. et Oureshi, M.A., (2003). Effects of organic forms of zinc on growth performance, tissue zinc distribution, and immune response of weanling pigs. *Journal of animal science*, 81: 2063-2071.
- Van Molle, W., Van Roy, M., Van Bogaert, T., Dejager, L., Van Lint, P., Vanlaere, I., Sekikawa, K., Kollias, G. et Libert, C., (2007). Protection of zinc against tumor necrosis factor induced lethal inflammation depends on heat shock protein 70 and allows safe antitumor therapy. *Cancer research*, 67: 7301-7307.
- Van Woensel, M., (1994). The Acute Toxicity of Zinc Oxide in the Zebrafish (*Brachidaniorerio*). *Report No. AFB/0025 (year of test: 1993). Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse, Belgium (Sponsor: International Lead and Zinc Research Association Inc. (ILZRO), North Carolina, U.S.A.)*.
- Vandamme, K., Melkebeek, V., Cox, E., Remon, J.P. et Vervaet, C., (2011). Adjuvant effect of Gantrez nanoparticles during oral vaccination of piglets against F4+ enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Vet Immunol Immunopathol*, 139: 148-155.
- Vondruskova, H., Slamova, R., Trckova, M., Zraly, Z. et Pavlik, I., (2010). Alternatives to antibiotics in prevention of diarrhea in weaned piglets : a review. *Veterinarni Medicina*, 55: 199-224.
- VROM, (2008). Risk assessment zinc oxide.

- Walkty, A., DeCorby, M., Nichol, K., Karlowsky, J.A., Hoban, D.J. et Zhanel, G.G., (2009). In vitro activity of colistin (polymyxin E) against 3,480 isolates of gram-negative bacilli obtained from patients in Canadian hospitals in the CANWARD study, 2007-2008. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53: 4924-4926.
- Wang, M.Q., Tao, W.J., Ye, S.S., Du, Y.J., Wang, C. et Shen, S.X., (2012). Effects of Dietary Pharmacological Zinc on Growth, Liver Metallothionein, Cu, Zn-SOD Concentration and Serum Parameters in Piglets. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11: 1390-1394.
- Wang, P.Z. et Novick, R.P., (1987). Nucleotide sequence and expression of the β -lactamase gene from *Staphylococcus aureus* plasmid pI258 in *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, 169: 1763-1766.
- Wasył, D., Hoszowski, A., Zajac, M., Veldman, K., Mevius, D., Bocian, L. et Smietanka, K., (2012). Colistin resistance in *Salmonella* and *E. coli*: a statistical approach, 3rd ASM conference on AMR in zoonotic bacteria and foodborne pathogens. ASM, Aix en Provence, France, pp. 100-101.
- Wenema, (1994). Gehalte in zwevend stof, meten of berekenen? *RIZA werkdokumentn*.
- Wenk, C., (2003). Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Journal of Animal Science*: 282-289.
- WHO, (2001). Environmental health Criteria 221: Zinc.
- Williams, S.B., Southern, L.L. et Bidner, T.D., (2005). Effects of supplemental dietary phytase and pharmacological concentrations of zinc on growth performance and tissue zinc concentrations of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 83: 386-392.
- Windisch, V.W. et Kirchgessner, M., (1994). Distribution and exchange of zinc in different tissue fractions at deficient and excessive zinc supply. 3. Effect of different zinc supply on quantitative zinc exchange in the metabolism of adult rats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr*, 71: 131-139.
- Yamamoto, O., (2001). Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials*, 3: 643-646.
- Yan, X., Xiang, H., Jun, R., Zhengzhi Zou, Shujin, Y., Jing, O., Weihong, Z., Bin, Y., Shijun, X. et Lusheng, H., (2009). Distribution of *Escherichia coli* F4 adhesion phenotypes in pigs of 15 Chinese and Western breeds and a White Duroc_Erhualian intercross. *Journal of Medical Microbiology*, 58: 1112-1111.
- Zanello, G., Meurens, F., Berri, M., Chevaleyre, C., Melo, S., Auclair, E. et Salmon, H., (2011). *Saccharomyces cerevisiae* decreases inflammatory responses induced by F4+ enterotoxigenic *Escherichia coli* in porcine intestinal epithelial cells. *Vet Immunol Immunopathol*, 14: 133-138.
- Zhang, B. et Guo, Y., (2009). Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. *British Journal of Nutrition*, 102: 687-693.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M. et York, D., (2007). Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*, 9: 479-489.
- Zhang, L., Ding, Y., Povey, M. et York, D., (2008). ZnO nanofluids-A potential antibacterial agent. *Progress in Natural Science*, 18: 939-944.
- Zhu, C., Harel, J., Jacques, M., Desautels, C., Donnenberg, M.S., Beaudry, M. et Fairbrother, r.J.M., (1994). Virulence properties and attaching-effacing activity of *E.coli* O45 From swine postweaning diarrhea. *Infection and Immunity*, 62: 4153-4159.

7.2 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

7.3 Législation et réglementation

Directive 2004/28/CE du Parlement et du Conseil Européen du 31 mars 2004, modifiant la directive 2001/82/CE et instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires.

Directive 2009/9/CE de la commission du 10 Février 2009 et modifiant l'Annexe I de la directive 2001/82/EC.

Directive n° 91/676/CEE) du 12/12/91 concernant la protection des eaux contre la pollution par les nitrates à partir de sources agricoles-JOCE n° L 375 du 31 décembre 1991.

Règlement (UE) n° 574/2011 de la Commission du 16 juin 2011.

Règlement (CE) n° 1334/2003 de la Commission du 25 juillet 2003 et son rectificatif publié au JOUE L14 du 21-1-2004 p54. Modification par le Règlement (CE) n °1980/2005 de la Commission du 5 décembre 2005.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine

→ CES ALAN
Copie : CES SAINT
UMENSA
Dir. ANMV
DERA (VERCA)

03. 9

2012 -SA- 0067

00186

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

2012 -SA- 0067

13 MARS 2012

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PÊCHE,
DE LA RURALITÉ ET DE L'AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE

DIRECTION GÉNÉRALE

Direction générale de l'alimentation

Service de la prévention des risques sanitaires de la production primaire

Sous-direction de la santé et de la protection animales

Bureau des intrants et de la santé publique en élevage

251, rue de Vaugirard
75732 Paris Cedex

Dossier suivi par : Paule CARNAT-GAUTIER / Jean-Michel PICARD
Tél : 02 99 28 36 64 / 01 49 55 84 64
Fax :
Mél : paule.carnat-gautier@agriculture.gouv.fr
jean-michel.picard@agriculture.gouv.fr
N/Réf : SDSPA-BISPE
V/Réf :

Le Directeur général de l'alimentation

à
Monsieur Marc Mortureux

Directeur général de l'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

27-31, Avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort

ANSES Reçu le

14 MAR. 2012

DER/VERCA

Paris, le 12 MARS 2012

OBJET : saisine relative à l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques.

Le ministre en charge de l'agriculture a présenté en novembre 2011 le plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire. La mesure 19 de l'axe 2, qui envisage le développement d'alternatives permettant de limiter le recours aux antibiotiques, prévoit de procéder à l'évaluation du bénéfice-risque de l'utilisation de l'oxyde de zinc pour diminuer les diarrhées des porcelets lors de leur sevrage.

A cette période, les porcelets présentent des troubles digestifs et un retard de croissance dûs au changement de régime alimentaire ainsi qu'au stress lié à l'allotement. Pour cette raison, dans de nombreux élevages, les animaux reçoivent de manière systématique et préventive un traitement antibiotique. L'antibiotique le plus fréquemment utilisé est la colistine, administrée sous forme d'aliment médicamenteux, seule ou en association avec d'autres antibiotiques et le cas échéant un antiparasitaire.

En médecine humaine, la colistine est notamment utilisée pour le traitement de patients présentant des infections à des germes résistants aux carbapénèmes. Elle est considérée comme un antibiotique de dernière intention dont l'efficacité doit être préservée.

Sur la base de données recueillies dans d'autres États membres, l'incorporation d'oxyde de zinc à des doses élevées dans l'alimentation des porcelets en post-sevrage permettrait une diminution sensible du recours systématique aux antibiotiques notamment à la colistine.

Les doses évoquées, de l'ordre de 2500 à 3000 ppm, sont très supérieures aux besoins physiologiques des porcelets. Il convient toutefois d'observer que les besoins physiologiques en zinc des porcelets, les moyens d'améliorer la disponibilité du zinc par l'utilisation d'additifs tels que les phytases bactériennes et l'influence des facteurs alimentaires sont assez mal connus. Il en est de même pour l'action pharmacologique ou métabolique de l'oxyde de zinc, bien que plusieurs études aient démontré que l'apport de zinc à fortes doses entraînait une diminution du nombre des récepteurs intestinaux du principal germe pathogène en cause (souches d'*Escherichia coli* entéropathogènes pourvues de l'antigène K88).

Par ailleurs, l'oxyde de zinc est actuellement autorisé dans l'alimentation des porcs, quel que soit leur stade de croissance, en tant qu'additif alimentaire à des doses ne devant pas dépasser 150 ppm dans les aliments complets. Il est également autorisé dans plusieurs États membres sous forme de prémélange médicamenteux à des doses de 2500 ppm pour 14 jours de traitement. Il est listé au tableau 1 du règlement (UE) n° 37/2010 modifié de la Commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale, sans LMR requise, pour l'ensemble des espèces productrices d'aliments.

L'utilisation à des doses élevées au moment du sevrage, liée à la faible absorption de l'oxyde de zinc, entraînerait une augmentation des rejets dans l'environnement et un risque de pollution des sols cultivés via le rejet dans les effluents des élevages porcins.

Pour ces raisons, je vous saisis afin de procéder à une évaluation bénéfice - risque de l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets et de rendre un avis sur l'intérêt de ce traitement en matière de réduction des risques d'antibiorésistance.

Je vous serais reconnaissant de bien vouloir m'apporter une réponse dans un délai de six mois et dans cette attente mes services se tiennent à votre disposition pour tout renseignement.

Le Directeur Général Adjoint
Chef du Service de la Coordination
des Actions Sanitaires - C. V. O.


Jean-Luc ANGOT

Annexe 2 : Présentation des positions divergentes

Aucune position divergente.

Annexe 4 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts

Cette partie présente les liens déclarés par les experts dans le cadre de leur déclaration publique d'intérêt et précise, d'une part, comment ces liens ont été analysés par rapport au domaine sur lequel porte la saisine et, d'autre part, la manière dont ils ont été gérés, eu égard à un risque potentiel de conflit d'intérêts.

Les déclarations publiques d'intérêts sont mises à jour par les experts à chaque changement de situation.

Au cours des expertises, les liens d'intérêts sont réexaminés au vu de l'ordre du jour au début de chaque réunion.

RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DECLARATION PUBLIQUE D'INTERETS

▪ ANCIEN FORMAT DE DPI

IF	Intérêts financiers dans le capital d'une entreprise
IP-A	Interventions ponctuelles : autres
IP-AC	Interventions ponctuelles : activités de conseil
IP-CC	Interventions ponctuelles : conférences, colloques, actions de formation
IP-RE	Interventions ponctuelles : rapports d'expertise
IP-SC	Interventions ponctuelles : travaux scientifiques, essais, <i>etc.</i>
LD	Liens durables ou permanents
PF	Participation financière dans le capital d'une entreprise
SR	Autres liens sans rémunération (relatifs à un parent)
SR-A	Autres liens sans rémunération
VB	Activités donnant lieu à un versement au budget d'un organisme

▪ NOUVEAU FORMAT DE DPI

- 1.1. Activité principale exercée actuellement
- 1.2. Activités exercées à titre principal au cours des 5 dernières années
- 2.1. Activités exercées à titre secondaires : participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou produits entrent dans le champ de compétences, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.2. Activités exercées à titre secondaires : activité de consultant, de conseil ou d'expertise auprès d'un organisme entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.3. Activités exercées à titre secondaires : participation à des travaux scientifiques pour des organismes publics et/ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.4. Activités exercées à titre secondaires : rédaction d'articles, interventions dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).

- 2.5. Activités exercées à titre secondaires : inventeur et/ou détenteur d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
3. Activités dirigées par l'expert et qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
4. Participations financières de l'expert dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
5. Proches parents de l'expert salariés et/ou possédant des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
6. Autres liens d'intérêts (actuellement et au cours des 5 années précédentes).

POUR LE COMITE D'EXPERT SPECIALISE « ALIMENTATION ANIMALE »

NOM	Prénom <i>Rubrique de la DPI</i>	Date de déclaration des intérêts
BAYOURTHE	<p>Corinne</p> <p>ENSA Toulouse – Professeur</p> <p>IP- SC</p> <p>CCPA – Contrat de recherche : additif alimentaire (début 2007 fin 2008) pas de rémunération</p> <p>PHODE – Contrat région huiles essentielles (début 2006 fin 2007) pas de rémunération</p> <p>LESAFFRE FEED ADDITIVE Thèse CIFRE (levures) (début 2007 fin 2010) pas de rémunération</p> <p>DANISCO Comité de thèse sur les probiotiques (début 2008 fin 2009) pas de rémunération</p> <p>COOP DE BLE Contrat de recherche de région : coproduits agro industriel (début 2009 fin 2012) pas de rémunération</p> <p>VB</p> <p>LESAFFRE FEED ADDITIVE (début 2007 fin 2010) (rémunération UMR 1289 TANDEM INRA/INP/ENVT)</p> <p>PHODE (début 2007 fin 2009) (rémunération UMR 1289 TANDEM INRA/INP/ENVT)</p> <p>CCPA (début 2008 fin 2009) (rémunération UMR 1289 TANDEM INRA/INP/ENVT)</p> <p>CCOP DE BLE (début 2009 fin 2012) (rémunération UMR 1289 TANDEM INRA/INP/ENVT)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	28 mars 2012
BRUNSCHWIG	<p>Philippe</p> <p>1.1</p> <p>ONIRIS - Chef de projet en Conduite et Alimentation du Troupeau Laitier (CATL) (depuis 06/1983)</p> <p>2.2</p> <p>Advanta conseil technique et communication (début 01/2007 fin 06/2007) rémunération Institut de l'élevage</p> <p>Limagrain Verneuil Holding – groupe de travail – (début avril 2008 fin mai 2008) rémunération Institut de l'élevage</p> <p>TERRENA – groupe de travail (début 07/2010 fin 09/2010) rémunération Institut de l'élevage</p> <p>2.3</p> <p>SEMENTAL – conseil en expérimentation – Utilisation de sorgho grain sucrier BMR dans l'alimentation des vaches laitières (début 03/2008 fin 12/2011) aucune rémunération</p> <p>DESIALIS– conseil en expérimentation – Valorisation des drèches de blé de distillerie d'éthanol par des vaches laitières (début 09/2010 fin 12/2010) aucune rémunération</p> <p>Forever Living Products France – Conseil en expérimentation – Utilisation de plupe d'Aloé Vera dans l'alimentation des veaux destinés au troupeau laitier (début 03/2010 fin 12/2011) aucune rémunération</p> <p>Paname – conseil en expérimentation – utilisation de</p>	25 septembre 2012

variété de maïs fourrage riche en huile pour l'ensilage destiné à des vaches laitières (début 01/2011 fin 12/2012)

2.4

SNGTV – Congrès national – Alimentation des veaux (début 15/05/2009 fin 15/05/2009) prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération

Advanta Terrana – Formation – Valorisation de l'ensilage de maïs par les vaches laitières (début 03/2010 fin 10/2010) prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération

LELY France SAS – Formation – Alimentation des veaux laitiers de renouvellement du troupeau (début 12/2011 fin 12/2011) prise en charge des frais de déplacement, rémunération Institut de l'élevage

TERRENA – Conférence – Efficacité alimentaire (début 06/2012 fin 06/2012) prise en charge des frais de déplacement, rémunération Institut de l'élevage

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

DEMARQUOY

Jean

11 octobre 2012

1.1

Université de Bourgogne – Professeur - 09/96

2.2

Open Journal of Metabolic and Integrative Physiology – Journal – (début 01/2011) aucune rémunération

Ministry of Education - LifeLong Learning & Religious Affairs en Grèce – Expert – (début 05/2012 fin 09/2012) aucune rémunération

Hellenic Republic, Ministry of Education en Grèce – Expert – (début 09/11 fin 12/11) aucune rémunération

International Bureau of the Federal Ministry of Education and Research c/o German Aerospace Center (DLR) – Expert – (début 01/2009 fin 10/2009) au déclarant

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

ENJALBERT

Francis

08 octobre 2012

1.1

ENVT : Enseignement chercheur (depuis 1981)

2.1

SNGTV : Membre de commission technique (depuis 1995)

2.2

DSM : Conseil (début 06/2010 fin 06/2010)

ELANCO : Conseil (début 10/2010 fin 10/2010)

Néoliat : Expert (début 03/2012 fin 03/2012)

2.3

VALOREX: Nutrition animale (début 01/2007 fin 05/2008) (rémunération UMR Tandem)

Norfeed Sud : Nutrition animale (début 04/2009 fin 03/2010) (rémunération UMR Tandem)

LESAFFRE Feed Additives : Nutrition animale (début 01/2011 fin 09/2011) (rémunération UMR Tandem)

Techna : Nutrition animale (début 01/2011 fin 03/2012) (rémunération UMR Tandem)

Global Nutrition : Nutrition animale (début 06/2011 fin 03/2012) (rémunération UMR Tandem)

Sobac : Nutrition animale (début 04/2012 fin 03/2014)
(rémunération UMR Tandem)

2.4

KEMIN : peripartum de la vache laitière (début 05/2008
– fin 05/2008) pas de rémunération

ALLTECH - Dairy Solutions symposium : calf nutrition -
Health risk factors in calves and trace element status
(début 09/2008 fin 09/2008) pas de rémunération

Le rumen : un écosystème fragile - L'acidose des
ruminants (début 10/2008 fin 10/2008) pas de
rémunération

BTPL à Poitiers : Alimentation des vaches laitières
(début 06/2009 fin 06/2009) pas de rémunération

Idéna à Rennes - Matières grasses en alimentation des
vaches laitières (début 09/2009 fin 09/2009) pas de
rémunération

NEOLAIT : Alimentation peripartum des vaches laitières
(début 06/2009 fin 06/2009) pas de rémunération

BNA : Mobilisation des réserves en début de lactation :
conséquences sur la production et la reproduction
(début 03/2010 fin 03/2010) pas de rémunération

PFIZER: Nutrition et reproduction : oligo-éléments,
acides gras, mycotoxines (début 11/2010 fin 11/2010)
pas de rémunération

TECHNA : Les matières grasses dans l'alimentation
des ruminants (début 06/2010 fin 06/2010) pas de
rémunération

FCEL : Alimentation et reproduction chez la vache
laitière (début 10/2010 fin 10/2010) pas de
rémunération

SNGTV : Calcul de ration informatisé pour vaches
laitières (début 11/2011 fin 11/2012) pas de
rémunération

Intervet (début 06/2012 fin 12/2012) pas de
rémunération

3

UMR Tandem, laboratoire ENVV NBVC – Iodolab début
1999)

4

OCTAVET : Actionnaire jusqu'en 2011

**Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la
thématique de la saisine**

FERLAY

Anne

01 octobre 2012

1.1

INRA - chargée de recherché - INRA Theix 63122
Saint-Genès-Champanelle depuis 11/1992

2.2

GIS AOP - conseil au sujet de la caractérisation
nutritionnelle des fromages AOP du massif Central
(début 01/01/2011 fin 31/12/2012) – aucune
rémunération

Spectralys Innovation - conseil sur la détermination de
composés du lait par fluorescence (fin 01/01/2012 fin
31/12/2017) – aucune rémunération

2.4

France Conseil Elevage – Theix - Formation auprès
des agents de France Conseil Elevage - Facteurs
alimentaires influençant la qualité lipidique du lait -

	<p>20/06/2012 – rémunération INRA UMRH</p> <p>3 Convention CIFRE: doctorat financé, équipe bénéficiaire AGL de l'UMRH INRA - IN VIVO (début 04/2009 fin 04/2012)</p> <p>6 Membre du comité de pilotage d'un programme national Phénofinlait initié par des organismes publics et privés français – (début 2009 fin 2012)</p>	
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
GAUDRE	<p>Didier</p> <p>1.1 IFIP-institut du porc – Ingénieur d'études</p> <p>2.2 JUNGBUNZLAUER - Essai zootechnique acide gluconique – début 2010 – Rémunération IFIP DSM - Essai zootechnique phytase – début 2009 - Rémunération IFIP – en cours AJINOMOTO - Essai zootechnique Tryptophane – Rémunération IFIP – en cours SYRAL - Essai zootechnique Fructo-oligo saccharides - Rémunération IFIP – en cours ONIDOL - Essai zootechnique Glycérol – Rémunération IFIP – en cours AKIOLIS - essai zootechnique farine de biscuits – de 2011 à 2012 - rémunération employeur</p> <p>Analyse Anses : 2.4 CCPA, Cooperl, Glon Sanders, Provimi, INZO - Animation groupe de travail fabricants aliments – depuis 2004 à en cours – aucune rémunération</p>	<p>19 janvier 2012</p> <p>démission</p>
	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
GIDENNE	<p>Thierry</p> <p>1.1 INRA – Chercheur - INRA Toulouse UMR 1289 TANDEM BP 52627 - permanent</p> <p>2.2 ANSES – expert – début 09/2008 fin 09/2012 rémunération au déclarant</p> <p>2.3 INRA - alimentation animale - valeur nutritive de matières premières - Investigateur principal – début 02/2009 fin 09/2012 – rémunération à l'INRA DESIALIS - alimentation animale - valeur nutritive de matières première - Investigateur coordonnateur – rémunération à un organisme début 09/2011 fin 09/2012 Groupe GEC (réunissant INZO, EVIALIS, SANDERS, CCPA , TECHNA - Alimentation cunicole // besoins alimentaire et santé – début 01/2007 fin 09/2012 -</p> <p>2.4 ASFC - nutrition et santé en cuniculture - début 05/2010 – aucune rémunération –frais de déplacement AFTAA - Fibres et nutrition animale – début 05/2009 – aucune rémunération – prise en charge des frais de déplacement</p>	

SANDERS - rationnement en cuniculture – début 03/2010 – aucune rémunération – prise en charge des frais de déplacement

ASIC - Italie, Forli - rationnement en cuniculture - 04/2011 – aucune rémunération – prise en charge des frais de déplacement

INRA - article de synthèse dans "Animal" - rationnement en cuniculture – début 06/2012 pas de prise en charge des frais de déplacements – aucune rémunération

TECHNA – Toulouse - formation en cuniculture – début 05/2011 – pas de prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant

3

INRA - Groupe GEC réunissant : INZO, EVIALIS, SANDERS, CCPA, TECHNA – début 01/2007 fin 09/2012

INRA - LFA feed additives – début 01/2007 fin 12/2009

INRA – DESIALIS – début 09/2011 fin 09/2012

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

JONDREVILLE

Catherine

06 février 2006

INRA UNMR INRA Agros campus Rennes – Systèmes d'élevage Nutrition Animale et Humaine – Ingénieur de Recherches

IP-SC

CYBELLIA – Co-encadrement de stagiaires sur le thème de la disponibilité (début 2005 fin 2006) aucune rémunération

IP-RE

Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie au Canada – Installation jeune chercheur – évaluation du programme de recherche – 2004 – aucune rémunération

Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada – Installation jeune chercheur – évaluation du programme de recherche - 2005 – aucune rémunération

IP-AC

ALLTECH – Participation à un atelier de réflexion sur le thème des oligo-éléments – 2006 – aucune rémunération

IP-CC

Institut Technique du Porc – 11/2004 – aucune rémunération - Formation : P dans l'alimentation des porcs - Cu et Zn dans l'alimentation des porcs

Agros campus Rennes – 11/2005 – rémunération – Influence de l'alimentation sur les rejets d'éléments minéraux par les porcs

VB

CALCIALIMENT (France) – organisme bénéficiaire INRA – Ingénieur de recherches – INRA – Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement)

BASF AG (Allemagne) – organisme bénéficiaire INRA – Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement)

BASF NA (France) – organisme bénéficiaire INRA –

	<p>Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) REMINEX (Maroc) – organisme bénéficiaire INRA - Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) TRIBALLAT (France) – organisme bénéficiaire INRA - Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) PANCOSMA SA (Suisse° - organisme bénéficiaire INRA - Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) SR GHISSETTI – Sœur – Directrice unité de fabrication</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>
<p>JUIN</p>	<p>Hervé 1.1 INRA - Ingénieur de recherche - début 08/93 2.2 INAO - Expertise en nutrition avicole – début 01/2006 – aucune rémunération Commission Européenne - Expertise en production de volailles biologiques – début 01/11 – aucune rémunération 2.3 DSM - Nutrition avicole - Utilisation de phytase par le dindon – début 01/2010 fin 12/2010 – rémunération INRA Lesaffre - Nutrition avicole - Efficacité d'un probiotique chez le poulet de chair – Début 01/2011 fin 12/2011 – rémunération INRA Beldem - Nutrition avicole - Efficacité de Xylanase chez le poulet – D2BUT 01/2012 FIN 10/2012 – rémunération INRA Pfizer - Nutrition avicole - Efficacité d'un anticoccidien chez le poulet – début 06/2011 fin 11/2012 – rémunération INRA</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>
<p>JURJANZ</p>	<p>Stéphan Université de Lorraine – Maître de conférence VB Centralys SA – INPL-ENSAIA - mesures bouzométriques – Encadrant d'un groupe d'étudiants - (début 10/2008 fin 12/2008) TIMAC Agrofinances Int. – INPL-ENSAIA – Calséagrit in vitro – responsable de l'essai – (début 04/2008 fin 08/2008) Alltech France SAS – INPL-ENSAIA – Selpex pour chevreaux en croissance – responsable de l'essai - (début 04/2006 fin 04/2007) ADISSEO SAS – INPL-ENSAIA - Transfert des vitamines A&D3 chez la vache laitière – responsable de</p>

l'essai (début 07/2007 fin 11/2007
 NOVACARB SA – INPL-ENSAIA – ruminant –
 séminaire – juin 2010
 LA BUVETTE SA – INPL ENSAIA – Test de préférence
 sur les abreuvoirs pour vaches – encadrant d'un groupe
 d'étudiants (début 11/2010 fin 02/2011)
 DGAL Ministère de l'Agriculture – INPL-ENSAIA –
 Transfert de polluant organiques à partir des matrices
 contaminées – Participants aux différentes études
 menées (depuis 07/2009)
 ADEME INPL-ENSAIA – Biodisponibilité des pcb du sol
 – participant aux comités de pilotage – depuis 01/2011
 PSDR Grand Ouest –INPL-ENSAIA – Ingestion de
 végétaux et de sol par le poulet en plein air – Co-
 responsable du volet ingestions (début 2009 fin 2011)
 DESIALYS – Université de Lorraine – Contamination en
 HAP des produits de déshydratation – encadrement
 suivi de l'entreprise

**Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la
 thématique de la saisine**

KOUBA	<p>Maryline 1.1 AGROCAMPUS OUEST – Professeur - depuis 12/1987 3 Bourse de thèse CIFRE – Valorex – début 05/2012 fin 12/2015</p>	11 octobre 2012
	<p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
LESSIRE	<p>Michel 1.1 INRA - Ingénieur de recherche - début 09/1979 Secrétaire puis vice Président de la World's Poultry Science Association (WPSA) – Nouzilly – 2001 2.3 PHYTOSYNTHESe - additifs nutritionnels pour animaux - co encadrement de thèse CIFRE – Expérimentateur non principal - début 2008 fin 2011 - aucune rémunération ADISSEO - aliments des animaux - travail méthodologique sur la digestibilité des aliments chez le poulet – Co-investigateur - début 2011 fin 2012 – aucune rémunération TECHNA - aliments des animaux - travail méthodologique sur la digestibilité des aliments chez les oiseaux domestiques – Investigateur coordonnateur - début 2007 fin 2010 - AJINOMOTO-EUROLYSINE - aliments des animaux - besoin en acides aminés et protéines du poulet - Investigateur coordonnateur – début 2010 fin 2012 – aucune rémunération SOUFFLET - aliments des animaux - étude de biocatalyseurs solides - Investigateur coordonnateur – début 2011 fin 2013 – aucune rémunération EURONUTRITION - aliments des animaux - travail méthodologique sur la digestibilité des aliments chez le coq - Investigateur coordonnateur – début 2011 fin 2012 – aucune rémunération</p>	06 novembre 2012

	<p>DSM - aliments des animaux - enzyme ProAct - Expérimentateur non principal – début 2012 fin 2015 – aucune rémunération</p> <p>2.4 EVIALIS – Vannes - Formation destinée aux cadres, 1 journée – début 2008 et 2009 – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération JEFO EUROPE - Bain de Bretagne - animation d'une journée technique – début 16/05/2011 – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération Rennes –conférence sur le besoin en acides aminés du poulet – début 19/9/2011 – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération</p> <p>5. World's poultry science association (WPSA)</p>	
<p>L'HOTELLIER</p>	<p>Marie-Dominique 1.1. Eurofins IPL Atlantique – Expert agroalimentaire – 1, rue du Professeur VEZES 33300 Bordeaux – début 03/1996</p>	<p>14 octobre 2012</p>
<p>MEDALE</p>	<p>Françoise 1.1 INRA - Directeur de recherches, Directrice de l'UR INRA NuMeA - 147 Rue de l'Université Paris 7 – début 01/12/1985</p> <p>2.3 Groupe AKIOLIS - Nutrition des poissons - Mesure digestibilité - matières première – Digestibilité protéines de plume hydrolysées - Investigateur coordonnateur - début 11/2011 fin 06/2012 – rémunération à un organisme Groupe SOUFFLET - Nutrition des poissons - Mesure digestibilité - matières premières - Produits de matières premières végétales fermentées - Investigateur coordonnateur – début 03/2010 fin 10/2010 – rémunération à un organisme VALOREX - Nutrition des poissons - Mesure digestibilité - matières premières - Digestibilité graines de lin extrudées – début 10/2009 fin 02/2010 – rémunération à un organisme BIOMAR - Nutrition des poissons (géniteurs) - Test d'aliments sur la reproduction et la qualité des descendants - Investigateur coordonnateur – début 04/2008 fin 04/2009 - rémunération à un organisme EVIALIS - Nutrition des poissons - Mesure digestibilité - matières premières – début 03/2008 fin 10/2008 - rémunération à un organisme</p>	

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

<p>PARAGON</p>	<p>Bernard-Marie</p> <p>1.1 Ministère de l'Agriculture – Professeur de Nutrition et Alimentation animale - Ecole Vétérinaire d'Alfort – début 1980</p> <p>2.1 MARS PF – Member of the Advisory board for France & UE – début 06/2009 en cours – rémunération au déclarant GLON Sanders – membre du conseil scientifique – début 01/2001 en cours – rémunération au déclarant</p> <p>2.2 Société Schering Plough (anciennement Intervet et Distrivet) – conseil pour le développement d'un aliment liquide pour l'alimentation entérale des carnivores domestiques – début 01/2001 fin 06/2011 – rémunération au déclarant Continental Nutrition – Conseil pour le développement de nouveaux aliments pour carnivores domestiques – début 09/1995 en cours – rémunération au déclarant</p> <p>3. Société Française de Félinotechnie (ass. Loi 1901) (formation continue à destination des éleveurs de chats et des vétérinaires) – Nestlé Purina – 1993 en cours Société Française de Félinotechnie (ass. Loi 1901) (formation continue à destination des éleveurs de chats et des vétérinaires) – Royal Canin – 1995 en cours Société Française de Félinotechnie (ass. Loi 1901) (formation continue à destination des éleveurs de chats et des vétérinaires) – 1995 en cours</p> <p>6. épouse gérante d'une société qui développe une activité de conseil en nutrition – début 2006 en cours</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>12 octobre 2012</p>
<p>PARIS</p>	<p>Alain</p> <p>INRA – Directeur de recherches IP-SC Agence Française de Lutte contre le dopage – Travaux de recherche en métabonomique – début 2006 fin 2008 – aucune rémunération Agence mondiale antidopage – Travaux de recherche en métabonomique – début 2008 fin 2009 – aucune rémunération</p> <p>IP-AC Mérieux-Alliance – 1 séminaire sur la métabonomique – prise en charge frais de déplacement - pas de date – aucune rémunération Génopole –Evry – Expertise sur le métabonomique (plateforme) – début 09/2010 fin 05/2011 – rémunération vacation</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>28 juin 2012</p>
<p>POULIQUEN</p>	<p>Hervé</p> <p>1.1</p>	<p>01 octobre 2012</p>

ONIRIS - Professeur de Pharmacie et toxicologie (depuis 10/1988)

2.2

BOEHRINGER INGELHEIM - Expert Partie III et IV de dossiers d'AMM de médicaments (début 01/2008 fin 12/2010)

AGUETTANT : Expert Partie III de dossiers d'AMM de médicaments et expert impuretés dans des médicaments depuis 01/2008

ARROW : Expert Partie III du dossier d'AMM d'un médicament (début 01/2009 fin 12/2009)

LATOCHEMA : Expert Partie III du dossier d'un additif alimentaire pour ruminants (début 06/2009 fin 12/2009)

ROQUETTE : Expert Partie III du dossier d'un additif alimentaire pour porcs et volailles (depuis 06/2010)

QALIAN : Expert Partie III d'un dossier d'AMM d'un médicament vétérinaire pour poisson (début 01/2011 fin 06/2011)

ARROW : Expert Partie III d'un dossier d'AMM d'un médicament (début 01/2012 fin 03/2012)

MERIAL : Expert Partie III et IV dossiers d'AMM de médicaments (depuis 01/2008)

2.3

MSD : Etude d'efficacité Antibiotique pour poissons (début 01/2006 fin 12/2008) rémunération Oniris

2.4

VIRBAC : Article - Article sur temps d'attente pour les volailles (début 07/2012 fin 08/2012)

PFIZER : Conférence de consensus "antibiothérapie bovine" – Marseille (début 01/2011 fin 12/2011)

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

PRIYMENKO

Nathalie

ENVT - Enseignant chercheur

VB

VIRBAC – ENVT - Taxe d'apprentissage - Enseignant Chercheur -

SR-A

Waltham – Colloque - Invitation tout frais payé à Cambridge – début 09/2010

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

SCHMIDELY

Philippe

27 mars 2012

AgrosParisTech – Enseignant-Chercheur

IP-SC

GLON CYBELIA – Relation entre alimentation lipidique des chèvres et composition du lait – début 02/2007 fin 06/2007 – Rémunération perçue par AgrosParisTech

GLON CYBELIA – Relation entre alimentation lipidique des chèvres et composition du lait – début 02/2008 fin 06/2008 – Rémunération perçue par AgrosParisTech

IP-RE

IDENA – Apports d'additifs alimentaires sur la production de CH₄ et le profil en AG du lait de vaches – début 01/2010 fin 06/2010 – Rémunération perçue par AgrosParisTech

	<p>CCPA – début 2011 à 2011 –Rémunération perçue par AgrosParisTech DESIALIS – Pratiques alimentaires, performances zootechniques et statut inflammatoire des vaches laitières – début 2011 fin 2011 – Rémunération perçue par AgroParisTech IP-CC EVIALIS – Formation sur le métabolisme lipidique des ruminants – début 2009 fin 2010 – rémunération vacation Fédération Nationale du Contrôle Laitier – Formation à l'alimentation – début 2008 fin 2012 – rémunération INZO-Evalis – Formation aux statistiques en expérimentation animale (4j) – début 2010 fin 2012 – rémunération vacation IP-A LALLEMAND SA – Encadrement de stages – début 2007 fin 2011 – pas de rémunération Association Bleu-Blanc Cœur – Encadrement de stages début 2011 fin 2012 – Pas de rémunération AJINOMOTO – Encadrement de stages – début 2011 fin 2012 – LOREAL – Encadrement de stages –fin 2012 SR BRISTOL MYERS SQUIBB – Conjoint – Directeur assistant (service Bio statistiques) début 1995 fin 2012</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>SOYEUX</p>	<p>Yves Professeur d'alimentation et droit alimentaire SR VEOLIA – Fils – Service Recherche – début 1999 fin 2012</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>26 mars 2012</p>

POUR LE COMITE D'EXPERT SPECIALISE « SANTE ANIMALE »

NOM	Prénom <i>Rubrique de la DPI</i> Description de l'intérêt	Date de déclaration des intérêts
BASTIAN	<p>Suzanne</p> <p>1.1 ONIRIS : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire (depuis le 01/09/2007)</p> <p>2.1 Chaire Ecoles-entreprises « Agriculture Ecologiquement Intensive » (associant Oniris, Agrocampus-Ouest, Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers, Terrena, Agrial, Triskalia – Membre du conseil scientifique – aucune rémunération – début 09/2012 en cours</p> <p>2.3 Union européenne (fonds FEAGA), Conseil Régional des Pays de la Loire, conseil</p> <p>5. Travailleur indépendant - Conjoint vétérinaire libéral de 2001 à 2012</p> <p>Analyse Anses :</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	22 novembre 2012
CHARTIER	<p>Christophe</p> <p>ONIRIS Nantes : Agroalimentaire et l'Alimentation – Professeur de Médecine des animaux d'élevage</p> <p>IP-CC SNGTV – Formations en parasitologie – début 2011 fin 2012 – rémunération en vacances</p> <p>ELANCO – Congrès européen Buiatrie – 2011 – prise en charge des frais de déplacement</p> <p>VB Société OBIONE – ONIRIS Nantes – Cryptosporidiose des ruminants – début 2010 fin 2011 - Chercheur Clinicien</p> <p>Société MERIAL – ONIRIS Nantes – Epidémiologie Cryptosporidiose des ruminants - Chercheur Clinicien – début 2011 fin 2012</p> <p>Société PFIZER – UMR 1300 ONIRIS Nantes – Résistance aux anthelminthiques chez les bovins – début 2011 fin 2012 – chercheur</p> <p>Analyse Anses :</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	06 juin 2012
CHEVALIER	<p>Véronique</p> <p>CIRAD : Chercheur</p> <p>LD CIRAD CDI – début de 09/2001 fin 05/03/2012 - salaire</p> <p>Analyse Anses :</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	05 mars 2013
COLLIN	<p>Eric</p> <p>1.1 Vétérinaire praticien – Ploelec sur Lié – début 10/1982</p>	20 novembre 2012

	<p>2.2 Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale – représentant de la SNGTV – aucune rémunération – début 01/2012 SNGTV (société nationale des groupements techniques vétérinaires) – membre de l'association depuis 1984 et président de la commission épidémiologie depuis 2007 – rémunération au déclarant – depuis 1984</p> <p>2.3 Plateforme esa – surveillance clinique du sbv – description clinique du sbv aigu – aucune rémunération – début 06/2012</p> <p>PF Pôle vétérinaire du Gouët au Liè (SELARL vétérinaire) – parts de cogérant</p>	
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
DORCHIES	<p>Philippe ENVT : Professeur émérite</p> <p>2.2 MSD Santé animale – Appui scientifique parasites du porc – début 2011 fin 2012 – rémunération vacation</p>	25 février 2012
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
DUFOUR	<p>Barbara</p> <p>1.1 Ecole vétérinaire d'Alfort Maisons-Alfort - Enseignant chercheur en maladies contagieuses, Epidémiologie et zoonoses – début janvier 2004 CCMSA - Membre du conseil scientifique pour les zoonoses – début 2000 – aucune rémunération Académie d'agriculture - Membre correspondant – début 2007 – aucune rémunération</p> <p>2.2 DGAL - Membre du groupe d'experts chargé de faire des propositions pour la gestion de la réémergence de la tuberculose sur le terrain - début 2008 fin début 2012 – aucune rémunération</p> <p>2.3 ARILAIT - Echantillonnage DIOXINES dans le lait – 2008 – rémunération à un organisme</p> <p>3. MASTER de surveillance épidémiologique (M2 SEMHA - PFIZER Don annuel pour le fonctionnement du M2) – début 2007 fin 2010 Unité de recherche EpiMAI - DGAL Convention de recherche sur l'épidémiologie de la tuberculose bovine – début 2009 fin 2012 - Unité de recherche EpiMAI - Anses convention pour l'embauche d'une épidémiologiste pendant deux mois – début avril 2012 fin juin 2012</p>	01 octobre 2012
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
FOUCRAS	<p>Gilles</p> <p>1.1 Ministère de l'Agriculture - Ecole Nationale Vétérinaire</p>	25 septembre 2012

de Toulouse - Enseignant Chercheur (PR) - 23 chemin des Capelles BP 87614 31076 Toulouse cedex 03 – début 09/1995

2.1

Groupement d'Intérêt Scientifique Analyse du GENome des Animaux d'Elevage (AGENAE) – Membre du Comité Thématique bovin – début 11/2008 – aucune rémunération

Société Française de Buiatrie – Secrétaire – début 04/2012 – aucune rémunération

2.2

Editions NEVA - Membre du Comité de rédaction - auteur d'articles de synthèse – début 2007 – rémunération au déclarant

2.3

PFIZER AH - Travaux scientifiques - Pancytopenie néonatale bovine – Etude monocentrique – Investigateur principal – début 03/2010 fin 31/12/2012 – Rémunération à un organisme INP-ENVT

LSI - Lesaffre Feed Additives - Travaux scientifiques - activités immunostimulantes de composés de paroi de levures – étude monocentrique – Co-investigateur – début 03/2010 fin 06/2011 - Rémunération à un organisme INP-ENVT

2.4

VIRBAC – Rennes Pont-à-Mousson Cournon - Gestion de la BVD en élevage bovin – début 09/2012 fin 12/2012 – rémunération au déclarant – prise en charge des frais de déplacement

PFIZER AH – Tours - Génétique et immunité mammaire – début 04/2010 fin 04/2010 – aucune rémunération – prise en charge des frais de déplacement

MERIAL - MERIAL - Immunité du jeune veau – début 06/2010 fin 06/2010 – aucune rémunération – pas de prise en charge des frais de déplacement

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

GANIERE Jean-Pierre

09 octobre 2012

1.1

Retraité du Ministère de l'agriculture – retraité 2011
Professeur émérite (Unité maladies réglementées, zoonoses, réglementation sanitaire) - ONIRIS, NANTES – début 01/2011

1.2

ONIRIS (Ministère de l'agriculture) - Professeur classe ex. (Unité pédagogique MRZ) - ONIRIS, CS 40706, 44307 NANTES Cedex 3 – début 01/2011

2.4

Bayer Pharma - Symposium Bayer (1 jour), PARIS - Conférencier:

Données pharmacodynamiques en antibiothérapie; Antibiorésistance, transmission inter-espèces et gestion du risque » - début 10/2007 fin 10/2007 – rémunération au déclarant – prise en charge des frais de déplacement

3.

Convention de recherche du 16 /01/ 2007 Intervet/ENVN (activité de divers antibiotiques in vitro) - INTERVET France – début 01/2007 fin 12/2008 -

Analyse Anses :

Convention de recherche du 16/09/2007 Virbac/ENVN (activité de divers antibiotiques in vitro) – VIRBAC – début 09/2007 fin 12/2007
 Taxes d'apprentissage au bénéfice de l'Unité pédagogique MRZ, ONIRIS – VIRBAC – début 01/2007 fin 12/2009 -
 Taxes d'apprentissage au bénéfice de l'Unité pédagogique MRZ, ONIRIS – Merial – début 01-2007 fin 12-2010 -
 Taxes d'apprentissage au bénéfice de l'Unité pédagogique MRZ, ONIRIS – PFIZER – début 01/2007 fin 12/2010
 Taxes d'apprentissage au bénéfice de l'Unité pédagogique MRZ, ONIRIS – BOEHRINGER – début 01/2007 fin 12/2010
 Taxes d'apprentissage au bénéfice de l'Unité pédagogique MRZ, ONIRIS - BAYER Pharma – début 01/2007 fin 12/2010
 Taxes d'apprentissage au bénéfice de l'Unité pédagogique MRZ, ONIRIS – INTERVET – début 01/2007 fin 12/2010
 Taxes d'apprentissage au bénéfice de l'Unité pédagogique MRZ, ONIRIS - LILLY Elanco – début 01/2007 fin 12/2010

Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

GARIN-BASTUJI**Bruno**

29 octobre 2012

1.1

AFSSA - Chef d'Unité – AFSSA – début 01/1998 fin 07/2010

ANSES - Chef d'Unité – ANSES – début 07/2010

2.2

EFSA/AESA - Groupe de Travail – début 2008 fin 2009 – rémunération au déclarant

Commission Européenne - Groupe de Travail – début 2008 fin 2012 – aucune rémunération

OIE - Groupe de Travail / Conseils – début 2008 fin 2012 – aucune rémunération

OIE – Expertise – début 2011 fin 2012 – rémunération au déclarant

FAO - Mission de consultation – début 2009 fin 2010 – rémunération au déclarant

FAO - Workshops/Groupe de travail – début 2008 fin 2012 – aucune rémunération

Commission Européenne - Groupe d'Experts (programmes européens cofinancés d'éradication de la brucellose) – début 2012 fin 2012 – rémunération au déclarant

Institut Portugais d'Accréditation - Auditeur technique – début 2008 fin 2011 – rémunération au déclarant

2.4

CEVA Santé Animale - Congrès Maghrébin Vétérinaire (Alger) - Diagnostic de la brucellose ovine et caprine - Outils éprouvés / nouveaux outils – début mai 2008 fin mai 2008 – aucune rémunération – prise en charge des frais de déplacement

Analyse Anses :

CEVA Santé Animale - 7èmes Journées des Sciences

	<p>Vétérinaires d'Algérie (Alger) - Brucellose bovine - Épidémiologie, diagnostic & Stratégies de contrôle – début avril 2009 fin 2009 – aucune rémunération – prise en charge des frais de déplacement</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
GUILLOTIN	<p>Jean</p> <p>1.1 Département du Nord - Directeur Laboratoire Départemental Public - Rue Gustave Delory 59000 Lille – début 05/1991</p> <p>2.1 Groupement de défense sanitaire des animaux du Nord - Membre invité du Conseil d'Administration à titre consultatif – début 05/1991 – aucune rémunération ADILVA (Association Française des Directeurs et Cadres de Laboratoires Vétérinaires Publics d'Analyses) – Secrétaire – début 10/2003 – aucune rémunération</p> <p>2.2 France Vétérinaire International - Membre du réseau de correspondants et réalisation de missions d'expertise - 6 semaines au cours des 5 dernières années</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	09 octobre 2012
HADDAD	<p>Nadia</p> <p>1.1 ENVA - Professeur en maladies contagieuses, zoonoses, épidémiologie - Maisons-Alfort - Octobre 2000 ENVA - Membre de l'UMR BIPAR (chargée de la direction depuis septembre 2012) - Maisons-Alfort - Avril 2003</p> <p>2.5 Mise au point de lignées organospécifiques de cellules endothéliales félines – CNRS – perception non – aucune rémunération</p> <p>3. UMR BIPAR - Financement d'une bourse de thèse sous forme de convention – PFIZER – début 2009 fin 2011</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	24 septembre 2012
HARS	<p>Jean</p> <p>1.1 ONCFS - chargé de mission, chef de l'équipe "maladies transmissibles" - 85bis avenue de Wagram, 75832 PARIS cedex 17 - octobre 1998</p> <p>2.4 Institut national de Médecine Agricole (INMA) - formation des Agents techniques de l'environnement et des médecins du travail de la MSA lieu: Tours - Zoonoses de la faune sauvage - 2 sessions chaque année – rémunération au déclarant – prise en charge des frais de déplacement Maison familiale de Mondy (Drôme) - formation des agents techniques de l'environnement dans le cadre du</p>	01 octobre 2012

<p>Analyse Anses :</p>	<p>réseau SAGIR - risques sanitaires et faune sauvage – début une session par an – aucune rémunération – aucune prise en charge Groupements techniques vétérinaires de Bourgogne (Autun) - Groupements techniques vétérinaires de Bourgogne (Autun) - tuberculose et faune sauvage - aucune rémunération – aucune prise en charge des frais de déplacement Groupements techniques vétérinaires Rhone-Alpes - surveillance et gestion sanitaire de la faune sauvage - une session en 2010, deux sessions en 2011 – rémunération au déclarant – aucune ne prise en charge des frais de déplacement Groupements de défense sanitaire - Ile et Vilaine, Cote d'Armor, Indre, Cher, Somme, Nord, Ardennes, Orne - Intervention lors de l'AG des GDS: Risques sanitaire et faune sauvage – en 2010, 2011 et 2012 - prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération -</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>LAUGIER</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Claire</p> <p>1.1 ANSES – Directeur du laboratoire de pathologie équine de dozulé – 27-31 avenue du Général Leclerc – début 07/2010</p> <p>1.2 AFSSA – Directeur du laboratoire d'études et de recherches en pathologie – 27-31 avenue du général Leclerc – début avril 1999 fin juin 2010</p> <p>6 Formation IFCE cours sur le parasitisme interne des équidés 3 – rémunération vacances – début 2006 fin 2010</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>09 octobre 2012</p>
<p>LAVAL</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Arlette</p> <p>1.1 Retraitée, Professeur émérite - 1 square Jean Heurtin 44000 Nantes – début 01/09/2012 en cours</p> <p>1.2 Ministère de l'Agriculture ONIRIS ENV de Nantes – Professeur - CS 40706 44307 Nantes cedex 3 – début 01/10/1997 fin 31/08/2012</p> <p>2.3 VETALLIANCE - Activités de service - Probiotique (Biosaf) – étude monocentrique – investigateur coordonnateur – rémunération au déclarant – début 01/03/2009 fin 01/03/2010</p> <p>2.4 VETOQUINOL – Vannes Biosécurité en élevage porcin – Vannes Biosécurité en élevage porcin - Coordination de la réunion – début 30/10/2009 – rémunération au déclarant – prise en charge des frais de déplacement</p> <p>3. ONIRIS, Unité de Médecine des Animaux d'Elevage - SEPPIC – début 01/09/1997 fin 31/10/2012 - ONIRIS,</p>	<p>13 novembre 2012</p>

	<p>Unité de Médecine des Animaux d'Elevage – RTE – début 01/03/2002 en cours ONIRIS, taxes d'apprentissage - Groupements de producteurs de porc (Cooperl) – début 01/07/2009 fin 31/08/2010 - ONIRIS, taxes d'apprentissage - laboratoires pharmaceutiques vétérinaires (MERIAL, MSD...) – début 01/16/1997 fin 31/08/2012</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>LEFORBAN</p>	<p>Yves</p> <p>10 octobre 2012</p> <p>1.1 Retraité du Ministère de l' Agriculture depuis le 15 avril 2010 – début 15/04/2010</p> <p>1.2 Ministère de l'Agriculture - Président de la section santé et alimentation du Conseil général de l'alimentation, de l' agriculture et des espaces ruraux - 251 rue de Vaugirard, 75732 Paris cedex 15 – début 01/09/2002 fin 14/04/2010 FAO, Rome - Secrétaire de la Commission Européenne de Lutte contre la Fièvre Aphteuse (EUFM) - AGAH, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italie – début 06/1994 fin 08/2002</p> <p>2 Conseil scientifique du département Santé animale de l'INRA – Membre – aucune rémunération – début 01/2007 fin 12/2010 FVI (France Vétérinaire International) - Responsable de la mission d'évaluation finale du Projet Gripavi: " Recherche sur l'écologie et l'épidémiologie de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle dans les pays du Sud" – début 07/2012 fin 10/2012 – rémunération au déclarant</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>LUPO</p>	<p>Coralie</p> <p>08 octobre 2012</p> <p>1.1 IFREMER - chercheur épidémiologiste - Laboratoire de Génétique et Pathologie– début 04/2010</p> <p>1.2 Ministère chargé de l'agriculture - chargée d'étude Bureau des établissements d'abattage et de découpe -- début 04/2009 fin 03/2010 Anses - doctorant - Formation complémentaire par la recherche - Laboratoire de Ploufragan – début 02/2005 fin 03/2009</p> <p>2.2 EFSA - participation à un groupe de travail – rémunération au déclarant – début 03/2011 fin 06/2012</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>MEYER</p>	<p>Gilles</p> <p>1.1 Ministère Agriculture- ENVT - Maitre de Conférences -- début 10/2000</p>	

2.1

Société Française de Buiatrie – Trésorier – aucune rémunération – début 03/2012

European College of bovine Health Management – Diplome – aucune remuneration – début 07/2007

2.2

EU DG Research, DISCONTTOOLS FP 7 - Expert du groupe sur le virus respiratoire syncytial bovin – aucune rémunération – début 2009 fin 2011

Société GSK, Glaxo-SmithKline - expert, advisory board : Acute human respiratory syncytial virus (RSV) vaccine development (1 jour: 02 Décembre 2010) – remuneration au déclarant – début 12/2010 fin 12-2010

ANSES - expert du groupe virologie pour l'évaluation des laboratoires de l'ANSES (3 jours) – aucune rémunération – début 07/2010 fin 07/2010

2.3

MERIAL - Vaccination: Evaluation de la protection foetale contre le BVDV par un vaccin atténué - Vaccin MUCOSIFFA – étude monocentrique – investigateur principal – début 2006 fin 12/2009 – rémunération à un organisme UMR 1225 INRA-ENVT

MSD Santé Animale - Vaccination: suivi de la réponse neutralisante (pestivirus) après vaccination de moutons par un vaccin BVDV inactivé - Vaccin BOVILIS-BVD – étude monocentrique – investigateur principal – début 12/2010 fin 12/2011 – rémunération UMR1225-INRA-ENVT

VETOQUINOL - Infection experimentale à Mannheimia haemolytica pour l'amélioration de l'utilisation d'une fluoroquinolone - FORCYL 4 – étude multicentrique – co-investigateur – début 09/2012 fin 09/2014 – rémunération à un organisme UMR1225 INRA-ENVT

2.4

GTV - Journées Nationales des GTV. Nantes 23-25 Mai 2012 - Présentation orale: Actualités sur la BDV: épidémiologie moléculaire et réponse humorale à la vaccination par Bovilis-BVD. – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération – début 05/2012 fin 05/2012

PFIZER - Journées information aux vétérinaires Paris, 7 juillet 2011. - Conference: Facteurs de risque des maladies respiratoires à l'allotement des jeunes bovins – prise en charge des frais de déplacement – rémunération à un organisme ENVT – début 07/2011 fin 07/2011

MSD-Prague, 31may-01 June, 2010-Colloque scientifique (BVD and IBR control : the keys for successfull herd management. Conference: Interspecies infections of ruminant pestiviruses. Prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération – début 05/2010 fin 06/2010

MSD - Amsterdam, 2 et 3 Mars 2009, Colloque scientifique: Actualités sur la bluetongue - Conference: New prospects for bluetongue vaccination. – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération – début 03/2009 fin 30/2009

MSD - Concepts in the prevention of bovine respiratory disease. Symposium Intervet, Rome 10 et 11 juin 2008 - Conference: Bovine respiratory syncytial virus:

Experimental infection with BRSV: from the practitioner to the scientists point of view. – prise en charge des frais de déplacement – aucune remuneration – début 06/2008 fin 06/2008

GTV - Journées Nationales des GTV, Nantes, 28-30 Mai 2008 - Conférence: Démonstration expérimentale de la protection foetale induite par la vaccination avec Mucosiffa. – prise en charge des frais déplacements – aucune rémunération – début 05/2008 fin 05/2008

MERIAL - Toulouse 24 Juin, 2010 - Journées de la vitellerie - Conférence: Nouvelles techniques de diagnostic – aucune prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération – 06/2010

Bulletin des GTV – article - Prélèvements en pathologie respiratoire et incidence sur les résultats du diagnostic étiologique. – aucune prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 2011

Le Point vétérinaire – article - Données actuelles sur les viroses respiratoires des bovins – pas de prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 2011

La Dépêche Vétérinaire, supplément technique – article - Maladies respiratoires et vaccination – aucune prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – fin 2010

Le nouveau praticien vétérinaire Elevage et Santé - Numéro Spécial Vaccins et Vaccination, le renouveau - La vaccination contre le virus respiratoire syncytial bovin : contraintes physiopathologiques et efficacité vaccinale – aucune prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 2009

Le nouveau praticien vétérinaire Elevage et Santé - Numéro Spécial Vaccins et Vaccination, le renouveau - Les futurs vaccins contre la bluetongue : état des recherches. – aucune prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 2009

5.

Laboratoire vétérinaire Départemental de la Haute-Garonne

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

MICHEL

Virginie

22 mars 2012

ANSES – Laboratoire de Ploufragan – Chef d'unité

IP-SC

RV Biotech – Essai d'euthanasie sur les porcs – début 2010 fin 2011 – Obtention d'un financement régional 19920 €

DGAL – Etude épidémiologique sur l'Influenza aviaire – début 2007 FIN 2010 – Convention de 500000€ avec la Dgal

IP-RE

EFSA – Impact du logement et management sur le bien-être du poulet de chair – début 2009 fin 2010 – rémunération EFSA

Commission Européenne – Expert « bien-être » - début 2010 en cours – rémunération Per diem.

Commission Européenne – Expertise sur le bien-être du poulet de chair – début 2011 en cours – Prise en charge du déplacement

Analyse Anses :	<p>EFSA – Participation à une expertise sur le sujet « meat inspection » - début 2011 en cours –EFSA IP-AC DGAL – Groupe de travail poulet de chair – début 2010 en cours – aucune rémunération IP-CC ONIRIS – Cours sur le bien-être animal – début avril 2011 – rémunération vacation</p>	
MILLEMANN	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p> <p>Yves</p> <p>1.1 Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Enseignant-Chercheur</p> <p>2.2 Société Française de Buiatrie - Vice-président – début mars 2012 fin 2012 – rémunération aucune - Groupements techniques vétérinaires - membre du comité scientifique des Journées Nationales des GTV – début 2009 fin 2012 – aucune rémunération Nouveau Praticien Vétérinaire - élevages et santé - membre du comité de rédaction – début 2006 fin 2012 – aucune rémunération Collège européen de gestion de la santé des bovins (ECBHM) - Membre du comité d'appel – début janvier 2012 fin 2012 – aucune rémunération</p> <p>2.4 Le Point Vétérinaire - sans objet - articles rédigés en 1er auteur – aucune prise en charge de frais de déplacement – début 2006 Bulletin des GTV - sans objet - articles rédigés en 1er auteur – aucune prise en charge des frais de déplacement – début 2006 fin 2012 – Le Nouveau Praticien - Elevages et Santé - Le Nouveau Praticien - Elevages et Santé - articles rédigés en 1er auteur – aucune prise en charge — début 2006 fin 2012 PFIZER Santé Animale Europe - Conférence "BRD" à la buiatrie slovène - Ormoz, Slovénie - Complexe respiratoire bovin - pas de produit visé – prise en charge des frais de déplacement - rémunération au déclarant – 2007 INTERVET - Symposium "FCO" à Bruxelles, Belgique - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération –2008 INTERVET - Cycle de conférences; lieux variés - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement – 2008 Merial - Cycle de conférences; lieux variés - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement –2008 INTERVET - Symposium "FCO" à Amsterdam, Pays-Bas - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération –t 2009 CEVA - Forum européen de buiatrie, Marseille – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération –2011</p>	09 octobre 2012

	<p>MERIAL - Congrès Rencontres Recherches Ruminants à Paris - – prise en charge des frais de déplacements – aucune rémunération – début 2007 fin 2008</p> <p>PFIZER SANTE ANIMALE - Forum européen de buiatrie, Marseille – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération – début 2009 fin 2009</p> <p>MERIAL - Forum européen de buiatrie, Marseille – début 2009 fin 2009</p> <p>3. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage 2007 : – BOERHINGER INGELHEIM, SCHERING-PLOUGH, BAYER, PFIZER</p> <p>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage – 2008 : BOERHINGER INGELHEIM, CEVA</p> <p>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage – 2009 : BOERHINGER INGELHEIM, BAYER, PFIZER, MERIAL, NOE, SOGEVAL</p> <p>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage – 2010 : BOERHINGER INGELHEIM, BAYER, MERIAL, NOE, PFIZER</p> <p>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage – 2011 : BOERHINGER INGELHEIM, PFIZER, INTERVET, BAYER, MERIAL, CEVA</p> <p>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - convention de formation et actions d'appui - Pfizer Santé Animale – début 2009 fin 2011</p> <p>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - convention pour aide doctorant / étude FCO caprine - Intervet – MSD – début 2009 fin 2012</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>MOLIA</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Sophie</p> <p>1. CIRAD – Chercheur - Campus international Baillarguet, Montpellier – début 01/2004 en cours</p> <p>2.2 France Vétérinaire International - Expertise dans le cadre de contrats avec mon employeur – rémunération au CIRAD – début 06/2012 fin 06/2012</p> <p>2.3 Ministère des Affaires Etrangères – Recherche - Epidémiologie de l'influenza aviaire – rémunération au CIRAD – début 2007 fin 2011</p> <p>FAO – Recherche - Epidémiologie de l'influenza aviaire – rémunération CIRAD – début 11/2007 fin 11/2008</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>21 septembre 2012</p>
<p>MORMEDE</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pierre</p> <p>1.1 Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) - Directeur de Recherche - début 1975</p> <p>2.2 DANONE RESEARCH – Consultant – rémunération au déclarant – début 01/2007 fin 12/2008</p>	<p>24 septembre 2012</p>

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
NICOLLET	Philippe 1.1 Conseil général de la Vendée - Directeur Laboratoire Analyses - début 16/10/2012 Conseil General Des Deux Sèvres - Responsable Sante Animale – début 01/09/2002 fin 15/10/2012 5. Direction Départemental De La Protection Des Populations De La Charente Maritime	24 septembre 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
PELLERIN	Jean-Louis 1.1 ONIRIS – Professeur - début 1/1/1984 2.3 VETOQUINOL - ISOLEMENT DE SOUCHES Bactériennes Pathogènes - Epidemiosurveillance de la marbofloxacin 3 Oniris Taxe d'apprentissage janvier 2007 à décembre 2012– VETOQUINOL – MERIAL – PFIZER Oniris Taxe d'apprentissage janvier 2008 à décembre 2012 – SOGEVAL Oniris Taxe d'apprentissage janvier 2008 à décembre 2010- FORT DODGE – Oniris Taxe d'apprentissage janvier 2011 à décembre 2012- CEVA SANTE ANIMALE	01 octobre 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
RUVOEN	Nathalie 1.1 ONIRIS. - Enseignant- chercheur - Oniris Site de la Chantrerie début 1/10/1991 4 CEERAM Centre européen d'expertise et de recherche sur les agents microbiens - Apport financier en fonds propres 5 CEERAM Centre européen d'expertise et de recherche sur les agents microbiens	02 octobre 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
SAEGERMAN	Claude 1. Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire - Président de Département - 2.2 Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA -Belgique) - étude des procédés d'abattage et de découpe de viande en Belgique dans le contexte des risques de la contamination de la viande de tête/carcasses de début 2010 fin 2011 – Budget permettant l'engagement d'un chercheur affecté sur le	

projet + frais de fonctionnement
EFSA Consortium ANSES – Central Veterinary Institute
Leylistad – Université de Liège de partir du 20/01/2011
(15 mois) Budget permettant l'engagement d'un
chercheur affecté sur le projet + frais de fonctionnement

2.3

ANSES - France Membre effectif du CES-SA – de 2003
en cours - prise en charge des frais de déplacements -
rémunération vacations

AFSCA - Belgique Membre effectif du comité
scientifique - depuis 2008 à en cours - prise en charge
de frais de déplacements – rémunération vacations

ANSES - France Expert rapporteur du CES-Biocides
Depuis décembre 2010 en cours - prise en charge des
frais de déplacements - rémunération vacations

AERES - France Evalueur d'unités de recherche - de
Depuis Mars 2010 en cours prise en charge des frais de
déplacements et vacations

Santé Publique, Sécurité de la Chaîne Alimentaire et
Environnement Expertise de projets scientifiques -
depuis 2005 en cours - frais de déplacements et
vacations

European Medicines Agency Membre Vet ad hoc SAG
Bluetongue – depuis 2010 à en cours - prise en charge
des frais déplacements et vacations

EFSA - Membre des groupes de travail Bluetongue,
Meat Inspection (swyne and cattle) et Emerging Risks
Exchange Network - depuis 2010 en cours – prise en
charge de frais déplacements et vacations

Scientific Advisory Board of a grant of the USDA - Bee
Informed Partnership grant (mise en place d'un réseau
national d'épidémiologie concernant la mortalité
des abeilles domestiques) - depuis Mai 2011 en cours –
prise en charge de frais déplacements et vacations

2.4

FNGDSB - Partage de l'expérience belge sur la
tuberculose bovine - de 2007 à – prise en charge des
frais de déplacement

LDAR 34 - Partage de l'expérience Belge sur la
tuberculose bovine - de 2010 à – prise en charge de
frais de déplacement

COLOSS Action COST – Work Group Monitoring and
Diagnosis - Partage d'expérience concernant les
activités scientifiques menées par le groupe de travail -
de Février 2011 en cours - Déplacement

2.5

Institutions publiques ou, à défaut, firmes
pharmaceutiques - Symposium de l'Association
d'Epidémiologie et de Santé Animale (AESA)
Depuis 2005 - Sponsoring de +/- 500€ 1x/an au bénéfice
de l'AESA

Bayer - Conférence : piroplasmose bovine - 2007 -
Soutien logistique à la conférence

Centre d'études et de recherche Vétérinaires et
Agrochimiques (CERVA, Belgique) - Conférence sur la
surveillance en santé animale organisée dans le cadre
de la Présidence belge de l'Union Européenne - Déc
2010 - prise en charge des frais de déplacement

Analyse Anses :	<p>2.6</p> <p>INRA - Rapport d'expertise sur formation – postdoctorale – de 2008 en cours OIE - Rapport d'expertise – de 2008 en cours -Néant ANSES – INRA - Rapport d'expertise concernant une formation doctorale de 2009 SELOR (organisme de sélection des agents de l'Etat en Belgique) - Membre d'un Jury de sélection d'un poste de Directeur de l'AFSCA - de 2010 en cours – prise en charge des frais de déplacements et vacations Université de Pretoria (Afrique du Sud) - évaluation de propositions de programme de recherche relative à la santé animale - depuis 2011 en cours - BBSRC (UK) - Rapport d'expertise concernant un projet de recherche relatif à la tuberculose bovine depuis 2011 en cours – Commission Européenne - Rapports d'expertise concernant des projets européens (EMIDA ERA-net, ARIMNET) de 2011 en cours - Forfait par dossier évalué</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	13 septembre 2012
THIRY	<p>Etienne</p> <p>1.1</p> <p>Université de liège - Professeur ordinaire - début 1980</p> <p>2.1</p> <p>Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire (Afsca, Belgique) - membre du comité scientifique – début 01/2001 fin 12/2001– rémunération au déclarant - Agence fédérale des médicaments et produits de santé (Afmpps, Belgique) - membre de la commission des médicaments vétérinaires – rémunération au déclarant – début 01/1997 Centre d'études et de recherche vétérinaires et agrochimiques (CERVA, Belgique) - membre du conseil scientifique et du jury de recrutement – rémunération au déclarant – début 01/1999 INRA - membre du conseil scientifique du département "Santé animale" – aucune rémunération - début 01/2012 fin 12/2014 Association d'Epidémiologie et de Santé Animale (AESA, Belgique) – administrateur – aucune rémunération – début 01/1989 fin 12/2014 Conseil de la Recherche et de l'Innovation en Région Centre (CoRIT) – membre – aucune rémunération – début 01/2005 fin 12/2014 - INRA - président du conseil d'orientation scientifique et stratégique de l'institut d'Expérimentation en Infectiologie Animale – aucune rémunération – début 01/2010 fin 12/2014 Scientific Advisory Board of the Technical and Research Institute BIOASTER (France) – Membre – remuneration au déclarant – début 05/2012 fin 12/2014 European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD) – Membre – aucune remuneration – début 01/2006 fin 12/2014</p> <p>2.2</p>	5 octobre 2012

AERES - membre de comité d'évaluation – rémunération au déclarant - 01/2008 12/2013
INRA - membre de jury de recrutement – rémunération au déclarant – début 04/2012 fin 05/2012
ANR - analyse de projet de recherches – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 12/2013
Fonds de la Recherche scientifique (FRS-FNRS, Belgique) - évaluations de projets de recherche – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 12/2013
Dipartimento Della Innovazione
Direzione Generale Della Ricerca Scientifica E Tecnologica (Italie) - évaluations de projets de recherche – rémunération au déclarant - début 01/2008 fin 12/2013
National Science Centre Narodowe Centrum Nauki, NCN) (Pologne) - évaluations de projets de recherche – rémunération au déclarant – début 01/2011 fin 12/2013
SIMV - membre de groupe de travail – rémunération au déclarant – début 01/2009 fin 12/2009
Boehringer Ingelheim - Expertise de projets de vaccins animaux (BVD) – rémunération à un organisme université de Liège – début 01/2011 12/2013
Merial - Expertise de dossiers d'AMM européenne (vaccin fièvre catarrhale ovine) – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 11/2008
Hipra - Expertise de projets cliniques (IBR) – rémunération au déclarant – début 01/2011 fin 12/2011
AESA - Agri-consulting - Coordinator, Animal health prevention and control of emerging animal diseases under the "Better Training for Safer Food" programme of the European Commission – rémunération au déclarant – début 04/2012 fin 12/2013
ANEP (Espagne) - Evaluation de projets scientifiques – rémunération au déclarant – rémunération au déclarant – début 01/2011 fin 31/12/2011
Service Public Fédéral belge, santé publique, recherche contractuelle - Evaluation de projets scientifiques – rémunération au déclarant – rémunération au déclarant – début 01/2011 fin 31/12/2013

2.4

UNION PROFESSIONNELLE VETERINAIRE - formations continues en maladies virales animales – pas de prise en charge – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 12/2013
CERCLES VETERINAIRES REGIONAUX - - formations continues en maladies virales animales - pas de prise en charge – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 12/2013
ADMINISTRATION DES SERVICES VETERINAIRES (Grand Duché de Luxembourg) - formations continues en maladies virales animales – prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 12/2013
CEAV de médecine interne des animaux de compagnie - 1 fois par an, Lyon ou Maisons-Alfort, module maladies infectieuses - formation en maladies virales des animaux de compagnie - prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 12/2013
ONIRIS - 1 fois par an - formation en vaccination des

animaux d'élevage, 5e année vétérinaire "santé animale et santé publique" - prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 01/2008 fin 12/2012
 Institut de Médecine Tropicale - 1 fois par an (Anvers, Belgique) - cours de master en maladies virales animales - prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant - début 01/2008 fin 12/2013
 VZW Practische Bijscholing voor Dierenartsen - formation continue (Merelbeke, Belgique) - Praktische aanpak van virale aandoeningen in de praktijk - prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 09/2011 fin 09/2011
 SAVAB - congrès de la SAVAB, Les Isnes, Belgique - conférencier ; maladies virales du chiot – pas de prise en charge de frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 10/2011 fin 10/2011
 HIPRA - International Veterinary Virology Congress (Madrid) - chairman session diagnostic virologique – prise en charge de frais de déplacement – aucune rémunération – début 09/2012 fin 09/2012
 HIPRA - Workshop IBR at the World Buiatrics Congress (Lisbonne) - chairman (IBR) - prise en charge de frais de déplacement – aucune rémunération –2012 fin 2012
 VetEvent (Belgique) - Congrès (Spa) - conférencier (maladies émergentes) – pas de prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 03/2012 fin 03/2012
 GTV 53 - formation continue (Laval) - conférencier: le point sur la FCO et le virus Schmallenberg – prise en charge des frais de déplacement – rémunération au déclarant – début 04/2012 fin 04/2012

3.

Université de Liège - Coris-Bioconcept – début 05/2010 fin 05/2010
 Université de Liège – Vetoquinol – début 01/2009 fin 12/2009

5.

MSD Animal Health

6.

Rédaction d'ouvrages médicaux, éditions du Point Vétérinaire - droits d'auteur – début 1999 en cours
 Traduction d'ouvrage pour l'OIE - droits de traduction - droits de traduction – début 2011 fin 2012

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

TOMA	Bernard 1.1 Retraité	24 septembre 2012
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
VIALARD	Jaqueline 1. ANSES – Laboratoire de Niort – Directrice du Laboratoire IP-SC	09 mars 2012

SNGTV / Boehringer Ingelheim - Etude par génotypage des sources de contamination de production fromagère par *Staphylococcus aureus* et de son profil d'antibiorésistance – début 2008 fin 2010 – aucune rémunération

IP-SC

Syndicat de l'industrie du médicament vétérinaire (SIMV) - Elaboration d'un guide de recommandations à destination des éleveurs sur la vaccination des bovins (Diarrhées néonatales, entérotaxémies, affections respiratoires) – début 2009 en cours – rémunération vacation

FRGDS Rhône Alpes - Référent scientifique pour l'élaboration d'un module de formation à destination des éleveurs sur la BVD – début 2010 en cours – rémunération vacation

IP-CC

FRGDS Rhône Alpes Identification et gestion sanitaire de la BVD dans les cheptels (conférence) – fin Oct 2007 - pas de rémunération

GTV Rhône Alpes Examens de laboratoire : Intérêts et limites dans l'identification des maladies infectieuses du bétail (conférence) – fin Oct 2007 - Rémunération perçue par l'institution (ENVL)

Intervet – Schering Plough - Cycle de quatre conférences sur le diagnostic des entérites et des septicémies du veau – Octobre – novembre 2009 - rémunération vacation

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

ZIENTARA

Stephan

1.1

ANSES - Directeur d'UMR - début 1988

2.2

OIE – expert – aucune rémunération – début 2012

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

POUR LA COMMISSION NATIONALE DU MEDICAMENT VETERINAIRE

NOM	Prénom <i>Rubrique de la DPI</i> Description de l'intérêt	Date de déclaration des intérêts
ALVINERIE	Roger IP-AC Travaux de pharmacocinétique – CEVA Consultant ponctuel – CEVA et Merial IP-CC Formation - PFIZER	13 Janvier 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
BERNY	Philippe IP-SC/ VB Essais efficacité raticides – LIPATECH IP Expertises efficacité raticide - LIPATECH Expertise tolérance locale Solubénol - TRANSPHARM Expertise Innocuité Zactran - Merial Expertise innocuité Vitamine K - TVM Guide thérapeutique intoxication aux anticoagulants - TVM Expertise innocuité vitamine K – TVM IP-AC Accidents toxicologiques sur espèces non cibles – BAYER CROP Accidents toxicologiques sur espèces non cibles – SYNGENTA VB Enseignant chercheur - LIPATECH Enseignant chercheur - BAYERCROP	27 Février 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
BOULLIER	Séverine VB/ IP-RE Etude de la prévalence des infections par <i>Bordetella bronchiseptica</i> chez le chien – INTERVET IP-AC Groupe de travail sur la physiopathologie de la trachéobronchite infectieuse canine – INTERVET SR-A Colloque sur la vaccination de l'animal âgé – Merial IP-CC Cours de vaccinologie – VIRBAC VB Etude de la prévalence des infections par <i>Bordetella bronchiseptica</i> chez le chien – INTERVET	22 Mars 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
BOUSQUET-MELOU	Alain IP-AC Groupe d'étude en antibiothérapie maîtrisée -	27 Mars 2012

SOGEVAL
 Observance en antibiothérapie bovine - PFIZER
 Antibiothérapie mammites bovines - BOEHRINGER
 Consultance ponctuelle – NOVARTIS SA
IP-CC
 Approche raisonnée de la prévention anti-infectieuse de jeunes bovins à l'allaitement – PFIZER
 Antibiotiques et médicaments génériques - BAYER
 Usage prudent des antibiotiques en médecine vétérinaire – VETOQUINOL
VB
 Pharmacocinétique et pharmacodynamie - VETOQUINOL
 Tolérance - CEVA
 Pharmacocinétique et pharmacodynamie - MERIAL
 Pharmacocinétique et pharmacodynamie - NOVARTIS
 Pharmacocinétique et pharmacodynamie – INTERVET/SCHERING

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

CADIERGUES

Marie-Christine

5 Avril 2012

IP-SC
 Rédaction d'articles scientifiques – VIRBAC SA
 Rédaction d'articles de vulgarisation, essais cliniques – LDCA
IP-AC
 Consultant pour le marketing – VIRBAC SA
 Groupe de réflexion sur l'utilisation raisonnée des antibiotiques chez les carnivores - SOGEVAL
 Consultant produits d'hygiène cutanée - LDCA
 Consultant pour le R&D – NOVARTIS
IP-CC
 La dermatite à *Malassezia* – DECHRA
 Idées reçues en dermatologie – MERIAL
 TP de dermatologie ; soirée cas cliniques ; web conférence antibiothérapie - SOGEVAL
 Conduite à tenir face à une otite chronique ; roadshow antiparasitaires externes : prescription raisonnée - VIRBAC
 Soirée cas clinique ENVT - LDCA
 Soirée cas cliniques AFVAC Junior ENVT - SEXMOOR
 Conduite à tenir face au prurit chez le chien - ELANCO
 Les hypersensibilités alimentaires – ROYAL CANIN
IP-A
 Jury de concours de cas cliniques – SEXMOOR
VB
 Etude épidémiologique - MERIAL
 Cas cliniques - SEXMOOR
 Taxe d'apprentissage annuelle – PFIZER

	<p>Taxe d'apprentissage annuelle - NOVARTIS</p> <p>Taxe d'apprentissage annuelle - VIRBAC</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
CHETBOUL	<p>Valérie</p> <p>IP-SC Efficacité d'un nouvel anti- hypertenseur chez le chat - SOGEVAL Efficacité d'un nouveau diurétique chez le chien insuffisant cardiaque – VETOQUINOL</p> <p>IP-RE Etude du marqueur NT-proBNP chez le chien insuffisant cardiaque – BIOMEDICA / ANTAGENE</p> <p>IP-AC European task force for the competency statement – ECVIM International advisory board in Cardiology - ORION Canine heart failure international expert forum – NOVARTIS ANIMAL HEALTH Consultante ponctuelle en cardiologie animale - VETOQUINOL Consultante ponctuelle en cardiologie animale – PFIZER USA</p> <p>IP-CC Conférence sur complication de la MDV du chien – VETOQUINOL Formation en cardiologie canine - VETOQUINOL L'hypertension artérielle systémique - MERIAL Formation en cardiologie canine – NOVARTIS ANIMAL HEALTH</p> <p>VB Bourse pour doctorat es-sciences – NOVARTIS ANIMAL HEALTH Financement d'une assistante de recherche clinique – VETOQUINOL</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	10 Mars 2012
FAROULT	<p>Bertrand</p> <p>PF Parts sociales et parts d'industrie – SCP vétérinaire COSSON, FAROULT, CADOT, FRIBOURG-BLANC Actions d'HIPPOCAMPE SA</p> <p>LD Associé co-gérant dans la SCP vétérinaire COSSON, FAROULT, CADOT, FRIBOURG-BLANC Associé de SCM VETOALLIANCE</p> <p>IP-RE Expertise sinistres santé animale - AUDIVET</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	16 Mars 2012
FICHEUX	<p>Hervé</p> <p>LD salarié de la société THOR</p>	5 Mars 2012

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine.		
FORTINEAU	Olivier IP-CC Gestion de la douleur chez les bovins – BOERHINGER INGELHEIM	16 Février 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine.		
HAGEN-PICARD	Nicole IP-SC Etude de tolérance chez la vache – CEVA SANTE ANIMALE Chirurgie expérimentale chiens - AVOGADRO Etude de bioéquivalence chez les bovins – SCHERING-PLOUGH IP-AC Optimisation des conditions de gestion sanitaire à Midatest – MIDATEST IP-CC Formation à l'échographie de l'appareil génital de la vache - PFIZER Formation VETELEVAGE-VETOEXPERT – CEVA SANTE ANIMALE VB Etude de tolérance chez la vache – CEVA SANTE ANIMALE Chirurgie expérimentale chiens - AVOGADRO Etude de bioéquivalence chez les bovins – SCHERING-PLOUGH	21 Mars 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine.		
HUGNET	Christophe IP-SC Expert clinique - TVM	4 Avril 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
MAILLARD	Renaud LD Salarié de BBECAM de 1988 à 1990 Salarié de SMITHKLINE de 1990 à 1995 Salarié de PFIZER de 1996 à 2000 IP-RE Expertise clinique antibiotique – PFIZER IP-AC Conseil activité bovine – VIRBAC IP-CC Formation pathologie respiratoire porcine - VIRBAC Formation FCO - Merial Conférence pathologie veau - Merial Conférence EBM, conférence fièvre - PFIZER	16 Janvier 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
MILLEMANN	Yves	2 Mars 2012

IP-CC

Conférence BRD à la buiatrie slovène – PFIZER
Conférence FCO, symposium bruxelles - INTERVET

Cycles de conférences FCO – MERAL / INTERVET

Conférence FCO, symposium Amsterdam - INTERVET

Formation à destination des vétérinaires de l'entreprise, appui ponctuel sur des problèmes d'élevage – PFIZER

IP-A

Congrès mondial de buiatrie – BOERHINGER INGELHEIM

Congrès 3R - MERAL

Congrès européen de buiatrie – PFIZER, MERAL et CEVA

Congrès ECBHM, Liège – MSD SANTE ANIMALE

VB

Taxe d'apprentissage 2006– NEVA CENTRALYS

Taxe d'apprentissage 2007– BOERHINGER INGELHEIM, SCHERING-PLOUGH, BAYER, PFIZER

Taxe d'apprentissage 2008- BOERHINGER INGELHEIM, CEVA

Taxe d'apprentissage 2009 - BOERHINGER INGELHEIM, BAYER, PFIZER, MERAL, NOE, SOGEVAL

Taxe d'apprentissage 2010 - BOERHINGER INGELHEIM, BAYER, MERAL, NOE, PFIZER

Taxe d'apprentissage 2011 - BOERHINGER INGELHEIM, PFIZER, INTERVET, BAYER, MERAL, CEVA

Convention pour études expérimentales - INTERVET

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

NORMAND**Valérie**

3 Février 2012

IF

Actions dans la Selarl porc-spective

Actions dans FINALAB

Actions dans GCV

Actions dans ALCYON

Actions dans CVC

LD

Co-gérante de la Selarl porc-spective

IP-SC

Essai terrain – JANSSEN / BOERHINGER

Essais cliniques - COOPHAVET

Formation à la conduite d'élevage et à la pathologie – NOVARTIS

Travaux sur la prophylaxie vaccinale - INTERVET

Co-rédaction d'un article scientifique sur l'anémie – CEVA

IP-AC

Antibiothérapie – antibiorésistance – SOGEVAL

IP-CC

Pathologie digestive - VIRBAC

	<p>Ventilation et biosécurité - VETOQUINOL</p> <p>Responsable pharmaceutique de la fabrication et de la distribution d'aliments médicamenteux – HINAULT-YFFINIAC</p> <p>Responsable pharmaceutique de la fabrication et de la distribution d'aliments médicamenteux – COREAL-YFFINIAC</p> <p>SR</p> <p>Conjoint collaborateur libéral à SELVET CONSEIL</p> <p>Conjoint co-gérant de SELARL porc-spective.</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
PELLERIN	<p>Jean-Louis</p> <p>VB</p> <p>Vente de souches bactériennes de bactériologie clinique pour l'épidémiologie-surveillance de la marbofloxacine - VETOQUINOL</p> <p>Taxe d'apprentissage – VETOQUINOL</p> <p>Taxe d'apprentissage - SOGEVAL</p> <p>Taxe d'apprentissage - MERIAL</p> <p>Taxe d'apprentissage - PFIZER</p> <p>Taxe d'apprentissage – CEVA SANTE ANIMALE</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	15 Février 2012
PROUILLAC	<p>Caroline</p> <p>SR-A</p> <p>Conférence pour des étudiants vétérinaires - BOIRON</p> <p>VB</p> <p>Mise en place d'informations sur les zoonoses – NOVARTIS</p> <p>Taxe d'apprentissage - PFIZER</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine.</p>	14 Mars 2012
PULCE	<p>Corine</p> <p>SR-A</p> <p>Levées d'insu pour l'association des toxicologues du centre antipoison de Lyon</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	6 Avril 2012
ROBERTON	<p>Jacques</p> <p>PF</p> <p>Actionnaire co-gérant du cabinet vétérinaire LA CHESNAIE VET</p> <p>Actionnaire d'ALCYON</p> <p>LD</p> <p>Activité libérale en aviculture</p> <p>Contrat d'assistance technique – ORVIA</p> <p>Suivi sanitaire - GALOR</p> <p>Prestations techniques et suivi sanitaire – acouveurs gallus</p> <p>IP-AC</p>	5 Avril 2012

	<p>Commission aviaire pour le SNGTV Formation de vétérinaires sanitaires – SNGTV / DGAL Certification exportation – France AGRIMER Participation à la commission technique – CIP SR Beau frère directeur de BASF DUNKERQUE</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
ZENNER	<p>Lionel IP-AC Consultant TVM VB Test de produit acaricide - BAYER Travail scientifique sur <i>Dermanyssus gallinae</i> - PHYTOSYNTHESE Test d'efficacité de produits anti-histomonas - CEVA Modèle de tests de produits contre l'histomonose - EVIALIS Essai thérapeutique <i>in vitro</i> anti-histomonas – AKZO- NOBEL</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	14 Avril 2012

POUR LE GROUPE DE TRAVAIL

BERNY	<p>Philippe IP-SC/ VB Essais efficacité raticides – LIPATECH IP Expertises efficacité raticide - LIPATECH Expertise tolérance locale Solubénol - TRANSPHARM Expertise Innocuité Zactran - MERAL Expertise innocuité Vitamine K - TVM Guide thérapeutique intoxication aux anticoagulants - TVM Expertise innocuité vitamine K – TVM IP-AC Accidents toxicologiques sur espèces non cibles – BAYER CROP Accidents toxicologiques sur espèces non cibles – SYNGENTA VB Enseignant chercheur - LIPATECH Enseignant chercheur - BAYERCROP</p>	27 Février 2012
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
FOUCRAS	<p>Gilles 1.1 Ministère de l'Agriculture - Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Enseignant Chercheur (PR) - 23 chemin des Capelles BP 87614 31076 Toulouse cedex 03 – début 09/1995 2.1 Groupement d'Intérêt Scientifique Analyse du GENome des Animaux d'Elevage (AGENAE) – Membre du Comité Thématique bovin – début 11/2008 – aucune rémunération Société Française de Buiatrie – Secrétaire – début 04/2012 – aucune rémunération 2.2 Editions NEVA - Membre du Comité de rédaction - auteur d'articles de synthèse – début 2007 – rémunération au déclarant 2.3 PFIZER AH - Travaux scientifiques - Pancytopenie néonatale bovine – Etude monocentrique – Investigateur principal – début 03/2010 fin 31/12/2012 – Rémunération à un organisme INP-ENVT LSI - Lesaffre Feed Additives - Travaux scientifiques - activités immunostimulantes de composés de paroi de levures – étude monocentrique – Co-investigateur – début 03/2010 fin 06/2011 - Rémunération à un organisme INP-ENVT 2.4 VIRBAC – Rennes Pont-à-Mousson Cournon - Gestion de la BVD en élevage bovin – début 09/2012 fin 12/2012 – rémunération au déclarant – prise en charge des frais de déplacement PFIZER AH – Tours - Génétique et immunité</p>	25 septembre 2012

	<p>mammaire – début 04/2010 fin 04/2010 – aucune rémunération – prise en charge des frais de déplacement</p> <p>MERIAL - MERIAL - Immunité du jeune veau – début 06/2010 fin 06/2010 – aucune rémunération – pas de prise en charge des frais de déplacement</p>	
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
JONDREVILLE	<p>Catherine</p> <p>INRA UNMR INRA Agros campus Rennes – Systèmes d'élevage Nutrition Animale et Humaine – Ingénieur de Recherches</p> <p>IP-SC CYBELLIA – Co-encadrement de stagiaires sur le thème de la disponibilité (début 2005 fin 2006) aucune rémunération</p> <p>IP-RE Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie au Canada – Installation jeune chercheur – évaluation du programme de recherche – 2004 – aucune rémunération Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada – Installation jeune chercheur – évaluation du programme de recherche - 2005 – aucune rémunération</p> <p>IP-AC ALLTECH – Participation à un atelier de réflexion sur le thème des oligo-éléments – 2006 – aucune rémunération</p> <p>IP-CC Institut Technique du Porc – 11/2004 – aucune rémunération - Formation : P dans l'alimentation des porcs - Cu et Zn dans l'alimentation des porcs Agros campus Rennes – 11/2005 – rémunération – Influence de l'alimentation sur les rejets d'éléments minéraux par les porcs</p> <p>VB CALCIALIMENT (France) – organisme bénéficiaire INRA – Ingénieur de recherches – INRA – Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) BASF AG (Allemagne) – organisme bénéficiaire INRA – Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) BASF NA (France) – organisme bénéficiaire INRA – Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) REMINEX (Maroc) – organisme bénéficiaire INRA - Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) TRIBALLAT (France) – organisme bénéficiaire INRA - Ingénieur de recherches (responsable du projet objet</p>	06 février 2006

	<p>d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement) PANCOSMA SA (Suisse° - organisme bénéficiaire INRA - Ingénieur de recherches (responsable du projet objet d'un contrat entre l'INRA et l'organisme à l'origine du versement)</p> <p>SR GHISSETTI – Sœur – Directrice unité de fabrication</p>	
	Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
KEMPF	Isabelle	
	Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
LAVAL	Arlette	13 novembre 2012
	<p>1.1 Retraitée, Professeur émérite - 1 square Jean Heurtin 44000 Nantes – début 01/09/2012 en cours</p> <p>1.2 Ministère de l'Agriculture ONIRIS ENV de Nantes – Professeur - CS 40706 44307 Nantes cedex 3 – début 01/10/1997 fin 31/08/2012</p> <p>2.3 Vétalliance - Activités de service - Probiotique (Biosaf) – étude monocentrique – investigateur coordonnateur – rémunération au déclarant – début 01/03/2009 fin 01/03/2010</p> <p>2.4 Vétoquinol – Vannes Biosécurité en élevage porcin – Vannes Biosécurité en élevage porcin - Coordination de la réunion – début 30/10/2009 – rémunération au déclarant – prise en charge des frais de déplacement</p> <p>3. ONIRIS, Unité de Médecine des Animaux d'Elevage - SEPPIC – début 01/09/1997 fin 31/10/2012 - ONIRIS, Unité de Médecine des Animaux d'Elevage – RTE – début 01/03/2002 en cours</p> <p>Analyse Anses : ONIRIS, taxes d'apprentissage - Groupements de producteurs de porc (Cooperl) – début 01/07/2009 fin 31/08/2010 - ONIRIS, taxes d'apprentissage - laboratoires pharmaceutiques vétérinaires (MERIAL, MSD...) – début 01/16/1997 fin 31/08/2012</p>	
	Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine	
MILLEMANN	Yves	09 octobre 2012
	<p>1.1 Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Enseignant- Chercheur</p> <p>2.2 Société Française de Buiatrie - Vice-président – début mars 2012 fin 2012 – rémunération aucune - Groupements techniques vétérinaires - membre du</p>	

comité scientifique des Journées Nationales des GTV – début 2009 fin 2012 – aucune rémunération
Nouveau Praticien Vétérinaire - élevages et santé - membre du comité de rédaction – début 2006 fin 2012 – aucune rémunération
Collège européen de gestion de la santé des bovins (ECBHM) - Membre du comité d'appel – début janvier 2012 fin 2012 – aucune rémunération

2.4

Le Point Vétérinaire - sans objet - articles rédigés en 1er auteur – aucune prise en charge de frais de déplacement – début 2006

Bulletin des GTV - sans objet - articles rédigés en 1er auteur – aucune prise en charge des frais de déplacement – début 2006 fin 2012 –

Le Nouveau Praticien - Elevages et Santé - Le Nouveau Praticien - Elevages et Santé - articles rédigés en 1er auteur – aucune prise en charge – début 2006 fin 2012
PFIZER Santé Animale Europe - Conférence "BRD" à la buiatrie slovène - Ormoz, Slovénie - Complexe respiratoire bovin - pas de produit visé – prise en charge des frais de déplacement - rémunération au déclarant – 2007

INTERVET - Symposium "FCO" à Bruxelles, Belgique - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération –2008

INTERVET - Cycle de conférences; lieux variés - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement – 2008

MERIAL - Cycle de conférences; lieux variés - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement –2008

INTERVET - Symposium "FCO" à Amsterdam, Pays-Bas - Fièvre Catarrhale ovine - vaccin contre la FCO – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération –t 2009

CEVA - Forum européen de buiatrie, Marseille – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération –2011

MERIAL - Congrès Rencontres Recherches Ruminants à Paris - - prise en charge des frais de déplacements – aucune rémunération – début 2007 fin 2008

PFIZER SANTE ANIMALE - Forum européen de buiatrie, Marseille – prise en charge des frais de déplacement – aucune rémunération – début 2009 fin 2009

MERIAL - Forum européen de buiatrie, Marseille – début 2009 fin 2009

3.

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage 2007 : – BOERHINGER INGELHEIM, SCHERING-PLOUGH, BAYER, PFIZER

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage – 2008 : BOERHINGER INGELHEIM, CEVA

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage – 2009 : BOERHINGER INGELHEIM, BAYER, PFIZER, MERIAL, NOE, SOGEVAL

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe

d'apprentissage – 2010 : BOEHRINGER INGELHEIM, BAYER, MERIAL, NOE, PFIZER
 Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - taxe d'apprentissage – 2011 : BOEHRINGER INGELHEIM, PFIZER, INTERVET, BAYER, MERIAL, CEVA
 Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - convention de formation et actions d'appui - Pfizer Santé Animale – début 2009 fin 2011
 Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - convention pour aide doctorant / étude FCO caprine - Intervet – MSD – début 2009 fin 2012

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

NORMAND

Valérie

3 Février 2012

IF

Actions dans la Selarl porc-spective
 Actions dans FINALAB

Actions dans GCV

Actions dans ALCYON

Actions dans CVC

LD

Co-gérante de la Selarl porc-spective

IP-SC

Essai terrain – JANSSEN / BOEHRINGER

Essais cliniques - COOPHAVET

Formation à la conduite d'élevage et à la pathologie – NOVARTIS

Travaux sur la prophylaxie vaccinale - INTERVET

Co-rédaction d'un article scientifique sur l'anémie – CEVA

IP-AC

Antibiothérapie – antibiorésistance – SOGEVAL

IP-CC

Pathologie digestive - VIRBAC

Ventilation et biosécurité - VETOQUINOL

Responsable pharmaceutique de la fabrication et de la distribution d'aliments médicamenteux – HINAULT-YFFINIAC

Responsable pharmaceutique de la fabrication et de la distribution d'aliments médicamenteux – COREAL-YFFINIAC

SR

Conjoint collaborateur libéral à SELVET CONSEIL

Conjoint co-gérant de SELARL porc-spective.

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine.

POULIQUEN

Hervé

2 Mars 2012

1.1

ONIRIS - Professeur de Pharmacie et toxicologie (depuis 10/1988)

2.2

BOEHRINGER INGELHEIM - Expert Partie III et IV de

	<p>dossiers d'AMM de médicaments (début 01/2008 fin 12/2010) AGUETTANT : Expert Partie III de dossiers d'AMM de médicaments et expert impuretés dans des médicaments depuis 01/2008 ARROW : Expert Partie III du dossier d'AMM d'un médicament (début 01/2009 fin 12/2009) LATOHEMA :Expert Partie III du dossier d'un additif alimentaire pour ruminants (début 06/2009 fin 12/2009) ROQUETTE : Expert Partie III du dossier d'un additif alimentaire pour porcs et volailles (depuis 06/2010) QALIAN : Expert Partie III d'un dossier d'AMM d'un médicament vétérinaire pour poisson (début 01/2011 fin 06/2011) ARROW : Expert Partie III d'un dossier d'AMM d'un médicament (début 01/2012 fin 03/2012) MERIAL : Expert Partie III et IV de dossiers d'AMM de médicaments (depuis 01/2008)</p> <p>2.3 MSD : Etude d'efficacité Antibiotique pour poissons (début 01/2006 fin 12/2008) rémunération Oniris</p> <p>2.4 VIRBAC : Article - Article sur temps d'attente pour les volailles (début 07/2012 fin 08/2012) PFIZER : Conférence de consensus "antibiothérapie bovine" – Marseille (début 01/2011 fin 12/2011)</p>	
<p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>SANDERS</p>	<p>Pascal IP-CC Intervention dans un colloque sur l'utilisation des Fluoroquinolone - BAYER VB Cours à l'ONIRIS – usage des antibiotiques et antibiorésistance Participation a des groupes de travail Efsa et FAO SR Conjoint chez PANPHARMA (responsable qualité)</p>	
	<p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>
<p>SCHMIDELY</p>	<p>Philippe AgrosParisTech – Enseignant-Chercheur IP-SC GLON CYBELIA – Relation entre alimentation lipidique des chèvres et composition du lait – début 02/2007 fin 06/2007 – Rémunération perçue par AgrosParisTech GLON CYBELIA – Relation entre alimentation lipidique des chèvres et composition du lait – début 02/2008 fin 06/2008 – Rémunération perçue par AgroParisTech IP-RE IDENA – Apports d'additifs alimentaires sur la production de CH4 et le profil en AG du lait de vaches – début 01/2010 fin 06/2010 – Rémunération perçue</p>	<p>27 mars 2012</p>

par AgrosParisTech
CCPA – début 2011 à 2011 – Rémunération perçue
par AgrosParisTech
Desialis – Pratiques alimentaires, performances
zootecniques et statut inflammatoire des vaches
laitières – début 2011 fin 2011 – Rémunération perçue
par AgrosParisTech
IP-CC
EVIALIS – Formation sur le métabolisme lipidique des
ruminants – début 2009 fin 2010 – rémunération
vacation
Fédération Nationale du Contrôle Laitier – Formation
à l'alimentation – début 2008 fin 2012 – rémunération
vacation
INZO-Evialis – Formation aux statistiques en
expérimentation animale (4j) – début 2010 fin 2012 –
rémunération vacation
IP-A
Lallemand SA – Encadrement de stages – début 2007
fin 2011 – pas de rémunération
Association Bleu-Blanc Cœur – Encadrement de
stages début 2011 fin 2012 – Pas de rémunération
Ajinomoto – Encadrement de stages – début 2011 fin
2012 –
Loréal – Encadrement de stages – début 2011 fin
2012
SR
Bristol Myers Squibb – Conjoint – Directeur assistant
(service Bio statistiques) début 1995 fin 2012

Analyse Anses

**Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la
thématique de la saisine**

Annexe 5 : Calcul de la PECsol en phase I

Le calcul de la PECsol initiale (en phase I) est effectué en fonction de la posologie du médicament (figurant en rouge ci-dessous), de l'équation et des paramètres définis dans le document guide technique de l'EMA (EMEA, 2005):

$$PEC_{\text{soil initial}} = \left(\frac{D \times Ad \times BW \times P \times 170 \times Fh}{1500 \times 10000 \times 0.05 \times Ny \times H} \right) \times 1000$$

Avec:

$PEC_{\text{soil initial}}$: Predicted Environmental Concentration in soil [$\mu\text{g}\cdot\text{kg}_{\text{dwt}}^{-1}$]

Daily dose of the active ingredients (D): 100 mg/kg BW according to the SPC of products currently in the market.

Number of days of treatment (Ad): 14 [d] according to the SPC of products currently in the market. .

Animal body weight (BW): 12.5 [$\text{kg}_{\text{b.w.}}$] for weaner pigs.

Number of animals raised per place per year (P): 6.9 [animals/place/year] for weaner pigs.

Maximum amounts of nitrogen which can be applied per year: 170 [kg/ha/year]

Fraction of herd treated (Fh): 1

Bulk density of dry soil: 1500 [$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$]

Area of 1 hectare: 10000 [$\text{m}^2\cdot\text{ha}^{-1}$]

Depth of penetration into soil: 0.05 [m]

Nitrogen production figures for target animals species (Ny): 2.25 [kg/place/year] for weaner pigs.

Housing factor (H): 1 for animals housed throughout the year.

Conversion factor: 1000 [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]

$$PEC_{\text{soil initial}} = \left(\frac{100 \times 14 \times 12.5 \times 6.9 \times 170 \times 1}{1500 \times 10000 \times 0.05 \times 2.25 \times 1} \right) \times 1000$$

PEC soil initial = 12164 $\mu\text{g}/\text{kg}$ MS

Annexe 6 : Calcul de la PECsol à l'état d'équilibre

Selon le TGD EU, cette approche peut être découpée en deux étapes (Commission_european, 2003):

- ✓ Le taux global d'élimination du zinc ;
- ✓ La concentration dans le sol après 10 ans d'épandage consécutifs.

Le taux global d'élimination du Zn

Le taux global d'élimination du Zn peut être décrit par :

$$k = k_{\text{volat}} + k_{\text{leach}} + k_{\text{biosoil}}$$

Avec:

k_{volat} : pseudo-first order rate constant for volatilisation from soil

k_{leach} : pseudo-first order rate constant for leaching from top soil

k_{biosoil} : pseudo-first order rate constant for biodegradation in soil

k : first order rate constant for removal from top soil

Compte tenu des propriétés physicochimiques du Zn, k_{volat} et k_{biosoil} peuvent être considérés comme négligeable.

K_{leach} peut être calculé à partir de l'équation suivante (équation 58 du TGD EU):

$$K_{\text{leach}} = \frac{\text{Finf}_{\text{soil}} \times \text{RAINrate}}{K_{\text{soil-water}} \times \text{DEPTH}_{\text{soil}}}$$

Avec :

- Fraction of rain water that infiltrates into soil ($\text{Finf}_{\text{soil}}$): 0.25 [-]
- Rate of wet precipitation (RAINrate): 700 [mm/year]= 0.00192 m/day
- Soil-water partitioning coefficient ($K_{\text{soil-water}}$): 158.49 $\text{m}_{\text{water}}^3 \times \text{m}_{\text{soil}}^{-3}$ (see adsorption chapter).
- Mixing depth of soil ($\text{DEPTH}_{\text{soil}}$): 0.2 [m]

$$k_{\text{leach}} = 1.51\text{E-}05 \text{ d}^{-1}$$

$$k = K_{\text{leach}} = 1.51\text{E-}05 \text{ d}^{-1}$$

Selon le TGD EU, dans certaines situations, il peut être important de considérer également la quantité de substance prélevée par les plantes. C'est bien évidemment le cas ici. Cette quantité prélevée peut être estimée à 10% des apports (JRC-IHCP, 2010). Afin de tenir compte de ce prélèvement par les plantes, de façon simple et pragmatique, on considère un apport annuel en ZnO de 12641 – 1264 = 11377 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (9140 $\mu\text{g Zn}/\text{kg}$).

La concentration dans le sol après 10 ans d'épandage consécutifs

Selon le TGD EU, un scénario « pire cas » réaliste est l'application durant 10 années consécutives de boues d'épuration sur une même parcelle.

Dans le TGD EU l'apport du Zn par dépôt aérien est également considéré (équation 59). Dans notre cas, cet apport n'est pas considéré. En effet, l'ERE présentée ici se focalise uniquement sur l'apport de ZnO dû au prémélange médicamenteux.

La concentration au bout de 10 années est calculée à partir de la concentration initiale après la 1ère application de boue d'épuration et en tenant compte de la fraction accumuleable (F_{acc}).

$$\text{Csludge}_{\text{soil}10} (0) = \text{Csludge}_{\text{soil}1} (0) \times [1 + \sum_{n=1}^9 F_{\text{acc}}^n] \text{ (equation 62)}$$

Avec :

• $\text{Csludgesoil } 10 (0)$ = Concentration on soil due to sludge after 10 years: [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

• $\text{Csludgesoil } 1 (0)$ = Concentration on soil due to sludge in first year at $t=0$: [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

• F_{acc} = Fraction of the substance that remains in the top soil layer at the end of a year: [-].

It is given by: $F_{\text{acc}} = e^{-365k}$

• k = First order constant for removal from top soil: [d^{-1}]

Par analogie, la PECsoil 10 ans sera donc :

$$PEC_{soil_{10y}} = PEC_{soil_{initial}} \times [1 + \sum_{n=1}^9 F_{acc}^n] = 110989 \mu\text{g/kg ZnO} \text{ (89168 } \mu\text{g Zn/kg)}$$

Avec:

- $PEC_{soil_{initial}}$: 11377 [$\mu\text{g/kg}$].
- $F_{acc} = e^{-365k}$: 0.994 [-]
- k : 1.51E-05 d^{-1}

Annexe 7 : Calcul de la PECeau souterraine

Le calcul de la PECground water est effectué en fonction de l'équation et des paramètres définis dans le document guide technique de l'EMA (EMEA, 2005):

$$\text{PECgroundwater} = (\text{PECsoil} \times \text{RHOsoil}) / (\text{Ksoil-water} \times 1000)$$

$$\text{Ksoil-water} = (\text{Fair in soil} \times \text{Kair-water}) + \text{F water in soil} + (\text{Fsolid in soil} \times (\text{Kpsoil}/1000) \times \text{RHOsolid})$$

$$\text{Kair-water} = (\text{VP} \times \text{MW}) / (\text{SOL} \times \text{R} \times \text{TEMP})$$

$$\text{Kpsoil} = 158.48$$

Where:

RHOsoil - bulk density of fresh soil (1700 kg/m³)

RHOsolid - density of soil solids (2500 kg/m³)

Fair in soil - fraction of air in soil (0.2 m³/m³)

Fwater in soil - fraction of water in soil (0.2 m³/m³)

Fsolid in soil - Fraction of solids in soil (0.6 m³/m³)

Foc soil - Weight fraction of organic carbon in soil (0.02 kg/kg)

TEMP - temperature at air soil interface (285 K)

R - gas constant (8.314 Pa/m³/mol/K)

VP - vapour pressure (Pa)(for very low VPs a default of 0.5 is used)

MOLW - molar mass (g/mol) = 81.38

SOL - water solubility (mg/l) = 1.6

Ksoil-water - Partition coefficient between soil and water (m³/m³) = 238

Kair-water - partition coefficient between air and water in soil (m³/m³) = 1.16 10⁻⁸

PECsoil - maximum predicted concentration in soil assuming a mixing depth of 20 cm (µg/kg ww) = 2691

$$\text{PECgroundwater} = (2691 \times 1700) / (238 \times 1000) = 19.22 \mu\text{g/l}$$

Annexe 8 : Calcul de la PECsédiment

Le calcul de la PECsédiment est effectué en fonction de l'équation et des paramètres définis dans le document guide technique de l'EMA (EMEA, 2005):

$$\text{PEC}_{\text{sediment}} = (\text{K}_{\text{sed-water}} / \text{RHO}_{\text{sed}}) \times \text{PEC}_{\text{surface water}} \times 1000 \times \text{CONV}_{\text{sed}}$$

$$\text{K}_{\text{sed-water}} = \text{F}_{\text{water}_{\text{sed}}} + (\text{F}_{\text{solid}_{\text{sed}}} \times (\text{K}_{\text{psed}}/1000) \times \text{RHO}_{\text{solid}})$$

where:

PECsediment = Predicted environmental concentration in sediment [$\mu\text{g.kgdwt}^{-1}$]

RHOsolid = Bulk density of solids [$2500 \text{ kgdwt.m}^{-3}$]

Fwatersed = Volume fraction of water in sediment [$0.8 \text{ m}^3.\text{m}^{-3}$]

Fsolidsed = Volume Fraction of solids in sediment [$0.2 \text{ m}^3.\text{m}^{-3}$]

Kpsed = Partition coefficient solids and water in sediment (v/w) [l.kg^{-1}]: 73000

RHOsed = Bulk density of sediment [$1300 \text{ kgwwt.m}^{-3}$]

PECsurfacewater = Concentration in surface water [$\mu\text{g.l}^{-1}$]: 1.94 Zn dissous

CONVsed = Conversion factor for sediment concentrations: wwt to dwt [kgwwt.kgdwt^{-1}]:

2.6

1000 = Conversion factor for litre to m³ [1000 l.m^{-3}]

$$\text{K}_{\text{sed-water}} = 0.8 + (0.2 \times (73000 / 1000) \times 2500) = 36500$$

$$\text{PEC}_{\text{sediment}} = (36500 / 1300) \times 1.94 \times 1000 \times 2.6 = 141620$$

Annexe 9 : Glossaire de la partie évaluation environnementale

Terme	Définition
DT ₅₀ (Dissipation time 50%)	Demi-vie : temps nécessaire pour observer une dégradation de la substance chimique égale à 50 % de la concentration initiale
EC ₅₀ (Efficace Concentration 50%)	Concentration modélisée produisant des effets sur 50% des individus testés
NOEC (No Observed Effect Concentration)	Plus forte concentration testée sans effet observé
OECD (Organization for Economic Co-operation and Development)	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
PEC (Predicted Environmental Concentration)	Concentration prévisible dans l'environnement
PNEC (Predicted No Effect Concentration)	Concentration sans risque pour l'environnement
RQ (Risk Quotient)	Quotient de risque
TGD EU (Technical Guidance Document for new and existing substances)	Document guide technique pour les substances nouvelles et existantes
TGD MV (Technical Guidance document for veterinary medicine)	Document guide technique pour le médicament vétérinaire
VICH (International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Products)	Coopération internationale sur l'harmonisation des exigences techniques pour l'autorisation des produits vétérinaires

Notes



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr