



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Biociden en resistentie

RIVM rapport 601712009/2012

F.M. Schets | H. Blaak | M. Braks |

A.C.P. de Bruijn | A. Haenen | R. Luttik |

B. van de Ven | A.M. de Roda Husman |

M.H.M.M. Montforts



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Biociden en resistentie

RIVM Rapport 601712009/2012

Colofon

© RIVM 2012

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: 'Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave'.

FM Schets
H Blaak
M Braks
ACP de Bruijn
A Haenen
R Luttk
B van de Ven
AM de Roda Husman
MHMM Montforts

Contact:
M Montforts
Stoffen Expertise Centrum (SEC)
mark.montforts@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van ministerie van Infrastructuur en Milieu, in het kader van project M/601712 Beleidsadvisering Bestrijdingsmiddelen

Rapport in het kort

Biociden en resistentie

Biociden zijn bestrijdingsmiddelen die al jarenlang worden gebruikt om schadelijke organismen, zoals bacteriën, virussen, schimmels, geleedpotigen of knaagdieren, te vernietigen of onschadelijk te maken. Biociden beschermen mens en maatschappij en gebruiksgoederen tegen schade, overlast en bederf die deze organismen kunnen veroorzaken. Voorbeelden van biociden zijn desinfecterende stoffen in huishoudens, ziekenhuizen en consumentenproducten. Daarnaast vallen conserveringsmiddelen voor bijvoorbeeld hout en rubber, en insecticiden tegen kakkerlakken onder deze noemer. Sommige organismen worden resistent tegen biociden, dit komt vooral door onjuist gebruik. Het effect van biociden wordt dan minder of gaat volledig verloren.

Informatie over ontwikkeling van resistentie verzameld

Om deze problematiek in kaart te brengen heeft het RIVM een overzicht gemaakt van de informatie over resistentieontwikkeling door het gebruik van biociden tegen micro-organismen, geleedpotigen en knaagdieren. Aanbevolen wordt om meer onderzoek te verrichten naar alternatieve middelen. Daarnaast is een systeem nodig om resistentie te kunnen vaststellen; vooralsnog zijn de mogelijkheden hiervoor via laboratoriumtesten beperkt. In algemene zin is het vanwege de resistentieproblematiek zinvol alle toepassingen van biociden kritisch te bekijken.

Onjuist gebruik biociden tegengaan

Onjuist gebruik van biociden kan te maken hebben met een te korte inwerktijd, of een te lage dosering. Hierdoor krijgen de organismen die minder gevoelig zijn voor het bestrijdingsmiddel de kans om zich te verspreiden. Het is daarom noodzakelijk gebruikers te onderrichten hoe biociden het beste kunnen worden gebruikt. Onwetendheid is namelijk de belangrijkste oorzaak van onjuist gebruik. Voor beroepsmatige gebruikers is aandacht hiervoor in vakopleidingen essentieel. Voor particulieren is dit lastiger, waardoor het gebruik in huishoudens zo veel mogelijk moet worden beperkt. Deze beperking is ook gewenst omdat er aanwijzingen zijn dat het gebruik van biociden bevordert dat bacteriën ook resistent worden tegen antibiotica (kruisresistentie).

Overige oorzaken resistentie

Resistentie kan verder ontstaan doordat bij sommige toepassingen de biocideconcentratie in de tijd afneemt. Verder kunnen gebruikte biociden uiteindelijk in lage, niet-werkzame concentraties in het milieu terechtkomen en zo de resistentieontwikkeling bij micro-organismen in het milieu bevorderen.

Trefwoorden: biociden, resistentie

Abstract

Biocides and resistance

Biocides have been used for many years to destroy or disarm harmful organisms (pests), such as bacteria, viruses, fungi, arthropods or rodents. Biocides protect man and society and commodities against harm, inconvenience and decay that these organisms may cause. Examples of biocides are disinfectants in households, hospitals and consumer products. Other examples are preservatives for wood and rubber, and insecticides against cockroaches. Some of the target organisms become resistant against biocides, merely through inappropriate use. This leads to reduced or completely lost efficacy of biocides.

Information about development of resistance collected

RIVM has collected the information on the development of resistance through the use of biocides against micro-organisms, arthropods and rodents. Research into alternative agents is recommended. Moreover, a system to determine resistance is required; thus far possibilities for laboratory tests are limited. In general, all applications of biocides should be critically reviewed.

Prevent inappropriate use of biocides

Inappropriate use of biocides relates to a too short exposure time or an insufficient dose. This inappropriate use results in the spread of less sensitive organisms in a target population. Ignorance is the main cause of inappropriate use and this can be addressed through education and the training of professionals. The use of biocides in households and for personal hygiene should be minimized since it cannot be ruled out that this practice encourages antibiotic resistance.

Other causes of resistance

In some applications, the active biocide concentration decreases with time, which may lead to the development of resistance. After use, biocides may eventually end up in the environment, in low non-effective concentrations, and thus have a potential effect on the development of resistance to biocides in environmental micro-organisms.

Keywords: biocides, resistance

Inhoud

Samenvatting—9

1 Inleiding—13

- 1.1 Rationale—13
- 1.2 Afbakening—13
- 1.3 Doel van het rapport—14

2 Biociden—15

- 2.1 Definities—15
 - 2.1.1 Biociden—15
 - 2.1.2 Schadelijk organisme—15
 - 2.1.3 Werkzame stoffen—15
 - 2.1.4 Antibiotica—15
 - 2.1.5 Resistentie—15
 - 2.1.6 Kruisresistentie—15
- 2.2 Werkingsmechanismen van biociden—15
- 2.3 Indeling van biociden—16
- 2.4 Wetgeving met betrekking tot biociden—18
 - 2.4.1 Richtlijn 98/8/EG—18
- 2.5 Wetgeving ten aanzien van de beoordeling van resistentieontwikkeling—18
 - 2.5.1 Richtlijn 98/8/EG (Bijlage VI)—18
 - 2.5.2 Verordening—19

3 Resistentieontwikkeling—21

- 3.1 Bacteriën—21
- 3.2 Virussen—23
- 3.3 Schimmels—23
- 3.4 Geleedpotigen—24
- 3.5 Knaagdieren—26
- 3.6 Toepassingsomgeving – Gebruikersgedrag—27
 - 3.6.1 Bacteriën—28
 - 3.6.2 Schimmels—30
 - 3.6.3 Geleedpotigen—30
 - 3.6.4 Knaagdieren—31
- 3.7 Resistentietesten—31
- 3.8 Kruisresistentie en co-resistentie—31
 - 3.8.1 Bacteriën—31
 - 3.8.2 Schimmels—33
 - 3.8.3 Geleedpotigen—34
 - 3.8.4 Knaagdieren—34

4 Kennisbronnen—37

5 Discussie—39

- 5.1 Toepassingsomgeving en gebruikersgedrag—39
- 5.2 Resistentie bij niet-plaagorganismen—40
- 5.3 Resistentie bij plaagdieren—40
- 5.4 Kruisresistentie—40

6 Aanbevelingen voor beleid—43

Verantwoording—45

Dankwoord—47

Literatuur—49

Bijlage 1—55

Samenvatting

Biociden worden gebruikt om schadelijke organismen te vernietigen of onschadelijk te maken. Biociden worden al vele jaren gebruikt en het is duidelijk dat organismen waartegen biociden gebruikt worden in staat zijn om resistentie tegen deze middelen te ontwikkelen. Aangezien de maatschappij in hoge mate afhankelijk is van goed werkzame biociden, is het van groot belang dat biociden ook werkzaam blijven en de ontwikkeling van resistentie tegen biociden wordt voorkomen of beperkt. Dit rapport geeft een overzicht van de bij het RIVM beschikbare informatie over resistentieontwikkeling door gebruik van biociden tegen micro-organismen (bacteriën, virussen, schimmels), geleedpotigen en knaagdieren. Middelen die buiten beschouwing worden gelaten aangezien zij niet worden beschouwd als biociden zijn desinfectantia toegepast in de gezondheidszorg die worden beschouwd als medisch hulpmiddel en gewasbeschermingsmiddelen dan wel (dier)geneesmiddelen voor de bestrijding van plaagorganismen in en op planten, mensen en dieren. Ook antiseptica en antibiotica met therapeutische toepassing worden daarom in dit rapport buiten beschouwing gelaten.

De huidige Richtlijn 98/8/EG voor het op de markt brengen van biociden wordt naar verwachting in september 2013 vervangen door een Verordening. De nieuwe Verordening erkent het belang van preventie van (kruis)resistentie. Het is echter duidelijk dat er geen specifieke testen voor resistentie en resistentieontwikkeling bestaan en dat de mogelijkheden voor het vaststellen van resistentieontwikkeling door middel van laboratoriumtesten vooralsnog beperkt zijn.

Tegen bacteriën worden biociden ingezet in ziekenhuizen, de huiselijke sfeer en in de voedsel- en cosmetica-industrie. Bacteriën kunnen twee verschillende vormen van resistentie tegen biociden vertonen: intrinsieke en verworven resistentie. Intrinsieke resistentie is het natuurlijke vermogen van bacteriën om de werking van biociden tegen te gaan; hieronder vallen ook de vermogens van vele soorten bacteriën om een biofilm te vormen, over te gaan in een spore, of zich op te houden in een hoger organisme. Uit laboratoriumstudies is gebleken dat de tolerantie voor een biocide 'getraind' kan worden door micro-organismen op een laag niveau bloot te stellen aan een biocide en de concentratie langzaam op te voeren. Bij verworven resistentie is er sprake van veranderingen in het genetische materiaal of het verkrijgen van resistentiegenen van andere bacteriën.

Biociden worden eveneens ingezet tegen schimmels. Schimmels uit het geslacht *Aspergillus* kunnen verschillende ziekten bij de mens veroorzaken. Deze infecties worden behandeld met azolen. Sinds enkele jaren neemt de incidentie van infecties door azoolresistente *A. fumigatus* toe. Er zijn aanwijzingen dat de resistentie ontstaan is door blootstelling van *A. fumigatus* aan azoolverbindingen in het milieu. Het is onduidelijk of biociden een belangrijke rol spelen in dit proces, hoewel bekend is dat de schimmel groeit op materialen (bijvoorbeeld hout, plantaardige en kunststof vezels) of producten (weekmakers voor plastics, brandstof) waar fungiciden als biocide worden ingezet.

Insecticiden en acariciden zijn gericht tegen insecten, teken en mijten. Elke mutatie die het gedrag of de fysiologie van een geleedpotige zodanig verandert dat deze niet volledig wordt uitgeschakeld, zal leiden tot resistentie. Zo is bij

hoofdluizen resistentie tegen permethrin aangetoond en is de resistentie van schurftmijten tegen lindaan, permethrin en ivermectine wereldwijd beschreven. De frequentie van het gebruik van een insecticide of controletactiek is een van de meest bepalende factoren voor resistentieontwikkeling. Bij elk gebruik is er een voordeel voor de minder gevoelige insecten binnen een populatie. Insecten met een korte levenscyclus en een hoge reproductiesnelheid ontwikkelen sneller resistentie dan soorten met een langere levensduur die zich minder snel voortplanten. Om resistentieontwikkeling bij geleedpotigen te voorkomen is een systeem van Geïntegreerd Vector Management aan te bevelen, waarmee onder andere de selectiedruk op een populatie verminderd wordt, door toepassing van rotatie van insecticiden en het gebruik van insecticidenmengsels.

Resistentie van knaagdieren tegen warfarine en andere eerstegeneratierodenticiden is een wijd verspreid fenomeen; ook resistentie tegen de tweede generatie van meer potente middelen is inmiddels algemeen. Alle rodenticiden uit deze twee groepen werken via hetzelfde mechanisme en zijn bovendien chemisch aan elkaar verwant. Men neemt aan dat resistentie bij knaagdieren ontstaat door onoordeelkundig gebruik van rodenticiden, waarbij gedacht moet worden aan het voortijdig stoppen met het gebruik deze middelen.

Virussen vertonen een uiteenlopende mate van resistentie tegen biociden, maar de informatie over resistentieontwikkeling beperkt zich tot resistentieontwikkeling tegen antivirale middelen (bijvoorbeeld tegen HIV en influenza), terwijl informatie over resistentieontwikkeling tegen desinfectantia ontbreekt.

Algemene mechanismen die biocideresistentie bij bacteriën bewerkstelligen, kunnen tegelijkertijd door de bacterie gebruikt worden als verweer tegen antibiotica. Hierdoor kan blootstelling aan (lage doses) biociden niet alleen biocideresistentie tot gevolg hebben, maar ook resistentie tegen antibiotica; dit wordt kruisresistentie genoemd. Daarnaast bestaat bij bacteriën co-resistentie, waarbij resistenties voor bijvoorbeeld biociden en antibiotica genetisch aan elkaar gekoppeld zijn en daardoor gezamenlijk overerven. Kruisresistentie voor triclosan en antibiotica is beschreven voor meerdere bacteriesoorten, waaronder *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* en *Salmonella*. Voor varianten van methicilline-resistente *S. aureus* (MRSA) is kruisresistentie beschreven voor quaternaire ammoniumverbindingen (QAC's) en verschillende antibiotica, waaronder oxacilline, aminoglycoside-antibiotica, chloorhexidine en ethidiumbromide. Voor andere *Staphylococcus*-soorten die voorkomen in de voedselindustrie, *P. aeruginosa* en *E. coli* is ook kruisresistentie aangetoond voor QAC's en verschillende antibiotica.

In populaties van geleedpotigen die ziekten kunnen overbrengen (vectoren), komt kruisresistentie frequent voor. DDT en pyrethroiden zijn chemisch niet-verwante insecticiden, maar ze grijpen beide wel op dezelfde plaats aan, waardoor kruisresistentie is ontstaan.

Resistentieontwikkeling heeft vaak te maken met de manier waarop biociden worden gebruikt. Zo heeft blootstelling van doelorganismen aan niet-effectieve concentraties biociden selectie van minder gevoelige individuen tot gevolg. Dit kan gebeuren bij onjuist gebruik van een op zich werkzaam biocide, bijvoorbeeld door onvoldoende dosering, te korte inwerktijd of onjuiste toedieningswijze. Hierdoor krijgen de meer resistente organismen in een populatie de kans om zich te verspreiden ten koste van minder resistente organismen. Bij juist gebruik

van een biocide kan deze selectie ook optreden, bijvoorbeeld na verdunning bij lozing in het milieu, door verdamping of uitloging en afbraak gevolgd door herbesmetting, of door ongelijke verdeling van de werkzame stof. Via verschillende routes komen gebruikte biociden uiteindelijk in verschillende maten van verdunning in het milieu terecht. Deze lage, niet-effectieve, concentraties kunnen invloed hebben op resistentieontwikkeling bij micro-organismen in het milieu, maar hoe en in welke mate is nog onduidelijk.

Onwetendheid van de gebruiker is de belangrijkste oorzaak van onjuist gebruik, zowel door professionals als door particulieren. Onwetendheid onder professionals kan bestreden worden door betere voorlichting en aandacht voor het omgaan met biociden in vakopleidingen. Onwetendheid bij particulieren is veel lastiger aan te pakken en mede daarom zou gebruik van biociden door deze groep zoveel mogelijk beperkt moeten worden. Het lijkt dan ook verstandig terughoudend te zijn met het toevoegen van desinfecterende stoffen aan consumentenproducten en met het gebruik van dergelijke producten. Bij gebruik van met biociden behandelde producten neemt de werkzame biocideconcentratie af in de tijd, wat resistentievorming in de hand kan werken. Aangezien niet uit te sluiten is dat het gebruik van desinfecterende stoffen ook resistentie tegen antibiotica bevordert, zou het gebruik van desinfectantia in huishoudens en bij persoonlijke verzorging beperkt moeten worden tot medische indicaties.

1 Inleiding

1.1 Rationale

Biociden worden gebruikt om schadelijke organismen te vernietigen, af te schrikken of onschadelijk te maken. Biociden worden al vele jaren gebruikt en inmiddels is duidelijk geworden dat organismen waartegen biociden gebruikt worden in staat zijn om resistentie tegen deze middelen te ontwikkelen. Hierdoor is onvoldoende bestrijding van de betreffende schadelijke organismen mogelijk en kunnen ongewenste situaties ontstaan.

Het ministerie van Infrastructuur en Milieu is beleidsverantwoordelijk voor de toelating van biociden en heeft eveneens een verantwoordelijkheid ten aanzien van juist gebruik van biocidemiddelen. Het ministerie van Infrastructuur en Milieu heeft aangegeven zich voor biocidemiddelen waartegen mogelijk resistentie kan ontstaan extra te willen inzetten op juist gebruik van deze middelen. Hiertoe is het RIVM gevraagd een advies uit te brengen dat aangeeft voor welke biociden resistentieontwikkeling een reëel probleem is en voor welke van deze middelen de maatschappelijke gevolgen van resistentieontwikkeling groot zijn vanwege bijvoorbeeld het ontbreken van alternatieve biocidemiddelen.

Het ontstaan van resistentie tegen biociden bij organismen is een natuurlijk fenomeen. Om resistentieontwikkeling en de gevolgen daarvan te beheersen is kennis en informatie nodig over:

- de mechanismen waardoor resistentie verkregen en bevorderd wordt;
- de wijze waarop deze resistentie tussen organismen verspreid kan worden;
- de manier waarop gebruik van biociden bijdraagt aan de ontwikkeling en verspreiding van resistentie.

1.2 Afbakening

Biociden worden gebruikt voor de bestrijding van micro-organismen (bacteriën, virussen, schimmels), geleedpotigen en gewervelden, zoals knaagdieren. Aan elk van deze groepen zal in dit rapport aandacht worden besteed, en waar relevante informatie beschikbaar is, zal deze in het rapport worden opgenomen.

In de gezondheidszorg worden ook desinfectantia gebruikt die niet onder de biocidenwetgeving vallen. Dit zijn middelen voor de desinfectie van medische instrumenten. Deze worden beschouwd als medisch hulpmiddel en als zodanig toegelaten op de markt. Medische hulpmiddelen vallen buiten de scope van dit rapport.

Bestrijding van plaagorganismen in en op planten, mensen en dieren (waaronder virussen en parasieten) valt onder de wetgeving voor respectievelijk gewasbeschermingsmiddelen, en (dier)geneesmiddelen en valt buiten het bestek van dit rapport. Antiseptica die worden gebruikt voor de bestrijding van lokale infecties aan bijvoorbeeld de urinewegen, huid en ogen worden feitelijk toegepast als geneesmiddel. Gewasbeschermingsmiddelen, antiseptica en antibiotica met therapeutische toepassing zijn geen biociden en worden derhalve buiten beschouwing gelaten. Waar het gebruik van biociden samenkomt met het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen of antibiotica, kan mogelijk kruisresistentie ontstaan. Deze combinaties zullen belicht worden.

1.3 Doel van het rapport

Het doel van dit rapport is het geven van een overzicht van de bij het RIVM beschikbare informatie over de ontwikkeling van resistentie bij bacteriën, virussen, schimmels, geleedpotigen en knaagdieren door gebruik van biociden teneinde het ministerie van Infrastructuur en Milieu een leidraad te bieden bij de (her)beoordeling van toelating van biociden en het sturen op juist gebruik van deze middelen.

2 Biociden

2.1 Definities

2.1.1 *Biociden*

Biociden zijn onder Richtlijn 98/8/EG gedefinieerd als werkzame stoffen en preparaten die, in de vorm waarin zij aan de gebruiker worden geleverd, een of meer werkzame stoffen bevatten en bestemd zijn om een schadelijk organisme te vernietigen, af te schrikken, onschadelijk te maken, de effecten daarvan te voorkomen of het op een andere wijze langs chemische of biologische weg te bestrijden.

2.1.2 *Schadelijk organisme*

Een schadelijk organisme wordt gedefinieerd als elk organisme dat ongewenst aanwezig is of een schadelijke invloed heeft op de mens, zijn werkzaamheden of de door hem gebruikte of vervaardigde producten, op dieren of op het milieu.

2.1.3 *Werkzame stoffen*

Werkzame stoffen zijn gedefinieerd als stoffen of micro-organismen, met inbegrip van virussen of fungi, met een algemene of algemeen verkrijgbare werking op of tegen schadelijke organismen.

2.1.4 *Antibiotica*

Antibiotica kunnen functioneel worden beschreven als moleculen met een bruikbare therapeutische toepassing in het doden of het remmen van groei van micro-organismen (Yim et al. 2007). Het is in theorie mogelijk dat een stof die als antibioticum wordt toegepast in de (dier)geneeskunde, ook in een ander domein wordt toegepast, bijvoorbeeld als gewasbeschermingsmiddel of biocide.

2.1.5 *Resistentie*

Resistentie wordt gedefinieerd als het weerstandsvermogen of de ongevoeligheid van een organisme (bijvoorbeeld bacteriën, virussen, schimmels, geleedpotigen, knaagdieren) tegen bepaalde stoffen, zoals antibiotica en biociden. Bij biociden die ter bestrijding van micro-organismen worden ingezet is het beter om te spreken van een 'verminderde gevoeligheid' of 'verhoogde tolerantie'.

2.1.6 *Kruisresistentie*

Er is sprake van kruisresistentie wanneer een (micro)-organisme verminderd gevoelig is voor een stof waaraan het niet is blootgesteld, als gevolg van verworven resistentie tegen een andere stof waaraan het (micro)-organisme wel is blootgesteld.

2.2 Werkingsmechanismen van biociden

Biociden zijn gericht tegen verschillende groepen organismen, zoals bacteriën, virussen, schimmels, geleedpotigen en knaagdieren. De wijze waarop de specifieke biociden de betreffende doelorganismen schade toebrengen is per biocide-doelorganisme-combinatie verschillend; bovendien zijn per biocide-doelorganisme-combinatie ook verschillende werkingsmechanismen actief. De verschillende werkingsmechanismen komen aan bod in de paragrafen van

hoofdstuk 3 waarin de ontwikkeling van resistentie aan de orde komt voor de verschillende groepen doelorganismen die in dit rapport worden behandeld.

2.3 Indeling van biociden

De richtlijn voor het op de markt brengen van biociden (98/8/EG) onderscheidt vier hoofdgroepen van biociden, te weten ontsmettingsmiddelen en algemene biociden, conserveringsmiddelen, middelen voor plaagbestrijding en andere biociden. Binnen deze hoofdgroepen worden productgroepen onderscheiden waarvoor een specifieke toepassing is gespecificeerd. De toelating van biociden in de verschillende productgroepen is gekoppeld aan het gespecificeerde toepassingsgebied. In Tabel 1 is een overzicht van alle hoofd- en productgroepen zoals opgenomen in Richtlijn 98/8/EG weergegeven.

Tabel 1 De indeling van biociden in hoofdgroepen en productsoorten conform Richtlijn 98/8/EG

| productsoort | product | toepassing |
|---|---|---|
| hoofdgroep Ontsmettingsmiddelen en algemene biociden | | |
| 1 | biociden voor menselijke hygiëne | |
| 2 | desinfecterende middelen voor privégebruik en de openbare gezondheidszorg | lucht, oppervlakken, materiaal, uitrusting, meubilair in zwembaden, aquaria, badwater, luchtverversingssystemen, muren en vloeren in medische instellingen, chemische toiletten, afvalwater, ziekenhuisafval, grond van speeltuinen |
| 3 | biociden voor veterinaire hygiënedoeleinden | inclusief producten gebruikt in ruimten waar dieren worden ondergebracht, gehouden of vervoerd |
| 4 | ontsmettingsmiddelen te gebruiken in sector voeding en diervoeders | uitrusting, houders, eet- en drinkgerei, oppervlakken of pijpleidingen bij vervoer, opslag of consumptie van voedingsmiddelen |
| 5 | ontsmettingsmiddelen voor drinkwater | |

vervolg Tabel 1 op pagina 17

Vervolg Tabel 1

| productsoort | product | toepassing |
|---|---|--|
| Hoofdgroep Conserveringsmiddelen | | |
| 6 | conserven | conservering van verwerkte producten in houders om bederf tegen te gaan, met uitzondering van voedingsmiddelen of diervoeders |
| 7 | film | conservering van films en filmbeschermingslagen, zoals verf, plastic, dichtingsproducten, zelfklevende wandbekleding, bindmiddelen, papier, kunstwerken |
| 8 | hout | conservering van hout of houtproducten, inclusief de zagerijfase |
| 9 | vezels, leer, rubber, gepolymeriseerde materialen | |
| 10 | metselwerk | conservering en herstel van metselwerk en andere bouwmaterialen met uitzondering van hout |
| 11 | vloeistofkoelings- en verwerkingssystemen | conservering van water of andere vloeistoffen |
| 12 | slijmbestrijdingsmiddelen | materialen, uitrusting en constructies in industriële processen |
| 13 | metaalbewerkingsvloeistoffen | |
| Hoofdgroep Plaaibestrijding | | |
| 14 | rodenticiden | bestrijding van muizen, ratten en andere knaagdieren |
| 15 | aviciden | bestrijding van vogels |
| 16 | mollusciciden | bestrijding van weekdieren |
| 17 | pisciciden | bestrijding van vissen; producten voor behandeling van visziekten vallen hier niet onder |
| 18 | insecticiden, acariciden en producten voor bestrijding andere geleedpotigen | |
| 19 | insectwerende en lokstoffen | bestrijding van schadelijke organismen door ze af te weren of aan te lokken, inclusief producten direct of indirect gebruikt voor hygiëne van mens en dier |

vervolg Tabel 1 op pagina 18

Vervolg Tabel 1

| productsoort | product | toepassing |
|-----------------------------------|--|---|
| Hoofdgroep Andere biociden | | |
| 20* | conserveringsmiddelen voor voedingsmiddelen of diervoeders | conservering van voedingsmiddelen of diervoeders |
| 21 | aangroeiwerende middelen | tegengaan groei en afzetting van organismen op schepen, aquacultuurinstallaties of andere in water gebruikte constructies |
| 22 | vloeistoffen voor balsemen en opzetten | desinfectie en conservering van dode mensen of dieren of delen daarvan |
| 23 | bestrijding van andere gewervelde dieren | bestrijding van ongedierte |

* Deze productgroep vervalt in de nieuwe Verordening.

2.4 Wetgeving met betrekking tot biociden

2.4.1 Richtlijn 98/8/EG

Richtlijn 98/8/EG voor het op de markt brengen van biociden heeft tot doel de markt voor biociden binnen de Europese Gemeenschap te harmoniseren en een hoog niveau van bescherming voor mens, dier en milieu te bieden. Toelating van actieve stoffen wordt beoordeeld op Gemeenschapsniveau, waarbij een indeling wordt gemaakt in 23 producttypen. Toelating van producten geschiedt echter nationaal. Producten die al door andere Gemeenschapswetten worden gedekt, zoals gewasbeschermingsmiddelen, medicijnen en materialen die in contact komen met voeding en cosmetica, vallen niet onder de Richtlijn. De Richtlijn noemt wel het regelen van met biociden behandelde artikelen uit derde landen, zoals textiel en kleding behandeld met biociden, maar daar is tot op heden geen uitvoering aan gegeven.

Naar verwachting wordt de Richtlijn in september 2013 vervangen door een Verordening, waarmee de markt voor biociden en behandelde voorwerpen verder wordt geharmoniseerd. De nieuwe Verordening regelt in tegenstelling tot de Richtlijn het op de markt brengen van met biociden behandelde producten en erkent tevens het belang van preventie van (kruis)resistentie.

Een belangrijk onderdeel van de Verordening is de introductie van een communautaire toelatingsprocedure voor biociden, de zogenaamde centrale toelating voor de gehele Europese Unie. In de Verordening wordt voorgesteld om vanaf 2017 alle biociden via deze procedure toe te laten en alleen biociden met zeer gevaarlijke stoffen hiervan uit te zonderen. Uitzonderingen op het niveau van individuele lidstaten blijft mogelijk op basis van nationale specifieke omstandigheden.

2.5 Wetgeving ten aanzien van de beoordeling van resistentieontwikkeling

2.5.1 Richtlijn 98/8/EG (Bijlage VI)

Richtlijn 98/8/EG regelt in de Gemeenschappelijke beginselen voor beoordeling en besluitvorming (Annex VI van de Richtlijn) dat resistentieontwikkeling beoordeeld wordt en dat indien nodig maatregelen genomen worden.

Onaanvaardbare effecten (Beoordeling)

De lidstaten beoordelen zo nodig de mogelijkheid dat het doelorganisme resistentie ontwikkelt tegen een werkzame stof in het biocide (§49).

Onaanvaardbare gevolgen (Besluitvorming)

Wanneer kan worden verwacht dat zich resistentie ontwikkelt tegen de werkzame stof in het biocide, nemen de lidstaten maatregelen om de gevolgen daarvan zoveel mogelijk te beperken. Daartoe kunnen toelatingseisen worden gewijzigd of zelfs toelating worden geweigerd (§90).

2.5.2 *Verordening*

In de concepttekst van de Verordening (EC 2011) is de mogelijkheid om de gevolgen van resistentieontwikkeling te beperken als voorwaarde voor toelating van een biocide opgenomen:

'Wanneer kan worden verwacht dat zich resistentie of kruisresistentie ontwikkelt tegen de werkzame stof in het biocide, overweegt de beoordelingsinstantie maatregelen om de gevolgen daarvan zo veel mogelijk te beperken. Daartoe kunnen de toelatingsvoorwaarden worden gewijzigd. Indien de ontwikkeling van resistentie of kruisresistentie evenwel niet voldoende kan worden tegengegaan, concludeert de beoordelingsinstantie dat het biocide niet voldoet aan criterium ii) in artikel 16, lid 1, onder b).'

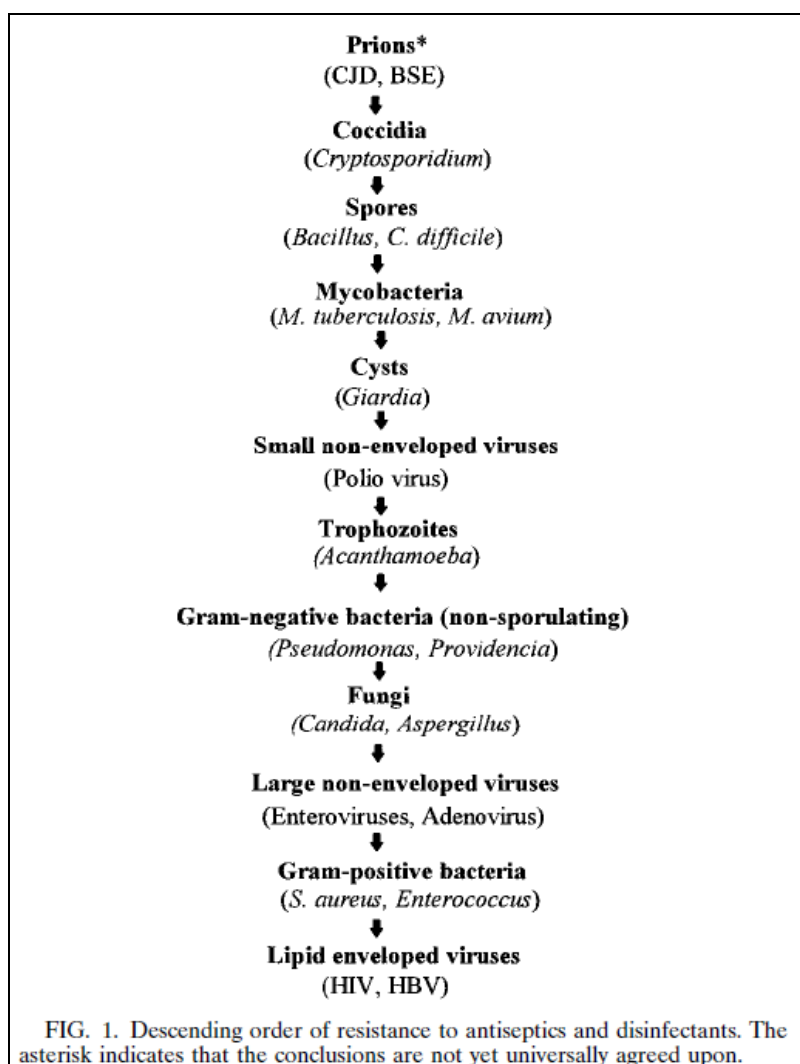
3 Resistentieontwikkeling

3.1 Bacteriën

Biociden worden gebruikt als desinfectantia en antiseptica in ziekenhuizen maar ook in de huiselijke sfeer, en als conserveringsmiddelen in de voedsel- en cosmetica-industrie. Hoewel antibiotica de groei van bacteriën remmen en ze doden, worden deze stoffen niet tot de biociden gerekend (Fraise 2002). Een belangrijk verschil tussen biociden en antibiotica is dat antibiotica worden gebruikt om infecties in mens of dier te bestrijden. Antibiotica dienen daarom selectief schadelijk te zijn: wel voor de bacteriën, niet voor mens en dier. Dit is geen vereiste voor biociden (Russell 2002). In tegenstelling tot antibiotica hebben biociden vaak een 'breed-spectrum'-werking; dat wil zeggen dat het eindresultaat (namelijk het doden van bacteriën) het gevolg is van een effect op meerdere targets (Cloete 2003). Er bestaan twee verschillende vormen van resistentie tegen biociden: intrinsieke en verworven resistentie (Tabel 2). Intrinsieke resistentie is het natuurlijke vermogen van bacteriën om de werking van biociden tegen te gaan (McDonnell & Russell 1999). De mate van intrinsieke resistentie verschilt tussen verschillende typen micro-organismen; dit is weergegeven in Figuur 1. De eigenschappen van de celwand van de bacterie bepalen of deze door het biocide wordt aangetast of dat het biocide de cel kan binnendringen. Sommige micro-organismen kunnen enzymen aanmaken waardoor het biocide wordt geneutraliseerd, of mechanismen activeren om schadelijke stoffen de cel uit te pompen (de zogenaamde effluxmechanismen). Ook kunnen sommige soorten de intrinsieke gevoeligheid moduleren door middel van aanpassingen in de celwand op het moment dat er sprake is van blootstelling aan biociden (McDonnell & Russell 1999; Russell 2000; Meyer & Cookson 2010). Daarnaast mag de mogelijkheid van vele soorten bacteriën om een biofilm te vormen ook als intrinsieke resistentie aangemerkt worden. Een aantal micro-organismen kan overgaan in een 'spore' (bijvoorbeeld *Bacillus*-soorten), of zich ophouden in een hoger organisme (bijvoorbeeld *Legionella* in amoeben), waardoor de gevoeligheid voor biociden schijnbaar afneemt (Bichai et al. 2008).

Bij de keuze van het biocide en de toepassingsparameters concentratie, temperatuur en contacttijd moet vanwege de intrinsieke resistentie terdege rekening gehouden worden met het type micro-organisme (tot op het niveau van de specifieke stam) dat bestreden moet worden, de aantallen en de verschijningsvorm (vegetatief, spore, biofilm, in protozoa). Een verkeerde keuze van het biocide en fouten in het gebruik ervan kunnen aanleiding zijn tot een onvoldoende resultaat, hetgeen onterecht als resistentie of 'onwerkzaamheid' aangemerkt kan worden (King 2000; Cerf et al. 2010).

Bij verworven resistentie is er sprake van veranderingen in het genetische materiaal (het chromosoom) of het verkrijgen van resistentiegenen van andere bacteriën. De uitwisseling van genen tussen bacteriën kan plaatsvinden als deze op mobiele genetische elementen liggen: de plasmiden. Genen voor antibioticaresistentie liggen vaak op plasmiden; genen voor biocideresistentie zijn ook aangetoond op plasmiden (bijvoorbeeld de quaternaire ammoniumverbindingen of 'quaternary ammonium compounds' (QAC) resistentiegenen), maar de relevantie van plasmiden voor het uitwisselen van genen voor biocideresistentie is minder duidelijk dan bij antibiotica (McDonnell & Russell 1999; Kümmerer 2004).



Figuur 1 Verschil in resistentie voor desinfectantia bij verschillende micro-organismen, in volgorde van afnemende resistentie (McDonnell & Russell 1999)

Laboratoriumstudies geven indicaties dat de tolerantie voor een biocide 'getraind' kan worden door micro-organismen bloot te stellen aan een biocide en de concentratie langzaam op te voeren. De toename van de tolerantie is niet altijd blijvend (Russell 2004). Een voorbeeld van een dergelijke omkeerbare tolerantie is de geïnduceerde QAC-resistentie bij een *Pseudomonas aeruginosa*-stam. Deze is te verklaren door fenotypische aanpassing in afwezigheid van genetische (stabiele) veranderingen (Méchin et al. 1999). De praktische (klinische) relevantie van dergelijke laboratoriumstudies is echter beperkt omdat de concentratie van het biocide in de praktische toepassing veel hoger is dan in laboratoriumstudies (Weber & Rutala 2006). Bij het gebruik van de juiste dosering van biociden is het ontstaan van resistentie onwaarschijnlijk. Een bijzonder aspect aan biocideresistentie bij bacteriën is de mogelijkheid dat blootstelling aan (lage doses) biociden niet alleen biocideresistentie tot gevolg kan hebben, maar ook resistentie tegen antibiotica (McDonnell & Russell 1999; Russell 2000; Fraise 2002; Weber & Rutala 2006; Meyer & Cookson 2010). Hiervoor zijn twee mechanismen beschreven: kruisresistentie en co-transfer van resistentiegenen. Kruisresistentie houdt in dat het mechanisme dat de bacterie

ontwikkelt om biociden te weerstaan ook werkt tegen antibiotica. Dit kan gebeuren als het mechanisme dat biocideresistentie medieert, niet-specifiek is, zoals verhoogde efflux of verminderde permeabiliteit van de celmembraan (waardoor de stoffen minder efficiënt de cel in komen), en daarom ook werkt tegen andere stoffen, waaronder andere biociden en antibiotica (Fraise 2002). Co-transfer van resistentie tegen verschillende soorten drugs kan plaatsvinden als plasmiden verschillende soorten resistentiegenen bevatten. In paragraaf 3.8 wordt verder ingegaan op de mogelijke correlatie tussen biocide- en antibioticaresistentie.

Het is dus mogelijk dat bacteriën door blootstelling aan biociden resistent worden tegen antibiotica door blijvende veranderingen in bijvoorbeeld genen die effluxpompen reguleren, zoals beschreven voor QAC-resistentie (Langsrud et al. 2004), of door het verwerven van antibioticaresistentiegenen door co-locatie van antibioticaresistentie- en biocideresistentiegenen op plasmiden, zoals het pSAJI-plasmide beschreven voor *S. aureus* (Yamamoto et al. 1988).

Tabel 2 Mechanismen van biocideresistentie

| resistentie mechanisme | voorbeelden van biociden |
|---|--|
| <i>intrinsieke resistentie</i> | |
| impermeabiliteit | quaternaire ammoniumverbindingen; chloorhexidinezouten; fenolen; kwikverbindingen; alcoholen |
| inactivatie | chloorhexidinezouten |
| <i>verworven resistentie</i> | |
| mutatie | quaternaire ammoniumverbindingen; chloorhexidinezouten; triclosan |
| plasmidegedeïmedeerde membraanveranderingen | quaternaire ammoniumverbindingen |
| efflux | quaternaire ammoniumverbindingen; chloorhexidinezouten; diamidines; acridines |
| enzymatisch | kwikverbindingen |

Uit: Russell, 2000

3.2 Virussen

Virussen zijn zeer gevarieerd van structuur en vertonen een zeer uiteenlopende mate van resistentie tegen biociden. De belangrijkste eigenschappen van virussen die ten grondslag liggen aan de variabiliteit in resistentie tegen inactivatie zijn de mate van secundaire structuren en de mate van associatie met eiwitten (Pecson et al. 2009). Informatie over resistentieontwikkeling beperkt zich tot resistentieontwikkeling tegen antivirale middelen (bijvoorbeeld tegen HIV en influenza). Informatie over resistentieontwikkeling van virussen tegen desinfectantia ontbreekt.

3.3 Schimmels

De schimmel *Aspergillus* is het enige geslacht met klinische relevantie en kan een spectrum aan ziekten veroorzaken bij de mens, variërend van allergische syndromen en chronische infecties tot invasieve aspergillose. *Aspergillus* is een schimmelsoort die veelvuldig voorkomt in de leefomgeving, onder andere in rottend plantaardig materiaal, en is zodoende vaak aanwezig in potgrond en compost. Invasieve infecties bij mensen worden meestal veroorzaakt door *Aspergillus fumigatus*. Deze schimmelinfecties worden behandeld met

antimycotica, waarvan de azoolverbindingen een zeer belangrijke groep werkzame stoffen zijn. Deze groep stoffen wordt gebruikt in zowel de geneeskunde en de diergeneeskunde, als ten behoeve van gewasbescherming, desinfectie en materiaalbescherming.

Er zijn drie preparaten medische azolen die activiteit hebben tegen *Aspergillus* soorten: itraconazol, voriconazol en posaconazol. Recent onderzoek van het UMC St. Radboud in Nijmegen (Van der Linden et al. 2011) laat zien dat sinds enkele jaren de incidentie van infecties veroorzaakt door *A. fumigatus* die resistent is tegen de behandeling met medische azolen toeneemt. De schimmel met de specifieke (TR/L98H) mutatie die voor deze resistentie zorgt, is endemisch in Nederland en de prevalentie in academische ziekenhuizen varieert tussen 0,8% en 9,5% (gemiddeld 5,3%). Het resistentiemechanisme werd gevonden bij zowel patiënten die voorbehandeld waren met azolen, als bij azoolnaïeve patiënten. De mutatie werd tevens gevonden in stammen afkomstig uit het milieu: in compost en bloembedden, maar vooralsnog niet in bodemonsters van verschillende andere locaties. Recentelijk werd de mutatie ook gevonden bij *A. fumigatus* tijdens luchtmetingen in woonhuizen (woonkamer, kelder en achtertuin) in de regio's Nijmegen en Groningen (Snelders et al. 2009).

Hoewel deze resistentie zou kunnen ontstaan bij patiënten tijdens langdurige behandeling met medische azolen, wijzen bovengenoemde bevindingen op een alternatieve route, namelijk door blootstelling van *A. fumigatus* aan azoolverbindingen in het milieu. Er zijn vijf fungiciden geïdentificeerd waarvan de structuurformule in hoge mate overeenkomt met die van de medische triazolen. Deze vijf fungiciden zijn werkzaam tegen *A. fumigatus*, maar vertonen geen activiteit meer als de schimmel het resistentiemechanisme heeft.

Bovendien zijn deze vijf fungiciden geautoriseerd voor gebruik als bestrijdingsmiddelen tussen 1990 en 1996 (propiconazol, 1990; tebuconazol, 1992; difenoconazol en epoxiconazol, 1994; bromuconazol, 1996), terwijl de resistentie voor het eerst in een klinisch isolaat in 1998 aanwezig was (Snelders et al. 2012). Deze vijf middelen zijn in gebruik als gewasbeschermingsmiddel of als biocide.

3.4 Geleedpotigen

De belangrijkste doelorganismen van biociden binnen producttype 18 (Tabel 1) zijn insecten en spinachtigen, vooral teken en mijten. Insecticiden en acariciden schaden de functie van moleculaire targets of doelen die cruciaal zijn voor het leven van geleedpotigen. Elke mutatie die het gedrag of de fysiologie van een geleedpotige zodanig verandert dat het target op zijn minst gedeeltelijk zijn functie behoudt, zal leiden tot resistentie. Aan insecticidenresistentie liggen een of meerdere van de volgende vier mechanismen ten grondslag (Pasteur & Raymond 1996; IRAC 2011):

1. metabole weerstand: toename detoxificatie of uitscheiding;
2. target site: ongevoeligheid van moleculaire target;
3. verlaging van penetratie;
4. gedragsmatige vermijding van insecticide.

Ad 1. In resistente geleedpotigen kunnen insecticiden worden gemetaboliseerd (detoxificatie) door drie typen enzymen: oxidases (bijvoorbeeld cytochroom P450), glutathione S-transferase en hydrolases (bijvoorbeeld esterase). Een toename in de detoxificatie is een algemeen voorkomend resistentiemechanisme. Er is weinig bekend van de mutaties die oxidase-gemedieerde resistentie veroorzaken (Pasteur & Raymond 1996).

- Ad 2. Recente moleculaire studies suggereren dat de mutaties die resistentie veroorzaken zeldzaam en zelfs in sommige gevallen unieke gebeurtenissen zijn in een soort. De wijde geografische verspreiding van sommige van de genen kan slechts verklaard worden door de balans tussen migratie en selectie op populatieniveau van de geleedpotigen. Algemeen wordt aangenomen dat insecticideresistentiegenen een hoge fitness hebben waar insecticidegebruik hoog is, maar een verlaagde fitness in gebieden waar geen insecticiden worden gebruikt.
- Ad 3. Door wijzigingen in de spijsverteringskanaalwand van het insect kan de absorptie of penetratie van insecticiden voorkomen of vertraagd worden. Dit resulteert in een weerstand tegen een insecticide. Dit mechanisme kan invloed hebben op een breed scala van insecticiden. Voorbeelden van verminderde penetratiemechanismen zijn beperkt, maar ze worden vaak beschouwd als een factor die bijdraagt tot een verminderde gevoeligheid.
- Ad 4. Gedragsmatige resistentie treedt op wanneer het gedrag waarbij een insect blootstelling aan een insecticide vermijdt (of vermindert) een genetische basis heeft. Bij steekmuggen is bekend dat door het gebruik van met insecticide geïmpregneerde klamboes geselecteerd wordt voor muggen die niet 's nachts maar eerder in de avond of later in de ochtend steken, wanneer de mensen niet meer onder de klamboe liggen.

Sinds de ontdekking in 1897 dat malaria door steekmuggen tussen mensen wordt overgedragen, heeft de mensheid pogingen gedaan om vectoren te bestrijden. De laatste zestig jaar is chemische bestrijding algemeen ingezet; dit heeft tot grote successen geleid in de controle van vectorpopulaties (Pates & Curtis 2005). In het buitenland is de bestrijding van de vectoren met biociden één van de instrumenten die de overheid inzet. Twintig jaar geleden waren al 504 soorten geleedpotigen, waarvan 114 steekmuggensoorten, resistent tegen een of meerdere insecticidenfamilies. In Nederland zijn de laatste zestig jaar (met uitzondering van 2010 en 2011) geen muggenpopulaties bestreden in de groene ruimte. Mogelijk heeft gebruik van biociden in de landbouw geleid tot resistentieontwikkeling bij muggen. De kans op grootschalige resistentieontwikkeling bij een dergelijke niet-gerichte bestrijding is echter gering, maar dit is nooit onderzocht in Nederland.

Behandeling van hoofdluis door middel van insecticiden wordt tegenwoordig gezien als tweede keuze, omdat luizen en neten er minder gevoelig voor zijn door de ontwikkeling van resistentie. Voor de behandeling van hoofdluis bestaan diverse werkzame stoffen: malathion, permethrin en dimeticon. In omliggende landen is resistentie van hoofdluizen tegen permethrin aangetoond. Meerdere resistentiemechanismen voor permethrin bij hoofdluispopulaties zijn beschreven (Hemingway et al. 1999; Kristensen 2005), namelijk: modificatie van zenuwinsensitiviteit (knock down *kdr* resistance) en verandering in detoxificatie (onder andere mono-oxygenase). Permethrinresistentie van hoofdluis kan betrouwbaar aangetoond worden met permethrinresistentie-allelfrequenties (Kwon et al. 2008).

Op voorschrift van een arts zijn verschillende antischurftcrèmes verkrijgbaar bij de apotheek: benzylbenzooat- en permethrin crème. Tegenwoordig is het ook mogelijk om schurft te bestrijden met ivermectinetabletten. Lindaansmeersel, dat tot voor kort als standaardmiddel gebruikt werd, is sinds 1 januari 2008 in Europa verboden. De resistentie tegen lindaan (1%) is wereldwijd beschreven. De resistentie is zowel *in vivo* als *in vitro* in mijten aangetoond (Purvis & Tyring 1991; Heukelbach & Feldmeier 2006). Resistentie tegen ivermectine is slechts in één artikel beschreven (Currie et al. 2004). Er zijn in de literatuur geen meldingen van benzylbenzooatresistentie (Heukelbach & Feldmeier 2006). Wel wordt aangenomen dat mijten resistent tegen permethrin kunnen worden, maar

hiervan zijn nog geen gevallen beschreven (Heukelbach & Feldmeier 2006; Walton & Currie 2007).

Resistentie tegen lindaan, permethrin en ivermectine bij schurftmijten is in epidemiologische en bioassays aangetoond. Voor Nederland zijn geen data beschikbaar over het resistentiepercentage van schurftmijten. Voor het vinden van een adequate oplossing voor het falen van behandeling bij sommige schurftpatiënten en beheersing van epidemieën in instellingen is dergelijke kennis van belang.

Ter voorkoming van insecten- en tekenbeten zijn verschillende repellentia (producttype 19, Tabel 1) toegelaten. Er zijn geen gegevens over resistentieontwikkeling in Nederland bekend. Voor gebruik bij mensen zijn er in Nederland 38 middelen met N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) en twee middelen met p-menthaan-3,8-diol als werkzame stof beschikbaar. Terwijl de effectiviteit van de middelen op basis van DEET tegen muggen en andere insecten evident is, is dat niet zo duidelijk voor teken. Voor gebruik bij dieren, voornamelijk honden en katten, zijn er verschillende middelen tegen ectoparasieten, inclusief teken, geregistreerd onder diergeneesmiddelenwetgeving.

In Nederland worden biociden niet ingezet voor populatiebeheersing van teken, in tegenstelling tot populatiebeheersing van vele insecten.

3.5 Knaagdieren

Dat knaagdieren resistent kunnen worden tegen warfarine en andere 'first-generation anticoagulants', zoals difacinon and chlorofacinon, was al binnen een jaar na de introductie van warfarine als rodenticide bekend. De eerste resistente bruinerattenpopulatie werd in 1958 aangetroffen in Schotland (Boyle 1960). Tegenwoordig is resistentie een wijd verspreid fenomeen dat onder andere wordt gevonden in het Verenigd Koninkrijk, Zweden, Finland, Denemarken, Duitsland, Nederland, België, Frankrijk, USA, Canada, Maleisië en Australië. Het is in ieder geval aangetoond bij de drie commensaal levende knaagdiersoorten: de bruine rat (*Rattus norvegicus*), de zwarte rat (*Rattus rattus*) en de huismuis (*Mus musculus*). Recent is door het Kenniscentrum Dierplagen (KAD) in opdracht van Livestock Research van de Universiteit van Wageningen een enquête in Nederland uitgevoerd onder de bestrijdingstechnici bij bestrijdingsbedrijven, gemeenten en waterschappen naar de resistentie bij huismuizen, bruine en zwarte ratten (Schoelitsz 2011). Uit deze enquête bleek dat er vermoedelijke resistentie onder huismuizen wordt waargenomen in Amsterdam, rond Haarlem, in Zederik, in Weststellingwerf en in de gemeente Twenterand. Vermoedelijke resistentie onder zwarte ratten wordt waargenomen in Brabant en Limburg en onder bruine ratten hoofdzakelijk in het oosten van het land (rond Winterswijk en in Twente), rond Haarlem en in Limburg. Uit genetisch onderzoek bij bruine ratten blijkt dat verminderde gevoeligheid voor rodenticiden (minstens één gen mutatie) wordt waargenomen in het oosten van Nederland (rond Twente) en in Brabant en Gelderland rond de grote rivieren (Van der Lee et al. 2011).

Het optreden van kruisresistentie werd al snel opgemerkt bij de zogenaamde eerstegeneratie-anticoagulantia die tot 1975 op de markt waren, en de mate van resistentie lijkt omgekeerd evenredig te zijn met de toxiciteit van de gebruikte stoffen (Lund 1984). Om het probleem met de eerstegeneratie-anticoagulantia op te lossen werd een tweede generatie van meer potente middelen ontwikkeld zoals bromadiolone en brodifacoum, maar al snel bleek ook hiertegen resistentie op te treden.

Alle anticoagulantia binden zich aan het vitamine-K-reductase-enzymcomplex (VKOR) en verhinderen de productie van prothrombine met als gevolg dat het bloed niet meer kan stollen. In 2004 (Rost et al. 2004; Li et al. 2004) werd

aannemelijk gemaakt dat de resistentie bij ratten berust op zogenaamde 'missense' mutaties van bepaalde proteïnen binnen dit complex. Pelz et al. (2005) identificeerden acht verschillende mutaties binnen het complex in resistente laboratoriumstammen van de bruine rat en de huismuis. In bruine ratten gevangen in het wild op verschillende locaties in Europa werden vijf van deze mutaties aangetroffen. Pelz et al. (2005) toonden eveneens aan dat andere mutaties ook een rol spelen. Zij maakten het ook aannemelijk dat er op zijn minst zeven onafhankelijke mutaties hebben plaatsgevonden bij de bruine rat en twee bij de huismuis.

Uit onderzoek van Markussen et al. (2008) blijkt dat ook cytochroom P450 een belangrijke rol speelt bij resistentieontwikkeling. Vrouwtjes hadden ten opzichte van mannetjes bij blootstelling aan bromadiolone een hogere expressie van het Cyp2e1-gen, wat mogelijk een verklaring is voor het feit dat vrouwtjes vaak minder reactie vertonen bij de blootstelling aan anticoagulantia dan mannetjes. Ook bij de mens treedt warfarineresistentie op. Warfarine is een medicijn dat de bloedstolling remt en wordt toegepast om beroertes en hartaanvallen te voorkomen. Er worden twee mogelijke mechanismen beschreven waardoor warfarineresistentie kan ontstaan: een verhoogde afbraak van de stof en een verminderende affiniteit om aan de receptor te binden. Zowel erfelijke als omgevingsfactoren beïnvloeden de werking van warfarine bij mensen (Hall & Wilkins 2005). 'Missense' mutaties in het VCORC1-gen verklaren de overerfelijke warfarineresistentie bij zowel ratten als mensen (Rost et al. 2004; Li et al. 2004).

Zoals bij veel medicijnen wordt ook warfarine door enzymen afgebroken. De activiteit van de enzymen fluctueert van persoon tot persoon en daardoor zullen sommige mensen warfarine sneller kunnen verwijderen waardoor de remming van de bloedstolling teniet wordt gedaan. Dit is ook het geval voor de enzymen waaraan warfarine bindt. Deze lagere affiniteit heeft tot gevolg dat deze individuen bloedstollingsfactoren blijven produceren en daardoor meer of minder resistent voor warfarine zijn. Dit geldt zeer waarschijnlijk ook voor knaagdieren.

3.6 Toepassingsomgeving – Gebruikersgedrag

Biociden worden op veel manieren toegepast in de samenleving: in de gezondheidszorg, in de industrie, in huishoudens, in landbouw en veeteelt, bij de persoonlijke verzorging, bij voedselbereiding enzovoort.

Resistentieontwikkeling kan plaatsvinden wanneer (doel)organismen worden blootgesteld aan niet-effectieve (vaak: niet-letale) concentraties biociden. Er zijn drie belangrijke manieren waarop dat kan gebeuren:

1. onjuist gebruik;
2. residuen in het milieu;
3. veroudering.

Ad 1. Wanneer een biocide in een te lage concentratie wordt toegepast of wanneer de inwerktijd te kort is, neemt de effectiviteit van het middel af en daardoor de kans op resistentievorming toe. Ook andere omstandigheden kunnen de effectiviteit beïnvloeden, bijvoorbeeld wanneer er niet goed is schoongemaakt voordat een desinfectiemiddel wordt toegepast, want vuil interfereert met de werking van desinfectiemiddelen.

Onjuist gebruik van biociden zal vaker voorkomen wanneer de gebruiker een amateur is dan wanneer het een goed opgeleide professional betreft. Consumenten lezen de gebruiksaanwijzing vaak niet of ze volgen de instructies niet op (Consument en Veiligheid 2010; Gezondheidsraad

2001), vaak onwetend dat juiste toepassing heel belangrijk is voor de werkzaamheid van het product. Ook zal onjuist gebruik vaker voorkomen wanneer een verminderde werkzaamheid onopgemerkt blijft, zoals bij 'overbodige' toepassingen. Als de verminderde werkzaamheid weinig of geen impact heeft, zal men veelal minder precies zijn bij het toepassen dan wanneer onvoldoende werkzaamheid grote gevolgen kan hebben. Zo is de kans dat een desinfectiemiddel in huishoudens niet volgens de gebruiksaanwijzing gebruikt wordt veel groter dan wanneer datzelfde middel wordt ingezet bij het desinfecteren van een operatiekamer, omdat een uitbraak van een ziekmakende bacterie in een ziekenhuis absoluut voorkomen dient te worden, omdat dat veel schade kan veroorzaken en tot imagoschade kan leiden. Hetzelfde geldt voor een bacteriologische verontreiniging in voeding. Overigens kan het gebruik van desinfectiemiddelen door professionals ook misgaan, vooral bij professionals voor wie desinfectie slechts één van de vele taken is, zoals in de verpleging (Consumentenbond 2011).

Daarnaast bestaat nog het gevaar van onjuist gebruik van biociden wanneer deze duur zijn of in grote hoeveelheden gebruikt moeten worden. Uit kostenoverweging kan besloten worden een lagere concentratie te gebruiken of een biocideoplossing later te verversen dan voorgeschreven, wat beide ook weer kan leiden tot blootstelling van doelorganismen aan niet-effectieve concentraties biociden. Gebruikersgedrag kan dus een belangrijke factor zijn in het ontstaan van resistentie.

- Ad 2. Een tweede belangrijke bijdrage aan het gevaar op resistentieontwikkeling wordt gevormd doordat biociden op het moment van toepassing wel effectief zijn, maar dat na de behandeling de residuen van de actieve stoffen (verdund) in de omgeving terecht komen. Vooral biociden die in grote hoeveelheden worden toegepast kunnen op den duur in het milieu terecht komen in concentraties die hoog genoeg zijn om selectie van doelorganismen die verminderd gevoelig zijn in de hand te werken. Enkele biociden zijn al aangetoond in rivieren en het uitlaatwater van afvalwater-zuiveringsinstallaties (SCENIHR 2010).
- Ad 3. Als laatste kan de werkzaamheid van biociden afnemen naarmate producten ouder worden; bij textiel dat behandeld is met een bacteriedodende stof (nanozilver) zal de concentratie daarvan bijvoorbeeld afnemen naarmate het textiel vaker gewassen is, en bij vluchtige actieve stoffen zal de concentratie afnemen door verdamping wanneer de verpakking openstaat. Biociden die veel te lang bewaard zijn en toch nog gebruikt worden, uit onwetendheid en/of zuinigheid, zullen ook minder effectief zijn en hierdoor mogelijk resistentie in de hand werken.

Gebruikersgegevens voor biociden zijn nauwelijks voorhanden, maar de meeste biociden worden beschouwd als hoogvolumeproducten (10-1000 ton/jaar in de EU) (SCENIHR 2009). Over het algemeen zal bij grootschalige toepassing de kans op het opwekken van resistentie (ook bij juist gebruik) groter zijn dan bij biociden die op kleinere schaal gebruikt worden.

3.6.1 *Bacteriën*

Bij gebruik van de juiste dosering van correct gekozen biociden is het ontstaan van resistentie bij bacteriën onwaarschijnlijk (Chapman 1998). In laboratoriumstudies blijkt echter dat een verhoogde tolerantie tegen biociden kan ontstaan bij 'onder-gebruik'-doses. Er zou sprake kunnen zijn van dergelijk lage concentraties doordat het biocide uitverdund aanwezig is op afstand van de

plek van gebruik (denk daarbij ook aan lozing van een desinfectansoplossing in het riool en conserveringsmiddelen in cosmetica die met de cosmetica in het riool terecht komen), of door het onbedoeld achterblijven op oppervlakken van biocidebevattende producten (zoals cosmetica), of doordat om financiële redenen wordt onder-gedoseerd. Een mogelijk extra gevaar van het overmatig en onjuist gebruik van biociden is de simultane ontwikkeling van resistentie tegen antibiotica door kruisresistentie (zie paragraaf 3.8).

Begin jaren 1990 werden in Nederlandse ziekenhuizen bacteriën aangetroffen in de desinfecterende wasmachines voor flexibele endoscopen (Van Klingeren & Pullen 1993). Het betrof een stam van *Mycobacterium chelonae* die tolerant bleek te zijn voor het gebruikte desinfectans (2% glutaraaldehyde). Het probleem bleek te herleiden tot het veelvuldige hergebruik van het desinfectans dat bij ieder hergebruik verder verdund werd, tot een niveau waarbij het niet langer werkzaam bleek tegen de meer tolerante varianten van de genoemde bacterie. De op deze wijze geselecteerde stam kon daardoor het inwendige van de wasmachine koloniseren, waardoor de besmetting in stand werd gehouden. In het betreffende onderzoek bleken de uit de praktijk geïsoleerde stammen ook een verhoogde tolerantie te vertonen tegen perazijnzuur en verhoogde tolerantie voor de antibiotica rifampicin en ethambutol (Manzoor 1999). Sindsdien zijn er verbeteringen aangebracht in de wasmachines en lijkt het probleem niet meer op te treden. Een recente publicatie van McDonnell (2011) suggereert dat een andere *Mycobacterium*-soort (*M. massiliense*) zeer tolerant is voor glutaraaldehyde. Het is niet duidelijk in hoeverre dit in de Nederlandse situatie een probleem is.

Problemen met toenemende tolerantie van micro-organismen voor biociden zijn in de intramurale gezondheidszorg niet te verwachten. Het gebruik van desinfectiemiddelen is in de ziekenhuizen gebonden aan strikte regels, het personeel is goed geïnstrueerd, professionele deskundigheid in de vorm van een hygiënist is aanwezig en het algemene beleid toont terughoudendheid in het gebruik van desinfectantia; zie WIP richtlijn Beleid reiniging, desinfectie en sterilisatie (Werkgroep Infectiepreventie 2009).

Onoordeelkundig gebruik van desinfectiemiddelen buiten de ziekenhuizen kan eerder verwacht worden. Er zijn echter geen gegevens waaruit de mate van verkeerd gebruik blijkt en derhalve ook niet van de mate waarin het gebruik leidt tot toename van tolerantie van micro-organismen tegen de gebruikte desinfectantia.

Het gebruik van desinfectantia in het huishouden wordt algemeen ontraden (Weber & Rutala 2006; Gezondheidsraad 2001), tenzij er duidelijke indicaties zijn dat desinfectie noodzakelijk is om de gezondheid te beschermen.

In de metaalbewerkingsindustrie worden biociden gebruikt in de koelvloeistoffen voor de verspanende metaalbewerkingsmachines. Besmetting van koelvloeistof met bacteriën (waaronder opportunistische pathogenen) is een al lang bekend probleem met betrekking tot werknemersveiligheid. De onderzoeken naar resistentie (in het kader van dit onderzoek is geen uitputtend literatuuronderzoek gedaan) laten zien dat de MIC (Minimal Inhibitory Concentration) van diverse biociden (formaldehydevormers en isothiazolen) voor gangbare bacteriën (zoals *Pseudomonas aeruginosa*) met een factor 2-10 verhoogd kan worden door blootstelling aan subletale concentraties. In principe zijn de aanbevolen doseringen in de koelvloeistof afdoende om de bacteriën te doden. Belangrijk is dat in metaalbewerkingsmachines in bedrijven ook daadwerkelijk resistente organismen gevonden worden. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt doordat de werkzame stof niet overal gelijkmatig verdeeld wordt, en de bacteriën door biofilms beschermd worden (Chazal 1995; Sondossi et al. 1999).

Nanozilver kent antibacteriële toepassingen in textiel, verbandmateriaal en consumentenproducten zoals snijplanken en tandenborstels. Er zijn gegevens die wijzen op ontwikkeling van resistentie tegen nanozilver bij bacteriën die voorkomen bij mensen en dieren, en in afvalwater (Khan et al. 2011; Landsdown & Williams 2007; Woods et al. 2009).

Het BfR (BfR 2010) geeft een overzicht van de beschikbare informatie (tot 2010) over toxiciteit, milieu en resistentie met betrekking tot nanozilver. In het rapport wordt vastgesteld dat er weinig informatie beschikbaar is. BfR adviseert de fabrikanten vanuit het voorzorgsprincipe nanozilver niet toe te passen. Voor alternatieve middelen of toepassingen ontbreekt echter eveneens informatie, en BfR maakt geen vergelijkende beoordeling. Er is geen kennis over het mechanisme van resistentievorming voor nanozilver en van eventuele overdracht van deze resistentie. Ook zijn er geen studies die het voorkomen en de mogelijke uitbreiding van resistentie tegen (nano)zilver systematisch in kaart brengen. Het is dus onduidelijk of er een resistentieprobleem is en hoe groot dit probleem dan mogelijk is. Vanwege deze onduidelijkheden heeft de Europese Commissie eind 2011 een specifieke vraag hierover gesteld bij de 'Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks'. Deze zal hierover eind 2012 een opinie uitbrengen.

3.6.2 *Schimmels*

Hoewel resistentie tegen azolen kan ontstaan door chronische behandeling van patiënten, lijkt in Nederland een route via het milieu het meest belangrijk. Het is aannemelijk dat het gebruik van de vijf eerder genoemde azolen (zie paragraaf 3.3) die als bestrijdingsmiddel gebruikt worden een belangrijke rol speelt in het ontstaan van de TR/L98H-mutatie. Er is echter onvoldoende inzicht in de relatie tussen het gebruik van azolen in en buiten de landbouw, het ontstaan van resistentie, de verspreiding van residuen en de verspreiding van resistente stammen. *Aspergillus* kan verspreid worden via de lucht, met voedselgewassen, producten en materialen. Het is wel evident dat de TR/L98H zich vanaf 1998 heeft weten te handhaven in ons milieu, wat aangeeft dat deze stammen geen evidente 'fitness-cost' hebben ten gevolge van het TR/L98H-resistentiemechanisme.

3.6.3 *Geleedpotigen*

Hoe vaak een insecticide of controletactiek wordt gebruikt, is een van de meest belangrijke factoren die de resistentieontwikkeling beïnvloeden. Bij elk gebruik is er een voordeel voor de resistente insecten binnen een populatie. De stijging van de weerstand binnen een populatie zal over het algemeen sneller gaan bij lagere fitnesskosten. Daarnaast is de lengte van de tijd dat een insecticide effectief blijft, ook wel de persistentie, afhankelijk van de fysische chemie van het insecticide, de aard van de formulering, en de toepassingsmaat. Producten die een blijvend effect hebben, zorgen voor een continue selectiedruk, vergelijkbaar met meerdere behandelingen. Zo zal het spuiten van een ruimte voor een zeer korte tijd effectief zijn en alleen selecteren binnen een generatie muggen. Daarentegen zal een muurapplicatie of een klamboebehandeling voor maanden of jaren effectief zijn en een selectiedruk uitoefenen op vele generaties van hetzelfde insect.

Insecten die een korte levenscyclus en een hoge reproductiesnelheid hebben (bijvoorbeeld muggen), ontwikkelen resistentie sneller dan soorten die zich minder snel voortplanten en een langere levensduur hebben (bijvoorbeeld tseetseevliegen). In het eerste geval kunnen resistentiegenen zich sneller door de hele populatie verspreiden.

3.6.4 *Knaagdieren*

Men neemt aan dat resistentie bij muizen en ratten kan optreden door onoordeelkundig gebruik van de rodenticiden; er is echter geen officiële publicatie over dit onderwerp beschikbaar. Bij onoordeelkundig gebruik moet gedacht worden aan het te vroeg ophouden met het gebruik van rodenticiden, zodat binnen de knaagdierpopulaties resistentie kan worden opgebouwd. Ook het voorhanden zijn van andere voedselbronnen voorkomt dat de knaagdieren alleen maar rattengif binnen krijgen en dit vergroot ook de kans op resistentie.

3.7 **Resistentietesten**

De Europese Commissie heeft een 'Technical Notes for Guidance' (TNSG) (EU 2009a) opgesteld voor de beoordeling van resistentie. Deze wordt gebruikt door het College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctbg). De TNSG is vastgesteld op de 33e vergadering van de Competent Authorities voor de implementatie van Richtlijn 98/8/EG op 13-15 mei 2009. De relevante secties uit de TNSG zijn samengevoegd in een ander document: 'Revision of Chapter 6.2' (EU 2009b).

In dit laatste document wordt verduidelijkt dat er geen specifieke testen voor resistentie en resistentieontwikkeling bestaan. De TNSG is beperkt tot een beschrijving van resistentie, enkele suggesties voor het type onderzoek, en aanwijzingen voor de evaluatie van onderzoek en de beoordeling van het risico op resistentie. Het geeft tevens een overzicht van factoren die resistentie kunnen bevorderen, een overzicht van mogelijke maatregelen om resistentieontwikkeling te voorkomen dan wel tegen te gaan en aanwijzingen voor het monitoren van resistentie.

De mogelijkheden voor het vaststellen van resistentieontwikkeling door middel van laboratoriumtesten zijn beperkt. Veelal zal resistentie pas in de praktijk blijken. De TNSG suggereert ook dat op basis van 'read-across' (i.e. gebruikmakend van gegevens van verwante stoffen) besloten kan worden bij gebrek aan gegevens (zonder verder uit te diepen hoe dat zou moeten). Wat betreft het type onderzoek dat voorhanden zou kunnen zijn, beschrijft de TNSG dat resistentie bij bacteriën kan worden vastgesteld met behulp van het bepalen van de MIC, veranderingen in bactericidekinetiek, en het bepalen van de bijbehorende genen. Voor gewervelden wordt geopperd dat er specifieke testen kunnen zijn, zoals bloedstollingstesten voor anticoagulantia. Naast laboratoriumtesten worden veldtesten genoemd (naar het gebruik van het product volgens de voorschriften in de eigenlijke gebruiksomgeving).

3.8 **Kruisresistentie en co-resistentie**

3.8.1 *Bacteriën*

Algemene mechanismen die biocideresistentie bewerkstelligen bij bacteriën, zoals een verminderde doorlaatbaarheid van de celmembraan of het actief naar buiten brengen van de stof door middel van effluxpompen, kunnen tegelijkertijd gebruikt worden om zich te verweren tegen antibiotica. Hierdoor kan blootstelling aan een (te lage dosis) biocide niet alleen resistentie tegen deze stof tot gevolg hebben, maar ook resistentie tegen andere stoffen met zich meebrengen. Dit fenomeen wordt kruisresistentie genoemd. Co-resistentie houdt in dat het gen dat verantwoordelijk is voor resistentie van de ene stof (bijvoorbeeld biociden) fysiek gekoppeld is aan, en overerft met, het gen verantwoordelijk voor resistentie van de andere stof (bijvoorbeeld antibiotica). Dit kan gebeuren als beide genen op plasmiden liggen. Een andere vorm van co-resistentie die beschreven is bij bacteriën is een verandering (mutatie) in

één gen dat de expressie van meerdere resistentiegenen reguleert, waaronder genen verantwoordelijk voor resistentie tegen biociden en genen verantwoordelijk voor resistentie tegen antibiotica.

Er zijn meerdere studies die een correlatie beschrijven tussen biocide- en antibioticaresistentie. In theorie kan dit als oorzaak hebben dat bacteriën zijn blootgesteld aan antibiotica en biociden (bijvoorbeeld in een ziekenhuissetting of in de veehouderij) of dat ze zijn blootgesteld aan een van de twee, maar dat er sprake is van kruisresistentie of co-resistentie. Ter ondersteuning van het laatste zijn meerdere aanwijzingen dat subletale concentraties van biociden inderdaad kunnen selecteren voor stammen die minder gevoelig zijn voor antibiotica. De frequentie waarmee dit gebeurt, hangt af van het type biocide (Meyer & Cookson 2010). In de veehouderij is er een associatie gevonden tussen resistentie voor fluoroquinolonen en cyclohexaantolerantie bij *E. coli*-isolaten (Randall et al. 2005). *Salmonella*-isolaten die aan desinfectantia (een fenol, een oxidant, een aldehyde, en een quaternaire ammoniumverbinding) werden blootgesteld, ontwikkelden mutanten met verlaagde gevoeligheid voor ampicilline, ciprofloxacin en tetracycline (Randall et al. 2007). Meerdere in-vitrostudies lieten zien dat vooral suboptimale concentraties van biociden bij herhaalde of langdurige blootstelling tot antibioticumresistentie kunnen leiden (SCENIHR 2010).

In de volgende paragrafen worden verschillende voorbeelden van correlatie tussen biocide- en antibioticaresistentie besproken.

3.8.1.1 Triclosan

Triclosan is een stof die aan producten voor persoonlijke hygiëne wordt toegevoegd, zoals cosmetica, handzeep, lotions en tandpasta, alsmede aan andere producten zoals textiel en plastic. Kruisresistentie voor triclosan en antibiotica is beschreven voor meerdere bacteriesoorten, waaronder *M. smegmatis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* en *Salmonella*. Bij *M. smegmatis* waren varianten die werden geselecteerd door blootstelling aan triclosan of het antibioticum isoniazid resistent tegen beide drugs door een mutatie in het *inhA*-gen (Levy 2001). Bij *P. aeruginosa* wordt kruisresistentie veroorzaakt door effluxpompen; blootstelling aan triclosan selecteerde voor multidrugresistente varianten door opregulatie van niet-specifieke effluxpompen (Chuanchien et al. 2001). MRSA-stammen geïsoleerd uit patiënten die triclosanbaden kregen, bleken ook resistent tegen muporicine. Resistentie tegen triclosan en muporicine was gezamenlijk overdraagbaar via een plasmide (Cookson et al. 1991). Deze vorm van co-resistentie kon echter niet bevestigd worden door anderen (Suller & Russell 2000). Tot slot is kruisresistentie aangetoond tussen triclosan en laagniveau-resistentie voor antibiotica in *E. coli* en *Salmonella* (Braoudaki en Hilton 2004a, 2004b; Randall et al. 2004).

3.8.1.2 Quaternary Ammonium Compounds (QAC's)

Quaternary Ammonium Compounds, of quaternaire ammoniumverbindingen, komen in de vorm van geconcentreerde oplossingen op de markt en worden gebruikt voor de bestrijding van bacteriën, gisten, schimmels en algen. De toxicologische gegevens over QAC's zijn beperkt; zij zijn echter wel bewezen irriterend voor huid en ogen (Ctbg). Genen die voor resistentie tegen quaternaire ammonium verbindingen coderen, liggen vaak op integronen. Integronen zijn genetische elementen die zelf niet mobiel zijn, maar via plasmiden of transposons kunnen worden overgedragen tussen gramnegatieve bacteriën. Integrons bevatten vaak gencassettes die coderen voor antibioticumresistentie (Hegstad et al. 2010).

Akimitsu et al. (1999) hebben aangetoond dat varianten van methicilline-resistente *S. aureus* (MRSA) die resistent zijn voor het QAC-

benzalkoniumchloride, ook ongevoeliger zijn voor oxacilline. Het mechanisme van co-resistentie is in dit geval niet beschreven. Een andere MRSA-variant bleek behalve resistent tegen benzalkoniumchloride ook resistent tegen aminoglycoside-antibiotica, chloorhexidine en ethidiumbromide. Deze variant bleek een multidrugsresistente plasmide te bevatten (pSAJ1) (Yamamoto et al. 1988). Ook is in de veehouderij resistentie (qac A/B) tegen QAC's aangetoond bij staphylococconen, zoals MRSA (Hegstad et al. 2010).

Voor andere *Staphylococcus*-soorten die voorkomen in de voedselindustrie, *P. aeruginosa* en *E. coli* is ook kruisresistentie aangetoond voor QAC's en verschillende antibiotica, via niet-specifieke multidrugeffluxpomp. Deze pompen worden gecodeerd door meerdere *qac*-genen, die vaak op plasmiden liggen (voor staphylococconen: Sidhu et al. 2001; Sidhu et al. 2002; Littlejohn et al. 1992; voor *P. aeruginosa* Joynson et al. 2002; voor *E. coli* Langsrud et al. 2004; Paulsen et al. 1993). Chromosomale multidrugpompen zijn ook beschreven, voor *Listeria monocytogenes* (Mereghetti et al. 2000). In dit geval bleek er echter geen sprake van kruisresistentie: QAC-resistente *L. monocytogenes* bleek niet verminderd gevoelig voor vijftien antibiotica die getest werden (Aase et al. 2000).

Na blootstelling aan verschillende soorten van desinfectantia ontstonden mutanten van *Salmonella enterica* serovar Typhimurium die ook verminderd gevoelig waren voor ciprofloxacin, chloramphenicol, tetracycline en ampicilline. (Karatzas et al. 2008).

Tezel en Pavlovstathis (2012) signaleren dat de aanwezigheid van QAC's het verkrijgen van plasmiden met genen die voor (multi-)resistentie tegen antibiotica coderen, bevordert. Ongebreideld gebruik en emissie van QAC's zou daarom een aanzienlijk risico met zich mee kunnen brengen.

3.8.1.3 Chloorhexidine en glutaaraldehyde

Bij klinische isolaten van gramnegatieve bacteriën is er een correlatie aangetoond tussen de mate van ongevoeligheid voor chloorhexidine en de mate van ongevoeligheid voor verscheidene antibiotica, waaronder de betalactam-antibiotica piperacilline, cefotaxime, cefepime, ceftazidime en imipenem (Köljalg et al. 2002). Blootstelling van MRSA aan subletale concentraties chloorhexidine resulteerde in verminderde gevoeligheid voor meerdere antibiotica (Vali et al. 2008).

Glutaaraldehyderesistente stammen van *Mycobacterium chelonae* zijn geïsoleerd van ziekenhuisapparatuur. Blootstelling van deze stammen aan 2% alkalineglutaaraldehyde gedurende een uur geeft minder of gelijk aan 1-log reductie. Het is aangetoond dat glutaaraldehyderesistentie van *M. chelonae* correleert met een verhoogde ongevoeligheid voor rifampicine en ethambutol. De oorzaak is een verandering in de celwand (Manzoor 1999).

3.8.2 Schimmels

A. fumigatus is geen plantpathogene schimmel. In het geval dat de resistentievorming door gebruik van fungiciden in de landbouw veroorzaakt is, kan deze gezien worden als onbedoeld bijeffect.


Het TR/L98H-resistentiemechanisme geeft kruisresistentie tegen alle medische azolen, maar niet tegen antimycotica van andere klassen, zoals de polyenen en de echinocandines. De werkzaamheid van deze middelen voor de behandeling van *Aspergillus*-ziekten is echter minder goed aangetoond. In *A. fumigatus* is zeer recent een nieuwe mutatie ontdekt die volledige resistentie geeft tegen voriconazol, met verminderde activiteit tegen de andere azolen. Stammen met dit resistentiemechanisme hebben zich zeer snel over Nederland verspreid

en in 2010 werd de resistente stam aangetroffen bij vijftien patiënten in zes ziekenhuizen. De kenmerken van dit nieuwe resistentiemechanisme zijn vergelijkbaar met die van TR/L98H: er zijn infecties bij azoolnaïeve patiënten en de aanwezigheid van het mechanisme in *A. fumigans* in het milieu is aangetoond. Het vermoeden is nu dat de doorlopende blootstelling van *Aspergillus* aan fungiciden kan leiden tot de ontwikkeling van steeds nieuwe resistentiemechanismen (Van der Linden et al. 2011).

3.8.3 Geleedpotigen

Het fenomeen van kruisresistentie is relatief frequent in vectorpopulaties. Zo zijn DDT en pyrethroid insecticiden die chemisch niet verwant zijn, maar wel beide werken op dezelfde targetsite: het spanningsgevoelige natriumkanal. Gebruik van DDT in het verleden heeft geresulteerd in ontwikkeling van resistentie binnen een aantal insectensoorten als gevolg van de *kdr*-mutatie op de targetsite. Insectenpopulaties waar deze mutaties zijn behouden, hebben enige weerstand tegen alle pyrethroiden in aanvulling op DDT-resistentie. Kruisresistentie kan zich ook voordoen tussen de organofosfaten en carbamaat-insecticiden wanneer de weerstand het gevolg is van een hogere mate van ongevoeligheid van het enzym acetylcholineesterase (AChE) voor inhibitie door het insecticide (Figuur 2).

Een succesvolle beheersing van ontwikkeling van kruisresistentie hangt samen met het verminderen van selectiedruk op een populatie. Selectiedruk kan verminderd worden door toepassing van verschillende strategieën, waaronder rotatie, het gebruik van mengsels van insecticiden en mozaïek toepassingen. Synergisten nemen een waardevolle plaats in bij de verlenging van de levensduur van insecticiden waartegen zich metabole resistentie ontwikkelt.



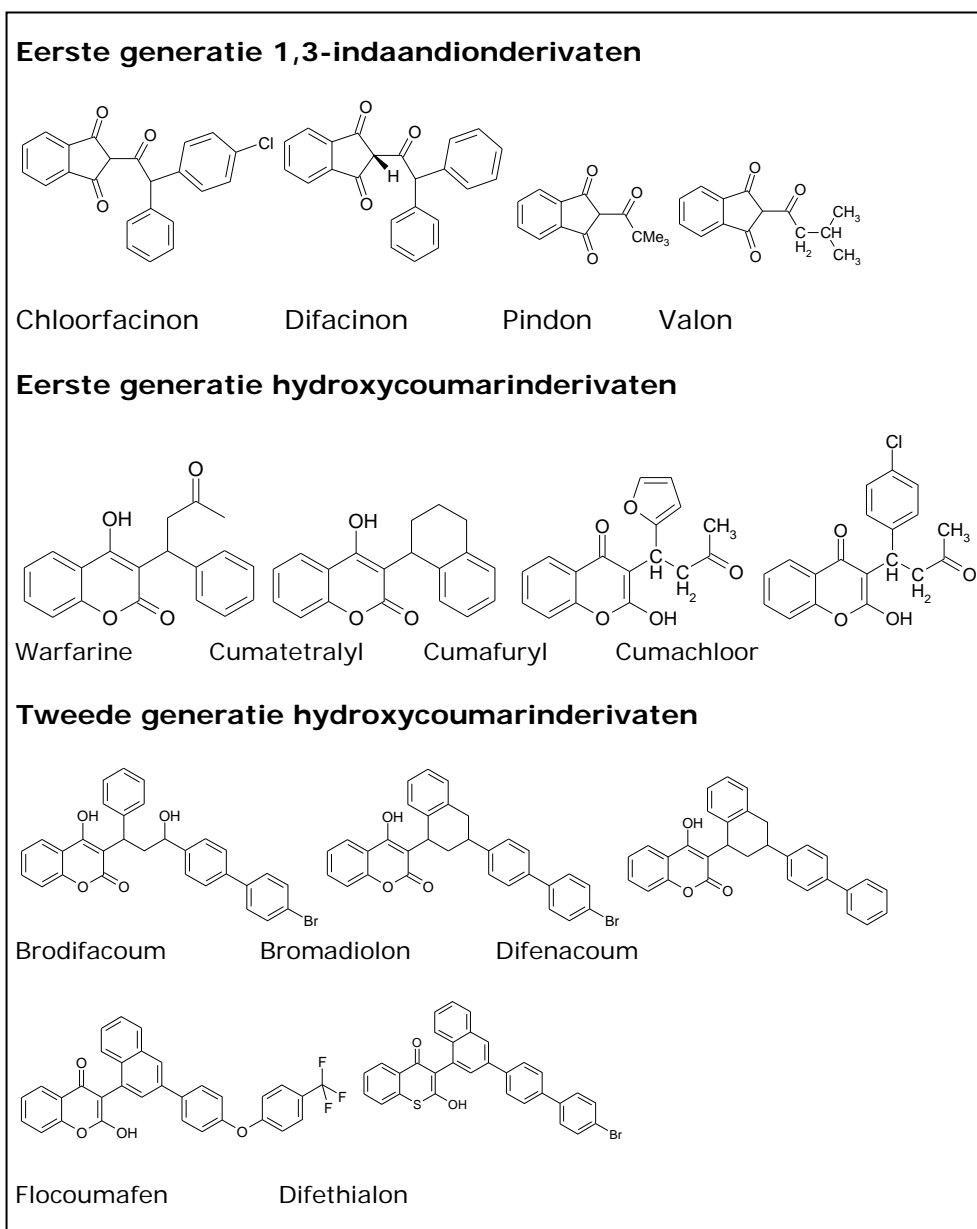
| | Biochemical mechanism of resistance | | | | |
|------------------|-------------------------------------|---------------|--------------------|-------------|--------------|
| | Metabolic | | | Target-site | |
| | Esterases | Monoxygenases | GSH S-Transferases | <i>kdr</i> | Altered AChE |
| Pyrethroids | ● | ●● | | ● | |
| DDT | | ● | ●● | ● | |
| Carbamates | ● | | | | ●● |
| Organophosphates | ●● | ● | | | ●● |

Figuur 2 Belangrijke biochemische resistentiemechanismen tegen belangrijke klassen van insecticiden bij volwassen muggen. De cirkelgrootte representeert de relatieve impact van het mechanisme op resistentie (IRAC 2011)

3.8.4 Knaagdieren

Kruisresistentie werd al snel opgemerkt na de introductie van de zogenaamde eerstegeneratie-anticoagulantia. Ook na de introductie van de meer potente tweedegeneratie-anticoagulantia bleek resistentie snel op te treden. Dit is misschien ook niet zo verwonderlijk, want alle rodenticiden uit deze twee groepen (een hydroxycoumarinderivaat en een 1,3-indaandionderivaat) (Figuur 3) zijn chemisch verwant en stoelen op hetzelfde werkingsmechanisme.

Informatie over kruisresistentie bij gebruik van rodenticiden en antibiotica is niet beschikbaar.



Figuur 3 Chemische structuur van eerste- en tweedegeneratierodenticiden

4 Kennisbronnen

In Tabel 3 is weergegeven bij welke instituten kennis voorhanden is met betrekking tot resistentieontwikkeling ten gevolge van biocidegebruik bij verschillende groepen doelorganismen. De auteurs pretenderen niet dat deze lijst volledig is, maar geven slechts de kennisbronnen aan waarvan zij op de hoogte zijn.

Tabel 3 Kennisbronnen

| doelorganisme | kennisbron | expertise |
|---------------|--|---|
| bacteriën | RIVM | toepassing van biociden als bactericiden resistentieontwikkeling van bacteriën tegen biociden en antibiotica |
| schimmels | College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb) | toetsing van biociden aan de wet- en regelgeving |
| | UMC St. Radboud | resistentieontwikkeling van schimmels tegen azolen, NL referentielaboratorium |
| | Wageningen University & Research Centre (WUR) | resistentieontwikkeling van schimmels tegen fungiciden |
| geleedpotigen | FRAG-NL (Regionale fungicideresistentiewerkgroep (vz H. Schepers WUR)) | resistentieontwikkeling van schimmels tegen fungiciden |
| | Centraal Bureau voor Schimmelculturen (CBS) | onderzoek naar schimmels en zwammen |
| | Kenniscentrum Dierplagen (KAD) | resistentieontwikkeling van geleedpotigen tegen biociden |
| | Nederlandse Vereniging van Plaagdiermanagement Bedrijven (NVPB) | resistentieontwikkeling van geleedpotigen tegen biociden |
| knaagdieren | nVWA Divisie Plant | resistentieontwikkeling van geleedpotigen tegen gewasbeschermingsmiddelen |
| | Wageningen UR Livestock Research | resistentieontwikkeling van knaagdieren tegen rodenticiden |
| | Kenniscentrum Dierplagen (KAD) | resistentieontwikkeling van knaagdieren tegen rodenticiden |

5 Discussie

De maatschappij is in hoge mate afhankelijk van goed werkzame biociden en het is daarom van groot belang dat biociden ook werkzaam blijven en de ontwikkeling van resistentie tegen biociden bij doelorganismen wordt voorkomen of beperkt. De inventarisatie in dit rapport geeft aan dat op diverse terreinen resistentie van doelorganismen tegen biociden is ontstaan. Bijlage 1 geeft een overzicht van kwetsbare combinaties van doelorganismen en biociden met betrekking tot resistentieontwikkeling.

5.1 Toepassingsomgeving en gebruikersgedrag

Resistentieontwikkeling heeft vaak te maken met de manier waarop biociden worden gebruikt. Blootstelling van doelorganismen aan niet-effectieve concentraties biociden werkt selectie van minder gevoelige individuen in de hand. Hoewel niet-effectieve formuleringen niet op de markt toegelaten worden, kan het toch gemakkelijk gebeuren dat toepassing van een werkzaam biocide blootstelling aan niet-effectieve concentraties veroorzaakt. Dat kan zowel gebeuren bij onjuiste toepassing als bij juist gebruik. Onjuist gebruik door onvoldoende dosering, te korte inwerktijd, of onjuiste toedieningswijze geeft de meer resistente organismen in de populatie de kans om zich te verspreiden ten koste van minder resistente organismen. Er zijn aanwijzingen dat onjuist gebruik van biociden geen uitzondering is, ook niet onder de beroepsmatige toepassingen. Dezelfde selectie vindt plaats na verdunning bij lozing in het milieu. Bij juist gebruik treedt dit proces in theorie ook op, nadat de beoogde mate van desinfectie bereikt is, bijvoorbeeld door verdamping/uitloging en afbraak gevolgd door herbesmetting, en door ongelijke verdeling van de werkzame stof afhankelijk van de omgeving (bereikbaarheid) en de samenstelling van biofilms.

Onwetendheid van de gebruiker met betrekking tot de toepassingsindicatie is de belangrijkste oorzaak van onjuist gebruik, zowel door professionals als door particulieren. Onder professionals kan onwetendheid bestreden worden door betere voorlichting en door het omgaan met biociden een belangrijkere plaats in vakopleidingen te geven. De instelling van een certificeringssysteem waar desinfectie cruciaal is, bijvoorbeeld in zorginstellingen of bij de voedselbereiding, kan hieraan eveneens bijdragen. Onwetendheid bij particuliere gebruikers is veel lastiger te bestrijden. Mede daarom zou gebruik van biociden door particulieren zoveel mogelijk beperkt moeten worden, vooral voor toepassingen waarbij resistentievorming een punt van aandacht is. De Gezondheidsraad concludeert bijvoorbeeld in een rapport uit 2001 dat er geen wetenschappelijk bewijs is dat routinematig gebruik van desinfectantia in het huishouden zinvol is. Het lijkt verstandig terughoudend te zijn met het toevoegen van desinfecterende stoffen aan consumentenproducten en met het gebruik van producten met deze toevoegingen in het huishouden en bij de persoonlijke verzorging (Gezondheidsraad 2001). Gezien het feit dat resistentie tegen antibiotica een groeiend probleem is en het niet valt uit te sluiten dat het gebruik van desinfecterende stoffen ook resistentie tegen antibiotica bevordert, is het verstandig om het gebruik van desinfectantia in het huishouden en de persoonlijke verzorging te beperken tot medische indicaties.

Het is daarom ook zinvol om het nut en de noodzaak van andere desinfectietoepassingen van biociden kritisch te bekijken, zoals de wijdverbreide toepassingen van nanozilver in textiel en triclosan in kunststoffen. Bij deze producten neemt de werkzame concentratie van het biocide af in de tijd, door

uitdamping, slijtage of wassen, waardoor deze onder de werkzame concentratie kan zakken. Dit kan resistentievorming in de hand werken. Via verschillende routes, zoals weggooien, uitwassen en uitscheiden, komen gebruikte biociden uiteindelijk in verschillende maten van verdunning in het milieu terecht. Het effect dat deze lage niet-effectieve, concentraties hebben op resistentieontwikkeling bij micro-organismen in het milieu is nog onduidelijk.

5.2 Resistentie bij niet-plaagorganismen

Met betrekking tot schimmels speelt dat het steeds aannemelijker is dat resistentie tegen azolen bij *A. fumigatus* via blootstelling in het milieu ontstaat, hoewel het bewijs nog niet geleverd is. Het is onduidelijk of biociden een belangrijke rol spelen in dit proces (naast fungiciden in de landbouw), hoewel bekend is dat de schimmel groeit op materialen of producten waar fungiciden als biocide worden ingezet (bijvoorbeeld hout en plantaardige en kunststofvezels, weekmakers voor plastics en brandstof) (Mills & Eggins, 1974; Mills & Klausmeier 1974; Sharp 1975; Rossmoore et al. 1988; Sivrikaya & Kara 2009).

5.3 Resistentie bij plaagdieren

Er is geen overzicht van de omvang van resistentieontwikkeling bij insecten tegen biociden in Nederland. Om resistentieontwikkeling bij geleedpotigen te voorkomen is een systeem van Geïntegreerd Vector Management (IVM) aan te bevelen. IVM kan worden gedefinieerd als een rationeel besluitvormingsproces voor optimaal gebruik van de middelen voor vectorcontrole. Zo kan de selectiedruk op een populatie verminderd worden door een aantal strategieën, waaronder rotatie en het gebruik van insecticidenmengsels (Insecticide Resistentie Management, IRM). IRM is een integraal onderdeel van IVM; alleen door actieve beheersing van insecticidegebruik kunnen de beschikbare middelen optimaal en duurzaam worden toegepast.

Opmerkelijk is dat vastgesteld wordt dat er geen literatuur is waarin het verband tussen de wijze van gebruik van rodenticiden (juist of onjuist) en de ontwikkeling van resistentie wordt aangetoond. Algemeen wordt aangeraden alle andere voedselbronnen dan die waarin rodenticiden aanwezig zijn zo veel mogelijk te verwijderen of ontoegankelijk te maken en niet te vroeg te stoppen met de bestrijding.

5.4 Kruisresistentie

Gebruik van subletale doses van desinfectantia en andere biociden kan kruis- en co-resistentie tegen antibiotica tot gevolg hebben. Of biocidegebruik bijdraagt aan de omvang van de antibioticaresistentieproblematiek is echter niet duidelijk. Veel studies beschrijven een correlatie tussen ongevoeligheid voor biociden en antibiotica, zonder een causaal verband onderzocht te hebben. Studies die wel het effect van blootstelling aan biociden op het ontstaan van antibioticaresistentie hebben onderzocht, hebben niet altijd de (ir)reversibiliteit van de ontstane resistentie bestudeerd of het achterliggende mechanisme onderzocht. Het is waarschijnlijk dat de impact van biocidegebruik op het ontstaan van antibioticaresistentie afhangt van het onderliggende mechanisme. Als bacteriën door blootstelling aan biociden tijdelijk de samenstelling van de celmembraan veranderen (een vorm van intrinsieke resistentie) en daarmee ook voorkomen dat antibiotica de cel binnendringen, verdwijnt de antibioticaresistentie als de biocideblootstelling wordt weggenomen. Het is echter ook mogelijk dat bacteriën door blootstelling aan biociden resistent worden tegen antibiotica door blijvende veranderingen in bijvoorbeeld chromosomale genen of door verwerving van resistentiegenen die effluxpompen

reguleren of door het verwerven van antibioticaresistentiegenen door co-locatie van antibioticaresistentie- en biocideresistentiegenen op plasmiden. In zulke gevallen kan de antibioticaresistentie als verworven eigenschap blijven bestaan en zich verder verspreiden naar het nageslacht, of zelfs naar andere, niet noodzakelijk verwante, bacteriën door middel van horizontale genoverdracht. Of en hoe vaak zulke fenomenen zich in de praktijk voordoen bij juist gebruik van biociden is echter niet bekend. Toekomstig onderzoek zou moeten uitwijzen of, in verhouding tot antibioticagebruik, biocidegebruik een significante bijdrage levert aan het ontstaan en de verspreiding van antibioticaresistentie. De SCENIHR beveelt in zijn opinie van 2010 aan om onderzoek te doen om de mechanismen van kruisresistentie tegen biociden en antibiotica te karakteriseren, en tevens om strategieën te ontwikkelen om kruisresistentie tegen te gaan (SCENIHR 2010).

6 Aanbevelingen voor beleid

Het ontstaan van resistentie tegen biociden bij organismen is een natuurlijk fenomeen. Er is enig inzicht in resistentiemechanismen voor bacteriën, geleedpotigen en knaagdieren en in de werkelijke aanwezigheid en verspreiding van biocideresistentie bij knaagdieren. Het ontstaan van resistentie bij plaagorganismen en van kruisresistentie bij ziekteverwekkers voor mens en dier is een gevaar dat sinds enige jaren onderkend is, vooral in de context van antibioticaresistentie in de kliniek, veehouderij en voedselveiligheid. De kennisbasis voor resistentie door biociden geeft aanleiding tot de volgende aanbevelingen voor onderzoek en beleid.

1. Stimuleer onderzoek naar de mechanismen waardoor kruisresistentie tegen biociden en antibiotica ontstaat en overgedragen kan worden, en onderzoek strategieën om dit tegen te gaan.
2. Stimuleer onderzoek naar de (vermeende) relatie tussen onjuist gebruik van rodenticiden en resistentie bij knaagdieren.
3. Ten aanzien van azoolresistentie bij schimmels: onderzoek de rol van biocidetoepassingen van azolen in de ontwikkeling en het onderhouden van resistentie bij *Aspergillus*, zoals eerder aanbevolen door de nVWA en het RIVM in oktober 2010.
4. Stimuleer ontwikkeling van en onderzoek naar alternatieven voor bestaande biociden teneinde resistentieontwikkeling tegen te gaan.
5. Stimuleer de ontwikkeling van methoden om resistentieontwikkeling aan te tonen.
6. Ontwikkel een kader voor duurzaam gebruik van biociden (zoals 'Integrated Vector Management' en 'Integrated Pest Management') waarvan het beheersen van resistentieontwikkeling onderdeel is.
7. Resistentievorming wordt door juist gebruik en juiste toepassing van biociden zoveel mogelijk voorkomen. Kennis van de gebruiksomgeving, schadelijke organismen en de toepassing van toegelaten middelen bij de toepasser zijn noodzakelijk om onjuist gebruik te voorkomen. Aandacht hiervoor bij professioneel gebruik en in vakopleidingen is essentieel.
8. Behandelde (consumenten)producten moeten op resistentieontwikkeling beoordeeld worden, in verband met afname van de concentratie biocide tot onder de werkzame concentratie door uitdamping, slijtage of wassen.
9. Het gebruik van alternatieve middelen is van belang voor het afwisselen van werkzame stoffen om resistentieontwikkeling te voorkomen. Het is van belang bij toelating van middelen rekening te houden met de beschikbaarheid van dergelijke alternatieven en gebruik hiervan te bevorderen.
10. Gezien het feit dat resistentie tegen antibiotica een groeiend probleem is en het niet valt uit te sluiten dat het gebruik van biociden resistentie tegen antibiotica bevordert, is het van belang om
 - a. het gebruik van desinfectantia in huishoudens en voor persoonlijke verzorging te beperken tot medische indicaties op doktersvoorschrift;
 - b. professionele toepassingen van deze biociden kritisch te bekijken in een kader voor duurzaam gebruik.

11. Zorg dat het Nederlandse beleid leidt tot een terughoudend gebruik van desinfectantia in privéhuishoudens, in samenhang met de aanbevelingen in de Opinions van de SCENIHR en de Gezondheidsraad, en in lijn met het Europees Actieplan tegen het toenemende gevaar van antimicrobiële resistentie.

Verantwoording

Dit rapport is tot stand gekomen door raadpleging van diverse experts binnen het RIVM op het gebied van verschillende toepassingen van biociden. Zij hebben tekstuele bijdragen aan dit rapport geleverd op basis van hun kennis en door hen geselecteerde relevante publicaties uit de internationale literatuur en beschikbare rapporten van andere kennisinstellingen zoals de Gezondheidsraad, SCENIHR, EMA, EFSA en ECDC. Aan dit rapport ligt geen systematisch literatuuronderzoek ten grondslag en een meta-analyse van alle in de (inter)nationale literatuur over dit onderwerp gepubliceerde studies is niet uitgevoerd.

Dankwoord

De auteurs danken Prof. Dr. Paul Verweij (Radboud UMC, Nijmegen), Dr. Joke van der Giessen (RIVM, LZO), Dr. Erwin Duizer (RIVM, LIS) en Dr. Engeline van Duijkeren (RIVM, LZO) voor hun bijdrage aan dit rapport.

Literatuur

- Aase B, Sundheim G, Langsrud S, Rorvik LM. (2000) Occurrence of and a possible mechanism for resistance to a quaternary ammonium compound in *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 62: 57-63.
- Akimitsu N, Hamamoto H, Inoue R, Shoji M, Akamine A, Takemori K, Hamasaki N, Sekimizu K. (1999) Increase in resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to beta-lactams caused by mutations conferring resistance to benzalkonium chloride, a disinfectant widely used in hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 3042-3043.
- BfR (2010) BfR Rät von Nanosilber in Lebensmitteln und Produkten des täglichen Bedarfs ab. Stellungnahme Nr. 024/2010 des BfR vom 28. Dezember 2009. Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin.
- Bichai F, Payment P, Barbeau B. (2008) Protection of waterborne pathogens by higher organisms in drinking water: A review. *Can J Microbiol* 54: 509-524.
- Boyle CM. (1960) Case of apparent resistance of *Rattus norvegicus* Berkenhout to anticoagulant poisons. *Nature* 188:517.
- Braoudaki M, Hilton AC. (2004a) Adaptive resistance to biocides in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157 and cross-resistance to antimicrobial agents. *J Clin Microbiol* 42: 73-78.
- Braoudaki M, Hilton AC. (2004b) Low level of cross-resistance between triclosan and antibiotics in *Escherichia coli* K-12 and *E. coli* O55 compared to *E. coli* O157. *FEMS Microbiol Lett* 235: 305-309.
- Cerf O, Carpentier B, Sanders P. (2010) Tests for determining in-use concentrations of antibiotics and disinfectants are based on entirely different concepts: "Resistance" has different meanings. *Int J Food Microbiol* 136: 247-254.
- Chazal PM. (1995) Pollution of modern metalworking fluids containing biocides by pathogenic bacteria in France. *Eur J Epidemiol* 11: 1-7.
- Chapman JS. (1998) Characterizing bacterial resistance to preservatives and disinfectants. *Int Biodeter Biodegr* 41: 241-245.
- Chuanchuen R, Beinlich K, Hoang TT, Becher A, Karkhoff-Schweizer RR, Schweizer HP. (2001) Cross-resistance between triclosan and antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by multidrug efflux pumps: exposure of a susceptible mutant strain to triclosan selects nfxB mutants overexpressing MexCD-OprJ. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 428-432.
- Cloete TE. (2003) Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. *Int Biodeter Biodegr* 51: 277-282
- Consument en Veiligheid. (2010) Etiketten huishoudchemicaliën worden niet gelezen. 16 mei 2010. <http://www.veiligheid.nl/over-ons/etiketten-huishoudchemicalien-worden-niet-gelezen> (05-10-2011).
- Consumentenbond. (2011) Vuile handen aan het bed. Mei 2011. <http://www.medeco.nl/uploads/tekstpaginas/file/Test%20overpleeghuizen%20consumentenbond%202011.pdf> (05-10-2011)
- Cookson BD, Farrelly H, Stapleton P, Garvey RP, Price MR. (1991) Transferable resistance to triclosan in MRSA. *Lancet* 337: 1548-1549.
- Currie BJ, Harumal P, McKinnon M, Walton SF. (2004) First Documentation of in vivo and in vitro ivermectin resistance in *Sarcoptes scabiei*. *Clin Infect Dis* 39(1): e8-e12 doi:10.1086/421776.

- EC. (2011) Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council concerning the placing on the market and use of biocidal products. General secretariat of the Council of the European Union. Document number st17197, Interinstitutional File: 2009/0076 (COD). Brussel.
- EU. (2009a) Technical Notes for Guidance on Product Evaluation. European Chemicals Bureau, Ispra, Italy.
http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/health-env/risk_assessment_of_Biocides/doc/TNSG/TNSG_PRODUCT_EVALUATION/TNSG-Product-Evaluation.pdf/at_download/file (06-12-2011)
- EU. (2009b) Revision of Chapter 6.2 (Common Principles and Practical Procedures for the Authorisation and Registration of Products) of the TNsG on Product Evaluation, and a revision of Chapter 101. (Assessment for the potential for resistance to the active substance) of the TNsG on Annex I Inclusion. http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/health-env/risk_assessment_of_Biocides/doc/TNSG/TNSG_ANNEX_I_INCLUSION/TNSG_Product_Evaluation_Annex_I_Inclusion_Chapter_Resistance.pdf
- Fraiese AP. (2002) Biocide abuse and antimicrobial resistance--a cause for concern? J Antimicrob Chemother 49: 11-12.
- Gezondheidsraad. (2001) Desinfectantia in consumentenproducten. Den Haag: Gezondheidsraad; publicatie nr. 2001/05; ISBN: 90-5549-361-9.
<http://www.gezondheidsraad.nl/sites/default/files/01@05N.PDF> (05-10-2011).
- Hall AM, Wilkins MR. (2005) Warfarin: a case history in pharmacogenetics. Heart 91: 563-564.
- Hegstad K, Langsrud S, Lunestad BT, Scheie AA, Sunde M, Yazdankhah SP. (2010) Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? Microb Drug Resist. 16:91-104.
- Hemingway J, Miller J, Mumcuoglu KY. (1999) Pyrethroid resistance mechanisms in the head louse *Pediculus capitis* from Israel: implications for control. Med Vet Entomol 13: 89-96.
- Heukelbach J, Feldmeier H. (2006) Scabies. Lancet 367:1767-1774.
- IRAC. (2011) Prevention and Management of Insecticide Resistance in Vectors of Public Health Importance. A manual produced by: Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) second edition 2011 p. 71.
- Joynson JA, Forbes B, Lambert RJ. (2002) Adaptive resistance to benzalkonium chloride, amikacin and tobramycin: the effect on susceptibility to other antimicrobials. J Appl Microbiol 93: 96-107.
- Khan S, Mukherjee A, Chandrasekaran W (2011) Silver nanoparticles tolerant bacteria from sewage environment. Journal of Environmental Sciences 23: 346-352
- Karatzas KA, Randall LP, Webber M, Piddock LJ, Humphrey TJ, Woodward MJ, Coldham NG. (2008) Phenotypic and proteomic characterization of multiply antibiotic-resistant variants of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium selected following exposure to disinfectants. Appl Environ Microbiol 74: 1508-1516.
- King VMB. (2000) Fact and fantasy regarding resistance to microbicides. 96th Annual meeting of the American Leather Chemists Association.
- Köljalg S, Naaber P, Mikelsaar M. (2002) Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. J Hosp Infect 51: 106-113.
- Kristensen M. (2005) Identification of sodium channel mutations in human head louse (*Anoplura: Pediculidae*) from Denmark. J Med Entomol 2: 826-829.
- Kümmerer K. (2004) Resistance in the environment. J Antimicrob Chemther 54: 311-320.

- Kwon DH, Yoon KS, Strycharz JP, Clark JM, Lee SH. (2008) Determination of permethrin resistance allele frequency of human head louse populations by quantitative sequencing. *J Med Entomol* 45: 912-920.
- Landsdown AB, Williams A (2007) Bacterial resistance to silver in wound care and medical devices. *J Wound Care* 16(1): 15-19.
- Langsrud S, Sundheim G, Holck AL. (2004) Cross-resistance to antibiotics of *Escherichia coli* adapted to benzalkonium chloride or exposed to stress-inducers. *J Appl Microbiol* 96: 201-208.
- Levy SB. (2001) Antibacterial household products: cause for concern. *Emerg Infect Dis* 7: 512-515.
- Li T, Chang CY, Jin DY, Lin PJ, Khvorova A, Stafford DW. (2004) Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature* 427:541-4.
- Littlejohn TG, Paulsen IT, Gillespie MT, Tennent JM, Midgley M, Jones IG, Purewal AS, Skurray RA. (1992) Substrate specificity and energetics of antiseptic and disinfectant resistance in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 74: 259-265.
- Lund M. (1984) Resistance to the second-generation anticoagulant rodenticides. Vertebrate Pest Conference Proceedings collection: Proceedings of the Eleventh Vertebrate Pest Conference (1984), page 89 - 94.
- Manzoor SE, Lambert PA, Griffiths PA, Gill MJ, Fraise AP. (1999) Reduced glutaraldehyde susceptibility in *Mycobacterium chelonae* associated with altered cell wall polysaccharides. *J Antimicrob Chemother* 43: 759-765.
- Markussen MDK, Heiberg A-C, Fredholm M, Kristensen M. (2008) Differential expression of cytochrome P450 genes between bromadiolone-resistant and anticoagulant-susceptible Norway rats: a possible role for pharmacokinetics in bromadiolone resistance. *Pest Manag Sci* 64: 239-248.
- McDonnell G, Russell AD. (1999) Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 12: 147-179.
- McDonnell G. (2011) Disinfection: is it time to reconsider Spaulding? *J Hosp Infect* 78: 163-170.
- Méchin L, Dubois-Brissonnet F, Heyd B, Leveau JY. (1999) Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 to didecyldimethylammonium bromide induces changes in membrane fatty acid composition and in resistance of cells. *J Appl Microbiol* 86: 859-866.
- Mereghetti L, Quentin R, Marquet-Van Der Mee N, Audurier A. (2000) Low sensitivity of *Listeria monocytogenes* to quaternary ammonium compounds. *Appl Environ Microbiol* 66: 5083-5086.
- Meyer B, Cookson B. (2010) Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control? *J Hosp Infect* 76: 200-205.
- Mills J, Eggins HOW. (1974) The biodeterioration of certain plasticisers by thermophilic fungi. *Int Biodeter Bul* 10: 39-44.
- Mills J, Klausmeier RE. (1974) The biodeterioration of synthetic polymers and plasticizers. *Crit Rev Environ Contr* 4: 341-351.
- Pasteur N, Raymond M. (1996) Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration, and selection in field populations. *J Hered* 87:444-449.
- Pates H, Curtis C. (2005) Mosquito behavior and vector control. *Annu Rev Entomol* 50: 53-70.
- Paulsen IT, Littlejohn TG, Radstrom P, Sundstrom L, Skold O, Swedberg G, Skurray RA. (1993) The 3' conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 761-768.

- Pecson BM, Martin LV, Kohn T. (2009) Quantitative PCR for Determining the Infectivity of Bacteriophage MS2 upon Inactivation by Heat, UV-B Radiation, and Singlet Oxygen: Advantages and Limitations of an Enzymatic Treatment To Reduce False-Positive Results. *Appl Environl Microbiol* 75: 5544–5554.
- Pelz HJ, Rost S, Hünerberg M, Fregin A, Heiberg AC, Baert K, MacNicol AD, Prescott CV, Walker AS, Oldenburg J, Müller CR. (2005) The genetic basis of resistance to anticoagulants in rodents. *Genetics* 170: 1839-1847.
- Purvis RS, Tyring SK. (1991) An outbreak of lindane-resistant scabies treated successfully with permethrin 5% cream. *J Am Acad Dermatol* 25:1015-1016.
- Randall LP, Cooles SW, Piddock LJ, Woodward MJ. (2004) Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic-resistant *Salmonella enterica*. *J Antimicrob Chemother* 54: 621-627.
- Randall LP, Clouting CS, Gradel KO, Clifton-Hadley FA, Davies RD, Woodward MJ. (2005) Farm disinfectants select for cyclohexane resistance, a marker of multiple resistance, in *Escherichia coli*. *J Appl Microbiol* 98: 556-563.
- Randall LP, Cooles SW, Coldham NG, Penuela EG, Mott AC, Woodward MJ, Piddock LJ, Webber MA. (2007) Commonly used farm disinfectants can select for mutant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with decreased susceptibility to biocides and antibiotics without compromising virulence. *J. Antimicrob Chemotherap* 60:1273-1280.
- Rossmoore HW, Wireman JW, Rossmoore LA, Riha VF. (1988) Factors to consider in testing biocides for distillate fuels. In: Distillate fuel: contamination, storage, and handling. Chesneau HL and Dorris MM (editors). ASTM Committee D-2 on Petroleum Products and Lubricants. Pages 95-113. ASTM West Conshohocken, PA, USA.
- Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hörtnagel K, Pelz H-J, Lappegard K, Seifried E, Scharrer I, Tuddenham EGD, Müller CR, Strom TM, Oldenburg J. (2004) Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* 427:537–541.
- Russell AD. (2000) Do biocides select for antibiotics resistance? *J Pharm Pharmacol* 52: 227-233.
- Russell AD. (2002) Antibiotic and biocide resistance in bacteria: Introduction. *J Appl Microbiol Symposium Supplement* 92: 1S-3S.
- Russell AD. (2004) Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *J Hosp Inf* 57: 97-104.
- Schoelitz B. (2011) Enquête-resultaten onderzoek resistentie huismuis, zwarte rat en bruine rat. Rapport Kenniscentrum Dierplagen (KAD), Wageningen. 12 p.
- SCENIHR. (2009) Assessment of the antibiotic resistance effects of biocides, 19 January 2009.
- SCENIHR. (2010) Directorate-general for Health & Consumers; Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Research strategy to address the knowledge gaps on the antimicrobial resistance effects of biocides (2010, ISBN 978-92-79-12753-3) http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_028.pdf
- Sharp RF. (1975) The interaction of fungi, wood preservatives and wood. The movement of copper by hyphae as observed with a model technique. *Wood Sci Tech* 9: 99-111.

- Sidhu MS, Heir E, Sorum H, Holck A. (2001) Genetic linkage between resistance to quaternary ammonium compounds and beta-lactam antibiotics in food-related *Staphylococcus* spp. *Microb Drug Resist* 7: 363-371.
- Sidhu MS, Heir E, Leegaard T, Wiger K, Holck A. (2002) Frequency of disinfectant resistance genes and genetic linkage with beta-lactamase transposon Tn552 among clinical staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 2797-2803.
- Sivrikaya H, Kara O. (2009) Airborne fungi in wood and wood based board factories. *Indoor and Built Environment* 18: 265-269.
- Snelders E, Huis In 't Veld RA, Rijs AJ, Kema GH, Melchers WJ, Verweij PE. (2009) Possible environmental origin of resistance of *Aspergillus fumigatus* to medical triazoles. *Appl Environ Microbiol* 75: 4053-4057.
- Snelders E, Camps SMT, Karawajczyk A, Schaftenaar G, Kema GHJ, van der Lee HA, Klaassen CH, Melchers WJG, Verweij PE. Triazole fungicides can induce cross-resistance to medical triazoles in *Aspergillus fumigatus*. *PLoS One* 2012; (in press).
- Suller MT, Russell AD. (2000) Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 46: 11-18.
- Sondossi M, Rossmore HW, Lashen ES. (1999) Influence of biocide treatment regimen on resistance development to methylchloro-/methylisothiazolone in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int Biodeter* 43: 85-92.
- Tezel U, Pavlovstathis SG. (2012) Role of Quaternary Ammonium Compounds on antimicrobial resistance in the environment. Chapter 20 in: Keen PL and Montforts MHMM (Editors) *Antibiotic resistance in the environment*. John Wiley & Sons Publishers, Boston, USA. ISBN 978-0-470-90542-5.
- Vali L, Davies SE, Lai LL, Dave J, Amyes SG. (2008) Frequency of biocide resistance genes, antibiotic resistance and the effect of chlorhexidine exposure on clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *J Antimicrob Chemother* 61: 524-532.
- Van der Lee TAJ, van Hoof RA, Brouwer G, Meerburg BG. (2011) Ontwikkeling en toepassing van een snelle diagnostische test voor resistentie van de bruine rat tegen rodenticiden. Wageningen UR Livestock Research rapport 510, pp 19.
- Van der Linden JWM, Snelders E, Kampinga GA, Rijnders BJA, Mattsson E, Debets-Ossenkopp YJ, Kuiper EJ, van Tiel FH, Melchers WJG, Verweij PE. (2011) Clinical implications of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, the Netherlands, 2007-2009. *Emerg Inf Dis* 17: 1846-1854.
- Van Klinger B, Pullen W. (1993) Glutaraldehyde resistant mycobacteria from endoscope washers. *J Hosp Inf* 25: 147-149.
- Walton SF, Currie BJ. (2007) Problems in diagnosing scabies, a global disease in human and animal populations. *Clin Microbiol Rev* 20: 268-279.
- Weber DJ, Rutala WA. (2006) Use of germicides in the home and the healthcare setting: Is there a relationship between germicide use and antibiotic resistance? *Inf Contr Hosp Epidemiol* 27: 1107-1119.
- Werkgroep Infectiepreventie (2009) http://www.wip.nl/free_content/Richtlijnen/111Beleid%20reiniging%20desinfectie%20en%20sterilisatie.pdf (22-11-2011).
- Woods EJ, Cochrane CA, Percival SL (2009) Prevalence of silver resistance genes in bacteria isolated from human and horse wounds. *Veterinary Microbiology* 138: 325-329.
- Yamamoto T, Tamura Y, Yokota T. (1988) Antiseptic and antibiotic resistance plasmid in *Staphylococcus aureus* that possesses ability to confer chlorhexidine and acrinol resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 32: 932-935.

Yim G, Wang HH, Davies JE. (2007) Antibiotics as signalling molecules. *Philos Trans Royal Soc Lond B Biol Sci* 362: 1195-1200.

Bijlage 1 Kwetsbare combinaties van doelorganismen en biociden met betrekking tot ontwikkeling van resistentie

| groep | doelorganisme | biocide |
|---------------|---|---|
| bacteriën | <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | triclosan |
| | <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), coagulasenegatieve staphylococci, <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> | QAC's |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Mycobacterium</i> spp. <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | chloorhexidine glutaaraldehyde formaldehyde |
| | <i>Escherichia coli</i> <i>Aspergillus</i> spp. | pijnboomolie azolen |
| geleedpotigen | insecten | DDT, pyrethroiden, organofosfaten |
| knaagdieren | ratten, muizen | warfarine, difacinon, chlorofacinon, bromadiolone, brodifacoum |

Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven
www.rivm.nl