

Resistentieontwikkeling van *Aspergillus fumigatus* tegen triazolen door gebruik van biociden en gewasbeschermingsmiddelen

Ministerie van Infrastructuur en Milieu

11 September 2013

Definitief rapport

9X5052



Barbarossastraat 35
Postbus 151
6500 AD Nijmegen
+31 (0)24 328 42 84 Telefoon
info@rhdhv.com E-mail
www.royalhaskoningdhv.com Internet
Amersfoort 56515154 KvK

Documenttitel Resistentieontwikkeling van *Aspergillus fumigatus* tegen triazolen door gebruik van biociden en gewasbeschermingsmiddelen

Verkorte documenttitel

Status Definitief rapport
Datum 11 September 2013
Projectnaam Biociden en resistentieontwikkeling van schimmels
Projectnummer 9X5052
Opdrachtgever Ministerie van Infrastructuur en Milieu
Referentie 9X5052/R0001/902285/Nijm

Auteur(s) Ir. P.S. Schoep, Dr. Ir. I. Sterenberg
Collegiale toets Ir. F. Balk
Datum/paraaf 12-09-2013
Vrijgegeven door Dr. Ir. I. Sterenberg
Datum/paraaf 12-09-2013

INHOUDSOPGAVE

	Blz.	
1	INLEIDING	1
2	RESISTENTIE VAN SCHIMMELS TEGEN AZOLEN	2
	2.1 <i>Aspergillus fumigatus</i>	2
	2.2 Resistente stammen	2
3	TOEGELATEN MIDDELEN OP BASIS VAN AZOLEN IN NEDERLAND	5
	3.1 Biociden en gewasbeschermingsmiddelen	5
	3.1.1 Behandelde voorwerpen	6
	3.2 (Dier)geneesmiddelen	7
	3.3 Cosmetica	8
4	BLOOTSTELLING	9
	4.1 Biociden	9
	4.1.1 Gebruiksvoorschrift	9
	4.1.2 Blootstelling van de mens aan triazolen	9
	4.1.3 Blootstelling schimmels aan triazolen	10
	4.1.4 Mogelijke blootstelling aan resistente schimmel	10
	4.2 Gewasbeschermingsmiddelen	11
	4.2.1 Gebruiksvoorschrift	11
	4.2.2 Blootstelling mens	11
	4.2.3 Blootstelling schimmels aan triazolen	11
	4.2.4 Mogelijke blootstelling aan resistente schimmel	12
	4.3 Behandelde voorwerpen	12
	4.4 Gemeten concentraties in oppervlaktewater	12
	4.5 Discussie blootstelling van <i>A. fumigatus</i> in het milieu aan azolen door biociden en gewasbeschermingsmiddelengebruik	13
5	CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN	14
6	REFERENTIES	17

BIJLAGEN

- Bijlage 1: Overzichtstabel toegelaten biociden op basis van triazolen;
 Bijlage 2: Overzichtstabel toegelaten gewasbeschermingsmiddelen op basis van triazolen.

1 INLEIDING

Vanaf 1998 werd in Nederland in toenemende mate invasieve aspergillose geconstateerd bij reeds verzwakte patiënten (bv door beenmergtransplantatie of orgaantransplantatie), veroorzaakt door de schimmel *Aspergillus fumigatus*. Geneesmiddelen van de azool klasse, die normaliter werden gebruikt om invasieve aspergillose te behandelen, bleken in toenemende mate niet te werken. Oorzaak was de toenemende resistentie van *A.fumigatus* tegen azolen. Het gebruik van azolen (met name triazolen) in gewasbeschermingsmiddelen en biociden wordt als mogelijke veroorzaker van de resistentie gezien.

In 2010 bracht de nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit (nVWA) een advies uit over resistentie van *A.fumigatus* tegen azool fungiciden (met name triazolen) in opdracht van de toenmalige ministeries LNV en VROM. Zij concludeerden dat de kennis op dat moment niet toereikend was voor een gedegen onderbouwing van maatregelen, en definieerden een onderzoeksprogramma bestaande uit de volgende componenten:

- Toepassing en mate van toepassing van azolen in en buiten de humane gezondheidszorg.
- Bron van resistente stammen.
- Afname resistentie bij staking van gebruik azolen en vervanging door alternatieven.
- Schatting extra kosten behandeling patiënten met resistente schimmelinfectie.
- Schatting kosten maatregelen verminderen resistentie-ontwikkelen versus baten gezondheidszorg.

Naar aanleiding van het rapport van de nVWA heeft het ministerie van Infrastructuur en Milieu (I&M) het voorkomen van resistentie bij schimmels genoemd in de laatste voortgangsrapportage van het Beleidsprogramma Biociden aan de Tweede Kamer (5 oktober 2010, referentienr DP 2010016077). Het huidige rapport is opgesteld om de rol van biociden (op basis van triazolen) bij de resistentievorming bij schimmels tegen medisch gebruikte triazolen nader te onderzoeken. Hiertoe werd een inventarisatie gemaakt van de huidige stand van kennis met betrekking tot de resistentieproblematiek, de (toegelaten) toepassingen van triazolen in Nederland en condities waaronder blootstelling van de schimmel aan triazolen kan plaatsvinden. Gaandeweg het onderzoek werd duidelijk dat ook triazolen die gebruikt worden in gewasbescherming, diergeneesmiddelen en cosmetica een belangrijke rol kunnen spelen, daarom werden deze ook meegenomen in het onderzoek. In overleg met vertegenwoordigers van het ministerie van I&M, het ministerie van VWS, het RIVM, het CTGB, en de Radboud Universiteit Nijmegen werden de resultaten van de inventarisatie besproken en aanbevelingen gedaan met betrekking tot de aanpak van de problematiek.

2 RESISTENTIE VAN SCHIMMELS TEGEN AZOLEN

2.1 *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus is een schimmel die dood organisch materiaal afbreekt en daarmee een belangrijke rol speelt in de koolstof- en stikstofkringloop. De schimmel komt wijd verspreid voor en heeft een grote geografische verspreiding. *A. fumigatus* kan zich op 3 verschillende manieren voortplanten: seksueel, asexueel en paraseksueel (Wikipedia, 2013).¹

Sporen van deze schimmel kunnen in de luchtwegen ontkiemen en het weefsel van de gastheer ingroeien (invasieve aspergillose). Bij mensen met een normaal functionerend immuunsysteem wordt dit tijdig voorkomen, maar bij patiënten met een gecompromitteerd immuunsysteem (bv. door leukemie, chemotherapie, aandoeningen aan de luchtwegen) komt deze infectie regelmatig voor. In het begin van de 20^e eeuw was invasieve aspergillose een relatief weinig voorkomend verschijnsel, pas met de introductie van agressieve immuunsysteemonderdrukkende therapieën voor kankerpatiënten, werd een groter deel van de populatie gevoelig voor deze infectie (Snelders et al., 2012).

2.2 Resistente stammen

Behandeling van invasieve aspergillose vindt plaats met 3 groepen werkzame stoffen: polyenen, echinocandines en triazolen. Sinds ca. 2000 wordt echter steeds vaker geconstateerd dat behandeling met triazolen (itraconazol, posaconazol en voriconazol) niet aanslaat vanwege resistentie van *A. fumigatus*. Het risico op invasieve aspergillose varieert tussen 5 en 15% bij risicopatiënten (zie Tabel 1 uit Snelders, 2010), en in Nederland wordt het aantal gevallen van invasieve aspergillose geschat op 577 per jaar. Het overlijdensrisico is ongeveer 40% bij een azoolgevoelige schimmel, maar is 88% bij een resistente schimmel. Bij een prevalentie van resistentie van 6 tot 10%, zullen in Nederland 30 tot 51 patiënten elk jaar overlijden door azoolresistente invasieve aspergillose. De aspergillus schimmel kan een reeks van andere ziekten veroorzaken zoals chronische aspergillose en allergische ziektebeelden. Het European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) schat het aantal jaarlijkse gevallen van invasieve aspergillose in de EU op 63.250 (ECDC, 2013). Behandeling van een azoolresistente infectie is zeer moeilijk met maar 1 alternatief middel, en dit alternatieve middel heeft niet de voorkeur vanwege ernstige bijwerkingen (o.a. nier- en leverbeschadiging bij toediening van amphotericine B) en hogere kosten (geschatte meerkosten per patiënt per dag € 350-950 per dag, nVWA, 2010).

¹ Bij asexuele voortplanting zijn de nakomelingen genetisch identiek aan de ouder, bij paraseksuele voortplanting fuseren twee schimmelhyphen van dezelfde schimmel waarna beide celkernen een diploïde celkern vormen om vervolgens weer te splitsen tot haploïde celkernen. Tijdens deze fusie kan genetische informatie tussen chromosomen uitgewisseld worden en kunnen nieuwe genotypes ontstaan.

Tabel 1: Voorkomen invasieve aspergillose (%) en sterftetekans (%) voor verschillende patiëntengroepen (Bron: Snelders, 2012(b)).

Patiëntengroep	Voorkomen (%)	Sterftetekans (%)
Acute leukemie	5 - 24	30 - 40
Allogene stamceltransplantatie	10	60
Orgaantransplantatie	11 - 14	50 - 60
Andere oorzaak van immunodeficiëntie (brandwonden, AIDS, intensive care)	4 - 7	70 - 85

Hoewel is aangetoond dat *A. fumigatus* resistent kan worden onder behandeling van patienten met medische azolen, wijst onderzoek aan de Radboud Universiteit in Nijmegen naar een andere bron (Snelders, 2012). Resistentievorming door patientbehandeling komt slechts incidenteel voor en hieraan liggen puntmutaties ten grondslag. Steeds vaker blijken patienten die nooit eerder met medische triazolen in aanraking zijn geweest, besmet te zijn met resistente *A. fumigatus*. *A. fumigatus* resistent voor medische azolen werd ook aangetroffen in het milieu, wat wijst op een alternatieve route van resistentie selectie, namelijk in het milieu. Het gaat daarbij in eerste instantie om stammen met de TR₃₄/L98H-mutatie.

In een onderzoek naar het moleculaire werkingsmechanisme van de voor medische toepassingen gebruikte triazolen itraconazol, posaconazol en voriconazol werden ook 31 fungiciden getest, die tussen 1970 en 2005 toegelaten waren als gewasbeschermingsmiddel en/of biocide in Nederland. Deze stoffen waren benzimidazoles (carbendazim, fuberidazole, thiabendazole, benomyl), thiophanates (thiophanate-methyl), cyanoimidazoles (cyazofamide), imidazoles (imazilil, prochloraz, triflumizole), imidazolinones (imazamethabenz-methyl, fenamidone), pyrimidines (fenarimol, nuarimol), anilinopyrimidines (pyrimethanil), en triazoles (amitrole, biteranol, bromuconazole, cyproconazole, difenoconazole, epoxiconazole, fenchlorazole, metconazole, myclobutanil, paclobutrazole, penconazole, propiconazole, prothioconazole, tebuconazole, triadimefon, triademinol I, triademinol II). Dit onderzoek liet zien dat de triazolen epoxiconazool, bromuconazool, difenozonazool, propiconazool en tebuconazool een vergelijkbaar werkingsmechanisme hebben, terwijl dit voor de andere fungiciden werd uitgesloten (Snelders et al., 2012). Het is op dit moment nog niet gelukt resistentie (TR₃₄/L98H-mutatie) te induceren in wildtype *A. fumigatus* door blootstelling aan de 5 laatstgenoemde triazolen in het laboratorium. Overigens behoort *A. fumigatus* niet tot de doelorganismen van deze azoofungiciden. *A. fumigatus* veroorzaakt geen plantenziekten, maar is wel aanwezig in de grond en zou daar kunnen worden blootgesteld aan fungiciden of biociden.

Het percentage infecties in patienten met resistente schimmels neemt toe (van 1.7% in 2000 tot 6.0% in 2007 bij het UMC St. Radboud). In milieumonsters worden resistente isolaten inmiddels door heel Europa aangetroffen, op diverse locaties, maar nog niet overall: monsters afkomstig van "natural soil" (niet verder gespecificeerd) bevatten in 2007 geen resistente isolaten, in tegenstelling tot monsters uit ziekenhuizen (luchtmonsters), grond nabij ziekenhuizen en grond- en compostmonsters uit tuincentra (Snelders et al., 2009). De verspreiding van de schimmel door middel van sporen die zich door de lucht verplaatsen, betekent dat vele mensen dagelijks in contact komen met sporen van resistente schimmels en dat het probleem een internationaal karakter heeft.

Het is nog niet bekend hoe de resistente stam (TR₃₄/L98H) is ontstaan. Vermoeden is dat resistentie mogelijk zou kunnen ontstaan tijdens seksuele reproductie van *A. fumigatus* (persoonlijke communicatie, P. Verweij). Verspreiding zou vervolgens plaatsvinden via asexuele reproductie. Omdat seksuele reproductie vaak weken duurt, is de hypothese dat er specifieke omstandigheden zullen moeten zijn waarin de schimmel en het middel bij elkaar komen om de resistente stam te vormen (persoonlijke communicatie, P. Verweij). Door azolen als gewasbeschermingsmiddelen of biociden te gebruiken ontstaat constante selectiedruk, waardoor de resistente stam voordeel heeft t.o.v. de niet-resistente stam. Dit lijkt niet echt ten koste te gaan van fitness. Het is niet bekend wat er gebeurt als de selectiedruk wordt weggenomen.

De afgelopen 15 jaar zijn 3 verschillende mutaties gevonden: TR₃₄/L98H, en meer recentelijk TR₅₃, and TR₄₆/Y121F/T289A. De resistente stammen worden op diverse locaties teruggevonden: in het milieu, in compost, in huizen en ziekenhuizen. Bossen vormen hierop een uitzondering. Aspergillus sporen kunnen zich verspreiden door de lucht. In de afgelopen jaren is duidelijk geworden dat de resistente stam over heel Europa is verspreid. Ook buiten Europa wordt TR₃₄/L98H gevonden zoals in Azië en het Midden Oosten. De meest recent ontdekte mutatie (TR₄₆/Y121F/T289A) is reeds aanwezig in het milieu in Nederland en is inmiddels ook gevonden in omgevingsonderzoek in België. (persoonlijke communicatie P. Verweij)

Uit microsatelliet onderzoek is gebleken dat de gevonden resistente stammen TR₃₄/L98H in Europa een gemeenschappelijke voorouder hebben, terwijl het wildtype *A. fumigatus* genetisch verschillend is. De drie verschillende mutaties die zijn gevonden zijn niet aan elkaar gerelateerd. (ECDC, 2013)

3 TOEGELATEN MIDDELEN OP BASIS VAN AZOLEN IN NEDERLAND

De toepassingen van azolen buiten ziekenhuizen zijn voornamelijk in biociden, gewasbeschermingsmiddelen en (dier)geneesmiddelen. Om te inventariseren voor welke toepassingen van de in het RIVM-rapport uit 2011 genoemd triazolen (propiconazool, tebuconazool, bromuconazool, difenoconazool en epoxiconazool) er in Nederland producten zijn toegelaten, zijn databases van de toelating verlenende instanties geraadpleegd.

3.1 Biociden en gewasbeschermingsmiddelen

Om in kaart te brengen welke biociden en gewasbeschermingsmiddelen op basis van de eerdergenoemde triazolen in Nederland zijn toegelaten, is de bestrijdingsmiddelendatabase van het College voor de Toelating van Gewasbeschermingsmiddelen en Biociden (CTGB) geraadpleegd (<http://www.ctgb.nl>) op 8 juli 2013. In Tabel 2 wordt een overzicht gegeven van de huidige toegelaten middelen. Bromuconazool is niet toegelaten in biocideproducten of gewasbeschermingsmiddelen op de Nederlandse markt, difenoconazool en epoxiconazool zijn toegestaan als actieve stoffen in gewasbeschermingsmiddelen in Nederland. Propiconazool en tebuconazool zijn als actieve stoffen toegelaten voor gebruik in zowel biociden als gewasbeschermingsmiddelen in Nederland.

Tabel 2: Overzicht van in Nederland toegelaten biociden en gewasbeschermingsmiddelen op basis van triazolen, onderverdeeld naar toelating voor professioneel en particulier gebruik.

Stof	Toegelaten biociden		Toegelaten gewasbeschermingsmiddelen	
	Professioneel	Particulier	Professioneel	Particulier
Bromuconazool	-	-	-	-
Difenoconazool	-	-	6	-
Epoxiconazool	-	-	12	-
Propiconazool	12*	3*	2	-
Tebuconazool	4	-	13	3

*) Drie producten (Delta Imprägnierlasur 3.01 BPD, Tenco Houtconservering en Wocosen SF) zijn zowel voor professioneel als niet-professioneel gebruik toegelaten.

Binnen de biociden zijn alle producten, op één na toegelaten voor PT8 (houtverduurzaming). Eén product op basis van tebuconazool is toegelaten voor PT9 (conserveringsmiddelen voor vezels, leer, rubber en gepolymeriseerde materialen) voor het verduurzamen van tenttextiel. Op basis hiervan zou m.b.t. behandelde voorwerpen kunnen worden geconcludeerd dat deze naar verwachting vooral bestaan uit geïmporteerd reeds behandeld/geïmpregneerd hout en textiel. Propiconazool is in Europa als actieve stof ook toegelaten voor PT7 (filmbeschermingsmiddel in verven e.d.), maar toepassingen in Nederland zijn voor dit producttype niet aangevraagd. Het gebruik van deze stoffen in andere toepassingen kan niet worden uitgesloten. In de praktijk bleek het bijzonder lastig informatie te verkrijgen over het gebruik van triazolen in voorwerpen.

Overigens bevatten veel van de toegelaten biociden/gewasbeschermingsmiddelen een combinatie van verschillende actieve stoffen met verschillende werkingsmechanismen, en worden gewasbeschermingsmiddelen vaak toegepast volgens spuitschema's.

Voor biociden en gewasbeschermingsmiddelen is meer informatie (toelatingsnummers, expiratedata, gehalte actieve stof) met betrekking tot de toegelaten middelen beschikbaar in respectievelijk Appendix I en Appendix II.

Voor vijf willekeurige biociden (Visir Oljegrunding Klar, Acticide TCB, Induline SW-900, Wocosen 100 SL en Woodlife HL 50) en 5 gewasbeschermingsmiddelen (Folicur SC, Rosacur Spray, Opus EC, Bravo Premium en Difcor 250 EC) is de risicobeoordeling geraadpleegd met betrekking tot de aandacht die daarin besteed wordt aan (het voorkomen van) resistentie van het doelorganisme. Hierbij moet worden opgemerkt dat *A. fumigatus* voor zowel de biociden als de gewasbeschermingsmiddelen geen doelorganisme is, maar als "huis-, tuin-, en keuken-schimmel" overal voorkomt.

Bij de gewasbeschermingsmiddelen is in alle vijf de gevallen een paragraaf over resistentie van doelorganismen inclusief maatregelen ter voorkoming, opgenomen in de risicobeoordeling. Bij de vijf biocide producten wordt slecht in één geval resistentie genoemd in de risicobeoordeling en in geen enkel geval zijn maatregelen ter voorkoming opgenomen. Het CTGB geeft aan dat ondanks het ontbreken van een paragraaf over resistentie in de openbare stukken, het onderwerp wel degelijk wordt behandeld in het Product Authorisation Report (PAR) en tijdens Annex I plaatsing van de actieve stof. Hierbij zal voor gewasbeschermingsmiddelen meer noodzaak zijn voor eventuele anti-resistentie maatregelen, omdat deze met grotere frequentie worden gebruikt dan biociden als houtverduurzaamingsmiddelen.

Het CTGB heeft aangegeven niet te beschikken over gegevens betreffende de Nederlandse markt- of gebruiksvolumes van biociden en gewasbeschermingsmiddelen. Vanuit het RIVM is bekend dat het gecombineerde professionele gebruik van gewasbeschermingsmiddelen op basis van de vijf genoemde azolen (met uitzondering van bromuconazool) in de periode 2008-2010 gemiddeld 55000 kilo per jaar bedroeg (gegevens RIVM, 2013), terwijl volgens het CLM zelfs 130000 kilo wordt gebruikt (CLM, 2012). Van deze hoeveelheid werd bijna 40% toegepast bij de teelt van wintertarwe. Informatie over het gebruik van azolen in de houtverduurzaamingsindustrie werd verkregen van het Platform Biociden; in Nederland wordt ongeveer 5000 kilo werkzame stof (azolen) per jaar toegepast in de houtverduurzaming. Dit is een substantieel lagere hoeveelheid dan het gebruiksvolume voor gewasbeschermingsmiddelen.

3.1.1 Behandelde voorwerpen

Naast de toegelaten biocideproducten, kunnen er ook "behandelde voorwerpen" op de markt zijn, dit zijn "alle stoffen, mengsels of voorwerpen die met een of meer biociden zijn behandeld of waarin doelbewust een of meer biociden zijn verwerkt" (Biocidenverordening, 528/2012/EC). Omdat deze behandelde voorwerpen onder de Biocidenrichtlijn niet werden gereguleerd, is het moeilijk om een beeld te krijgen van behandelde voorwerpen met triazolen. De belangrijkste biocide toepassing van in Nederland toegelaten biociden op basis van azolen is houtverduurzaming. Het ligt dan ook in de lijn der verwachting dat deze azolen ook hun weg vinden naar Nederland in voorbehandeld hout.

Een andere genoemde toepassing van azolen is in behanglijm. Het betreffende triazool (1H-1,2,4-triazool,5-bromo-1-ethyl(9Cl), CAS 64907-55-7) verschilt qua structuur echter duidelijk van de triazolen die betrokken zijn bij resistentie(ontwikkeling). Deze stof is in Nederland niet toegelaten. Er zijn echter veel kits die een schimmelwerende claim hebben op de markt waarbij onduidelijk is welke actieve stof in de kit is gebruikt. Als behandelde voorwerpen werden deze kits onder de oude biocidenrichtlijn niet door het CTGB beoordeeld (CTGB, persoonlijke communicatie).

Triazolen worden mogelijk ook in kits (sealants) gebruikt. Deze toepassing wordt genoemd in een patent (Google patents, 2013). Er worden geen specifieke triazolen genoemd, voor de kit zelf is een triazool met een functionele zwavelgroep essentieel. Daarnaast is het niet duidelijk of deze stof in deze toepassing ook in Nederland op de markt is. Dit gaat tevens op voor een patent betreffende een schoonmaakmiddel voor koelsystemen en voor een was/schoonmaakmiddel.

Met het in werking treden van de biocidenverordening per 1 september 2013 verandert de regelgeving voor behandelde voorwerpen, en zullen zij enkel op de markt worden gebracht als de werkzame stof voor de productgroep en het beoogd gebruik is goedgekeurd in Europa. Ook worden dan eisen gesteld aan de etikettering van behandelde voorwerpen.

3.2 (Dier)geneesmiddelen

Om in kaart te brengen welke (dier)geneesmiddelen op basis van de eerdergenoemde triazolen in Nederland zijn toegelaten, zijn de informatiebanken van het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen geraadpleegd.

Er zijn geen (dier)geneesmiddelen op de Nederlandse markt toegelaten op basis van de vijf eerdergenoemde triazolen. Echter er zijn (dier)geneesmiddelen toegelaten op basis van voriconazol, posaconazol en itraconazol (zie overzicht in Tabel 3). Deze middelen zijn toegelaten voor particulier gebruik (met name bij huisdieren), maar kunnen enkel op recept verkregen worden. Doordat triazolen in het lichaam worden afgebroken, en er via deze weg dus weinig emissie naar het milieu zal zijn, lijkt de bijdrage van diergeneesmiddelen aan de verspreiding van resistentie nihil.

In de gezondheidszorg wordt jaarlijks ca. 400 kilo azolen gebruikt (CLM, 2012), over de omvang van het gebruik van diergeneesmiddelen zijn geen gegevens beschikbaar.

Tabel 3: In Nederland toegelaten (dier)geneesmiddelen op basis van triazolen (Bron: CGB, 2013).

Stof	Product	Aantal producten	Verkrijgbaar
<i>Geneesmiddelen – humaan</i>			
Voriconazol	Diverse capsules, suspensie, infusievloeistof en drank	26	Uitsluitend op recept
Itraconazol	Diverse capsules, dranken en infusievloeistof	16	Uitsluitend op recept
Posaconazol	Diverse suspensies voor oraal gebruik	2	Uitsluitend op recept

Stof	Product	Aantal producten	Verkrijgbaar
<i>Geneesmiddelen – dier</i>			
Voriconazol	-	-	-
Itraconazol	Orale oplossing	1	Uitsluitend op recept
Posaconazol	Oordruppels, suspensie	1	Uitsluitend op recept

3.3 Cosmetica

In een artikel in november 2009 (Enserink, 2009) waarin de problematiek van de schimmelresistentie wordt bediscussieerd, wordt door de auteur gesuggereerd dat azolen in cosmetica mogelijk hebben geleid tot de ontwikkeling van resistente *A. fumigatus*. Deze uitspraak is verder niet onderbouwd in het artikel.

In de Cosmetica Richtlijn (76/768/EEG) worden tebuconazool en epoxiconazool met name genoemd als stoffen die niet in cosmetische producten gebruikt mogen worden.

Met de zoekmachine Google is gezocht op “triazoles in cosmetics” waarbij de volgende stoffen voorkwamen in de zoekresultaten: drometrisole, fluoconazole en itraconazole. In de eerste EU update (2000) betreffende bestanddelen van cosmetica worden ook de volgende stoffen nog genoemd: benzotriazole, climbazole, clotrimazole en ketoconazole. Het is niet bekend of er op dit moment cosmetische producten met deze stoffen op de Europese markt zijn. Triazolen kunnen ook gebruikt worden in shampoo, bijvoorbeeld ter bestrijding van roos. Onder de voor deze toepassing genoemde triazolen (WHO, 2013) bevinden zich echter niet de triazolen die betrokken zijn bij resistentie(ontwikkeling).

Van fluoconazol is bekend dat *A. fumigatus* hiervoor intrinsiek resistent is (SCCNFP, 2003). Daarnaast geldt voor fluoconazol (evenals voor drometrisol en de azolen genoemd in de eerste EU update) dat deze stoffen bij onderzoek (Snelders, 2012) niet geïdentificeerd zijn als betrokken bij resistentievorming.

Het ontstaan van resistentie bij *A. fumigatus* in het lichaam van patiënten als gevolg van gebruik van cosmetica lijkt onwaarschijnlijk, gezien de langdurige orale en/of intraveneuze blootstelling aan geneesmiddelen en de afbraak van triazolen in het lichaam, in combinatie met de juiste omstandigheden voor seksuele voortplanting die noodzakelijk is voor ontwikkeling van resistentie. Het ligt niet voor de hand dat een dergelijke blootstelling door het gebruik van cosmetica bereikt kan worden, hoewel informatie over specifieke omstandigheden waaronder seksuele voortplanting kan plaatsvinden ontbreekt. Voor wat betreft blootstelling in het milieu van *A. fumigatus* aan triazolen afkomstig van cosmetica zijn onvoldoende gegevens over concentraties in producten, marktvolumes en emissies beschikbaar. Het SCCFNP oordeelde in 2003 dat er geen aanwijzingen zijn dat het gebruik van azolen als fungicide in cosmetica hebben bijgedragen aan het ontstaan van resistentie tegen azolen. Echter, in 2003 was nog weinig bekend over de resistentie-problematiek en de beoordeling zou moeten worden herzien in het licht van de huidige ontwikkelingen.

4 BLOOTSTELLING

Voor het ontstaan van resistentie bij schimmels is, naast activiteit tegen de schimmel, blootstelling aan effectieve concentraties vereist. Voor het in kaart brengen van mogelijke emissieroutes waarlangs schimmels (al dan niet via de mens) met azolen in aanraking kunnen komen, zijn de risicobeoordelingen van biocide producten en gewasbeschermingsmiddelen geraadpleegd.

4.1 Biociden

4.1.1 Gebruiksvoorschrift

Hout kan op verschillende manieren worden verduurzaamd: toepassen door middel van vacuüm-druk, dompelen, spuiten of strijken. Het te impregneren hout hoeft slechts eenmaal behandeld te worden. In de EU-beoordelingen van propiconazool (EU, 2007(a)) en tebuconazool (EU, 2007(b)) worden maximum concentraties van 0,2 and 0,1 kg/m³ genoemd. Hout dat in direct contact zal komen met grond en/of water mag niet worden behandeld met propiconazool of tebuconazool. Het hout mag wel boven de grond worden geplaatst, wanneer het niet direct aan weersinvloeden blootstaat en slechts sporadisch nat zal worden (Gevaarsklasse 2).

4.1.2 Blootstelling van de mens aan triazolen

In de risicobeoordeling voor humane toxiciteit van biociden wordt beoordeeld of de toepassingen van de biociden veilig zijn voor de mens die met deze biociden in aanraking komt. Deze informatie is daarom minder relevant voor het ontstaan van resistentie bij schimmels. Om een goed beeld te krijgen van de toepassingen van triazolen worden de benoemde blootstellingsroutes hieronder puntsgewijs samengevat:

Professionele gebruikers:

- Bij curatieve behandeling van hout (spuiten, schilderen en injecteren van product binnen of buitenshuis).
- Preventieve behandeling vindt veelal geautomatiseerd/gemachineerd plaats, blootstelling vindt vooral plaats tijdens voorbereidende (mixen, gieten, pompen), schoonmaak- en onderhouds- werkzaamheden.

Niet-professionele gebruikers / bevolking:

- Schuren van behandeld hout (door volwassenen);
- Het aanraken van nat hout na behandeling (door kinderen);
- Kauwen op snippers/schilfers van behandeld hout (door kinderen);
- Inhalatie van vervluchtigd residu;
- Reinigen van werkkleding;
- Spelen op een behandeld (verweerd) speeltoestel gevolgd door hand-mond contact (kinderen).

In het Competent Authority Report (CAR) voor propiconazool zijn deze scenario's als veilig beoordeeld voor wat betreft de menselijke gezondheid. Het mogelijke ontstaan van resistentie bij schimmels is hierbij niet meegenomen.

4.1.3 Blootstelling schimmels aan triazolen

In de milieurisicobeoordeling zijn de volgende scenario's opgenomen:

- Behandeld tentdoek;
- Behandeling en opslag van hout. Dient vanwege het milieugevaar van de stof overdekt en op een vloeistofdichte vloer te gebeuren.
- In-situ behandeling van hout:
 - Schilderen buitenshuis;
 - Spuiten buitenshuis.
- Hout tijdens "service life":
 - Huizen;
 - Hekken;
 - Geluidswallen;
 - Bruggen.
- Afvalstadium.

Behalve in situ behandeling van hout en het gebruik van verduurzaamd hout op bruggen, zijn de toepassingen veilig bevonden voor het milieu (water en bodem). Verspreiding (en dus blootstelling) via de lucht, wordt in de risicobeoordeling niet meegenomen, omdat zowel propiconazool als tebuconazool een beperkte vluchtigheid hebben en daardoor worden gezien als niet persistente verontreinigingen in de lucht.

Om inzicht te krijgen in de voorspelde concentratie in de bodem (PECsoil = Predicted Environmental Concentration) als gevolg van houtverduurzaming met triazolen is als voorbeeld tebuconazool genomen, op basis van beschikbare informatie in EU-beoordeling uit 2007 (Final Assessment Report). De gerapporteerde concentraties zijn echter berekend voor gebruik als gevaarsklasse 3 behandeld hout en als gevolg van de hoge voorspelde concentraties in de grond niet veilig bevonden. Op grond hiervan is gebruik van behandeld hout alleen toegestaan in gevaarsklasse 2 om uitspoeling te voorkomen (zie 4.1.1 Gebruiksvoorschrift). De Europese beoordeling bevat geen voorspelde concentraties voor deze gevaarsklasse, maar zal er van uit gaan dat deze onder de PNEC (Predicted No Effect Concentration) van 0,1 mg/kg grond zal liggen.

4.1.4 Mogelijke blootstelling aan resistente schimmel

Uit bovenstaande gegevens uit de risicobeoordeling voor mens en milieu blijkt dat er bij het gebruik of in de aanwezigheid van behandeld hout een risico zou kunnen zijn om in aanraking te komen met resistente schimmels. Over het algemeen lijkt verduurzaamd hout vooral te worden gebruikt in buitentoepassingen zoals in de tuin, als erfafscheiding, voor gevelafwerking, bergingen, speeltoestellen, in de spoorwegbouw en als afrastering in land- en tuinbouw (VHN, 2013) Het gebruik van de triazolen is wel beperkt tot situaties waarbij het hout is afgedekt (gevaarsklasse 2). Doordat de sporen van resistente schimmels zich door de lucht kunnen verplaatsen, zouden alle toepassingen bij kunnen dragen aan de verspreiding van resistentie, maar er kan geen specifieke toepassing worden aangewezen die een hoger risico zou vormen dan andere toepassingen.

4.2 Gewasbeschermingsmiddelen

4.2.1 Gebruiksvoorschrift

In gewasbeschermingsmiddelen worden epoxiconazool, difluniconazool, propiconazool en tebuconazool gebruikt in de teelt van zomer- en wintertarwe, zomer- en wintergerst, graszaad, bomen, vaste planten, pot- en perkplanten, spruitkool, prei, knolgewassen, bloembollen, pruimen, koolzaad, appel, peer, kers, kolen, en peen. Over het algemeen moet de behandeling 2 tot 3 maal herhaald worden, met een tussenperiode van 7-14 dagen. Concentraties tot 0,3 kg/ha worden gebruikt, voor tarwe zijn de concentraties iets lager (0,125 kg/ha). Om verspreiding in het milieu te voorkomen wordt het gebruik van drift-reducerende sproeikoppen voorgeschreven. Over het algemeen moet een wachtperiode in acht genomen voordat er kan worden geoogst. (EU, 2007(a), 2007(b)).

4.2.2 Blootstelling mens

In de risicobeoordeling voor humane toxiciteit van gewasbeschermingsmiddelen worden de volgende blootstellingsroutes benoemd:

Professionele gebruikers:

- Mixen en laden van het gewasbeschermingsmiddel;
- Toepassing van het gewasbeschermingsmiddel;
- Bijstaanders;
- Veldarbeiders (kort na behandeling gewas).

Niet-professionele gebruikers / bevolking:

- Residu (gekoelde opslag) op o.a. perziken, pruimen, druiven, appels, kersen, gerst en pinda's.

In het Competent Authority Report (CAR) voor tebuconazool zijn deze scenario's als veilig beoordeeld voor wat betreft de menselijke gezondheid (EU, 2007(b)). Het mogelijke ontstaan van resistentie bij schimmels is hierbij niet meegenomen.

4.2.3 Blootstelling schimmels aan triazolen

- Rechtstreeks via toepassing op de gewassen/grond.
- Residu (gekoelde opslag) op o.a. perziken, pruimen, druiven, appels, kersen, gerst en pinda's.

Om inzicht te krijgen in de voorspelde concentratie in de bodem (PECsoil = Predicted Environmental Concentration) als gevolg van gewasbeschermingsmiddelen met triazolen is als voorbeeld propiconazool genomen, op basis van beschikbare informatie in de CTGB-beoordeling van Tilt 250 EC uit 2008 (gebaseerd op EU-beoordeling). De PECsoil verschilt per gewas en is het laagst voor het gebruik in zomer- en wintertarwe (0,004-0,06 mg/kg grond). Het gebruik in vaste planten en bomen geeft de hoogste concentratie in de bodem (0,03-0,4 mg/kg grond).

4.2.4 Mogelijke blootstelling aan resistente schimmel

Invasieve aspergillose treedt uitsluitend op als gevolg van infectie via de luchtwegen. Blootstelling van mensen vindt plaats via de aanwezigheid van schimmelsporen in de lucht (Snelders, 2012). *A. fumigatus* komt algemeen voor in gewassen en op gewasresten, maar is zelf geen plant-pathogeen dat bestreden moet worden. Bestrijding van andere, plant-pathogene schimmels met triazolen kan leiden tot blootstelling van *A. fumigatus*. Resistente *A. fumigatus* kan zich hierdoor goed stand houden door positieve selectiedruk op gewasresten van behandelde percelen en zich van daar uit via sporen verspreiden door de lucht. Blootstelling aan resistente schimmels op geoogst fruit lijkt van minder belang, hoewel met triazolen behandeld fruit dat na aanschaf door de consument gaat schimmelen een lokale bron van blootstelling zou kunnen zijn.

4.3 Behandelde voorwerpen

De belangrijkste biocide toepassing van in Nederland toegelaten biociden op basis van azolen is houtverduurzaming. Het ligt dan ook in de lijn der verwachting dat deze azolen ook hun weg vinden naar Nederland in voorbehandeld hout. Om inzicht te krijgen in de import van voorbehandeld hout in Nederland is contact gezocht met certificeringsinstantie SKH. Het SKH kon slechts informatie verschaffen met betrekking tot hout met het KOMO-keurmerk, dat geïmporteerd wordt. Dit betreft hout uit Zweden, België, Duitsland, Polen en de Baltische staten, dat behandeld is met propiconazool of tebuconazool. Daarnaast zal op korte termijn ook hout behandeld met cyproconazool geïmporteerd gaan worden. (persoonlijke communicatie, SKH) Op dit moment zijn er geen biociden op basis van deze stof toegelaten in Nederland, in Verordening 1451/2007/EU is de stof opgenomen als gewasbeschermingsmiddel .

Het geïmporteerde (KOMO-)hout wordt met name als bouwhout of tuinhout gebruikt. In principe dient de producent van behandeld KOMO-hout aan te geven voor welke toepassingen het wel en niet gebruikt mag worden, maar het SKH kan niet uitsluiten dat behandeld hout gebruikt wordt voor toepassingen die niet toegelaten zijn. Het SKH merkte hierbij op dat hout dat behandeld is met koperhoudende middelen en azolen wel voor sommige toepassingen wordt gebruikt waarvoor toepassing van triazolen niet is toegelaten (bijvoorbeeld boven oppervlaktewater). Verder geeft het SKH aan dat zij geen zicht hebben op de toepassingen van geïmporteerd niet-KOMO hout. Dit hout wordt waarschijnlijk vooral als tuinhout gebruikt op de professionele markt (SKH heeft geen zicht op de particuliere markt).

De omvang van de import van hout in Nederland bedroeg 2.958.000 – 4.170.000 m³ per jaar in de periode 2006 – 2010 (VVNH, 2013). Het is niet bekend welk gedeelte van dit hout al behandeld is voor de import in Nederland.

4.4 Gemeten concentraties in oppervlaktewater

Het Informatiehuis Water heeft gegevens verstrekt over de gemeten concentraties bromuconazool (niet toegelaten als biocide/gewasbeschermingsmiddel), difenoconazool, epoxiconazool (beide toegelaten als gewasbeschermingsmiddel), propiconazool en tebuconazool (beide toegelaten als biocide en gewasbeschermingsmiddel) in Nederlandse oppervlaktewateren in de periode 2007 – 2011. Een beknopt overzicht van de meetresultaten wordt gegeven in Tabel 4.

Voor het overgrote deel van de metingen geldt dat de gemeten concentratie beneden de detectielimiet of rapportagegrens lag.

Tabel 4: Aantallen metingen en concentraties van bromuconazool, difenoconazool, epoxiconazool, propiconazool en tebuconazool in Nederlandse oppervlaktewateren in de periode 2007 – 2011 (Bron: Informatiehuis Water).

	Aantal metingen (2007-2011)	Gemeten concentraties
Bromuconazool	255	Alle metingen < 0.005 µg/L
Difenoconazool	3287	3094 metingen < 0.05 µg/L 193 metingen < 1 µg/L
Epoxiconazool	1562	1553 metingen < 0.1 µg/L 9 metingen < 0.4 µg/L
Propiconazool	3776	3755 metingen < 1 µg/L 21 metingen 1-2.2 µg/L (Boskoop, Zuid-Holland, 2007-2008)
Tebuconazool	4942	4930 metingen < 1 µg/L 12 metingen 2.4-14 µg/L (Twenterand, 2007; Zuid-Holland, 2010)

4.5 **Discussie blootstelling van *A. fumigatus* in het milieu aan azolen door biociden en gewasbeschermingsmiddelengebruik**

Vanwege de schadelijke effecten van triazolonen op het milieu, zijn er voor zowel biocidengebruik als gewasbeschermingsmiddelengebruik maatregelen voorgeschreven om emissie in het milieu te voorkomen. Het verduurzamingsproces mag niet in-situ plaatsvinden, en pas-verduurzaamd hout moet na de behandeling worden opgeslagen onder een afdak of op een ondoordringbare harde ondergrond om lekkage naar het milieu te voorkomen. Ook moet afval worden verzameld en worden hergebruikt of afgevoerd. Het gebruik van met triazolonen verduurzaamd hout is alleen toegestaan in gevaarsklasse 2, wat betekent dat behandeld hout niet in aanraking mag komen met grond of oppervlaktewater. Bovendien mag het verduurzaamd hout alleen worden gebruikt als er geen directe blootstelling aan weersinvloeden is waardoor het hout slechts sporadisch nat zal worden en de blootstelling naar het milieu wordt geminimaliseerd.

Gewasbeschermingsmiddelen worden gebruikt op landbouwpercelen en zullen daardoor in het milieu terecht komen. Verspreiding van triazolonen wordt tegengegaan door het gebruik van driftreducerende sproeikoppen, echter, dit kan niet voorkomen dat er op het landbouwperceel zelf triazolonen in de grond komen. Ook zouden azolen als residu op plantenresten kunnen achterblijven, en op deze manier in het milieu terecht komen. Hier is echter geen gedetailleerde informatie over.

Het lijkt er op dat de toepassing van gewasbeschermingsmiddelen leidt tot meer verlies van azolen naar het milieu dan het gebruik van verduurzaamd hout. Er zijn echter geen metingen van triazolonen concentraties nabij verduurzaamd hout of op landbouwgrond beschikbaar. Bovendien valt ook niet uit te sluiten dat met azolen verduurzaamd hout toch in de grond of oppervlaktewater wordt gebruikt.

5 CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN

Naar aanleiding van de laatste voortgangsrapportage van het Beleidsprogramma Biociden van het Ministerie van Infrastructuur en Milieu (I&M) werd onderzocht wat de rol is van biociden (op basis van triazolonen) bij de resistentievorming van schimmels tegen medisch gebruikte triazolonen.

Onderzoek naar resistente schimmels heeft aangetoond dat het moleculaire werkingsmechanisme van de voor medische toepassingen gebruikte triazolonen (itraconazol, posaconazol en voriconazol) vergelijkbaar is met het werkingsmechanisme van de in biociden en gewasbeschermingsmiddelen gebruikte actieve stoffen epoxiconazol, bromuconazol, difenozonazol, propiconazol en tebuconazol, m.b.t. de resistente stam TR₃₄/L98H. Hierbij moet worden opgemerkt dat alleen triazolonen die tussen 1970 en 2005 door het CTGB zijn toegelaten zijn onderzocht. Van deze triazolonen zijn propiconazol en tebuconazol toegelaten in Nederland in biocideproducten en gewasbeschermingsmiddelen, en epoxiconazol en difenoconazol zijn toegelaten in gewasbeschermingsmiddelen. Er zijn op dit moment geen biociden of gewasbeschermingsmiddelen op de Nederlandse markt die bromuconazol bevatten.

De bijdrage van het gebruik van triazolonen in diergeneesmiddelen aan het ontwikkelen van resistentie lijkt nihil, er zijn slechts twee formuleringen op de markt voor de behandeling van schimmelinfecties in huisdieren, en de emissie van triazolonen als gevolg van dit gebruik zal laag zijn vanwege de afbraak van triazolonen in het lichaam. Deze formuleringen zijn alleen op recept verkrijgbaar. De bijdrage van het gebruik van triazolonen in cosmetica is onduidelijk. In de Cosmetica Richtlijn (76/768/EEG) staat aangegeven dat het gebruik van tebuconazol en epoxiconazol niet is toegestaan in cosmetische producten. De omvang en aard van het gebruik van andere azolen in cosmetica blijft onduidelijk.

Op basis van de beschikbare gegevens kan niet worden geconcludeerd welke stof of toepassing verantwoordelijk is voor het ontstaan van de resistentie. Informatie over de volumes azolen die worden toegepast voor biociden en gewasbeschermingsmiddelen, in combinatie met mogelijke emissie naar het milieu als gevolg van de toepassing wijzen op een grotere emissie door gewasbeschermingsmiddelen. Er zijn echter geen metingen van triazolonen concentraties nabij verduurzaamd hout of op landbouwgrond beschikbaar. Bovendien valt ook niet uit te sluiten dat met azolen verduurzaamd hout toch in de grond of oppervlaktewater wordt gebruikt.

Het is op dit moment nog niet gelukt in het laboratorium resistentie in wildtype *A.fumigatus* te induceren door blootstelling aan de in biociden en gewasbeschermingsmiddelen gebruikte triazolonen. Wel heeft genetisch onderzoek aangetoond dat de mutatie TR₃₄/L98H waarschijnlijk eind jaren '90 ontstaan moet zijn; het eerste itraconazol resistente isolaat aangetroffen in een patiënt stamt uit 1998. Dit tijdstip volgt op de toelating voor gebruik als gewasbeschermingsmiddel en biocide van de vijf genoemde triazolonen in Nederland. Voor de twee recent gevonden mutaties (TR₅₃ (2006) en TR₄₆/Y121F/T289A (2009)) is nog onduidelijk of en welke azoofungiciden mogelijk betrokken zouden kunnen zijn bij het ontstaan van deze mutaties.

Het gebruik van azolen in bestrijdingsmiddelen zou bij kunnen dragen aan een constante selectiedruk, waardoor de resistente stammen voordeel hebben t.o.v. de niet-resistente stam. Er lijken echter geen zogenaamde fitness costs te zijn voor de resistente stam, en het is nog niet bekend welk effect het wegnemen van selectiedruk zal hebben op de resistente stammen (Mavridou et al., in press). Bovendien is niet bekend welke toepassing (biocide of gewasbeschermingsmiddel) de hoogste bijdrage levert aan de selectiedruk.

Deze gegevens, in combinatie met het toenemende percentage infecties met resistente schimmels, duiden erop dat het inmiddels te laat is om het ontstaan van resistentie en de verspreiding van deze stammen te voorkomen, wat betekent dat een aanpak van deze problematiek zich in eerste instantie zal moeten richten op het beheersen en reduceren van het aandeel resistente schimmels in de populatie. Hierbij dient niet uit het oog te worden verloren dat recentelijk ook nieuwe mutaties zijn gevonden, waardoor de bijdrage van biociden/gewasbeschermingsmiddelen aan het ontwikkelen van nieuwe resistente mutaties ook zal moeten worden onderzocht. Gedacht kan worden aan de volgende onderzoeksagenda:

1. Onderzoeken van het effect van azool selectiedruk op de dynamiek van resistente stammen (TR₃₄/L98H-mutatie) in een wildtype schimmel populatie. Dit onderzoek is erop gericht eventuele effecten van het reduceren van selectiedruk op de prevalentie van resistentie in kaart te brengen.
2. Onderzoeken van de omstandigheden die de selectie van resistentie mogelijk maken in *A. fumigatus* door veldonderzoek en onder laboratoriumomstandigheden. Hierbij zou de nadruk moeten liggen op de seksuele reproductie van *A. fumigatus*. Naar aanleiding van dit onderzoek kan kritisch gekeken worden naar het gebruiksvoorschrift van biocidenproducten en/of gewasbeschermingsmiddelen en eventueel kunnen worden aangepast om nieuwe mutaties te voorkomen.
3. Wanneer onderzoek 1 uitwijst dat reduceren van selectiedruk de prevalentie van resistente schimmels terug kan dringen, zal de bijdrage van het gebruik van biocidenproducten en gewasbeschermingsmiddelen aan selectiedruk in het milieu moeten worden onderzocht. Er zou dan een meetprogramma waarin concentraties triazolen en het voorkomen van resistente schimmels naast behandeld hout en behandelde percelen landbouwgrond worden gemeten, moeten worden opgezet. Naar aanleiding van het resultaat van dit onderzoek zouden gebruiksvoorschriften gericht kunnen worden aangepast om selectiedruk te verminderen.
4. Onderzoeken van de relatie tussen azoolfungiciden en de nieuw gevonden mutaties TR53 en TR46/Y121F/T289A in *A. fumigatus*, d.m.v. in vitro activiteit onderzoek, molecuul alignment en docking onderzoek met een model van het CYP51A eiwit. Dit onderzoek zou moeten aantonen of triazolen gebruikt in biociden en gewasbeschermingsmiddelen een aandeel zouden kunnen hebben in de ontwikkeling van deze nieuwe mutaties, en/of het in stand houden van deze mutaties door constante selectiedruk.
5. Het lijkt aannemelijk dat verlaging van de hoeveelheid azolen in het milieu ook afname van selectiedruk zal betekenen. In het algemeen zal een grotere diversiteit aan schimmel-bestrijdende middelen dit mogelijk maken. Het is daarom aan te bevelen op zoek te gaan naar alternatieve actieve stoffen voor de toepassing in gewasbeschermingsmiddelen, biociden en (dier)geneesmiddelen.

6. De verspreiding van *A.fumigatus* door middel van sporen die zich in de lucht verplaatsen, betekent dat het probleem een internationaal karakter heeft. Onderzoek heeft aangetoond dat de resistente stammen over heel Europa zijn verspreid, en recentelijk is de resistente stam ook in Azië en het Midden-Oosten waargenomen. Wanneer onderzoek uitwijst dat er maatregelen moeten worden genomen om b.v. selectiedruk van biocideproducten/gewasbeschermingsmiddelen te verminderen, zullen deze maatregelen op Europees niveau gedragen moeten worden.
7. Om in de toekomst meer rekening te houden met mogelijke ontwikkeling van resistentie van potentiële (humane) pathogenen bij het gebruik van biociden en gewasbeschermingsmiddelen, zou de toelatingsprocedure kunnen worden verbreed door het aspect van resistentieontwikkeling tegen medicijnen met vergelijkbare werkingsmechanismen mee te nemen in de beoordeling van een middel of stof. Ook dit aspect zou op Europees niveau moeten worden geïmplementeerd.

6 REFERENTIES

Centrum voor Landbouw en Milieu (CLM), 2012. Resistente schimmels zijn tijdbom. Nieuwe Oogst, maart 2012.

College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, 2013. Diergeneesmiddeleninformatiebank (<http://www.cbg-meb.nl/CBG/nl/humane-geneesmiddelen/geneesmiddeleninformatiebank/default.htm>), geraadpleegd op 4 februari 2013.

College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, 2013. Geneesmiddeleninformatiebank voor mensen (<http://www.cbg-meb.nl/CBG/nl/diergeneesmiddelen/diergeneesmiddeleninformatiebank/default.htm>), geraadpleegd op 4 februari 2013.

College voor de toelating van Gewasbeschermingsmiddelen en Biociden, 2013. Bestrijdingsmiddelendatabank (<http://www.ctgb.nl>), geraadpleegd op 8 juli 2013.

Enserink M, 2009. Farm Fungicides Linked to Resistance in a Human Pathogen. Science 326 no. 5957 p. 1173.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2013. Risk assessment on the impact of environmental usage of triazoles on the development and spread of resistance to medical triazoles in *Aspergillus* species.

European Union, 2000. 1st Update EU Inventory.

European Union, 2007(a). Assessment Report Propiconazole Product-type 8 (Wood preservatives).

European Union, 2007(b). Assessment Report Tebuconazole Product-type 8 (Wood preservatives).

<http://www.google.com/patents/US20130065985> (Coating/sealant systems, aqueous resinous dispersions, methods for making aqueous resinous dispersions, and methods of electrocoating), geraadpleegd op 19 april 2013.

<http://www.google.com/patents/US6737390> (Multiphase laundry detergent and cleaning product shaped bodies having noncompressed parts), geraadpleegd op 19-04-2013.

<http://www.google.com/patents/US8216383> (Methods and composition for cleaning a heat transfer system having an aluminum component), geraadpleegd op 19-04-2013.

http://www.ourchemical.com/catalogs_64/64907-55-7.html, geraadpleegd op 19 april 2013.

Koninklijke Vereniging Van Nederlandse Houtondernemingen, 2013. http://www.vvnh.nl/import_en_exportcijfers, geraadpleegd op 18 februari 2013.

Mavridou E, Meletiadis J, Jancura P, Abbas S, Cavling Arendrup M, Melchers WJG, Heskes T, Mouton JW, Verweij PE (in press). Composite survival index to compare cirulence changes in aoleresistant *Aspergillus fumigatus* clinical isolates. PLOS ONE.

nVWA, 2010. Advies over resistentie van *Aspergillus fumigatus* tegen azool fungiciden. nVWA advies nVWA/BuRO/2010/22718.

RIVM, 2011. Biociden en resistentie. RIVM rapport 601712009/2011.

RIVM, 2013. Bron gebruikshoeveelheden PPP'S 2008-2010.

Scientific Committee on Cosmetic products and Non-Food Products Intended for Consumers, 2003. Opinion concerning azole antimycotic resistance.

Snelders E, Karawajczyk A, Schaftenaar G, Verweij PE, Melchers WJG, 2010. Azole resistance profile of amino acid changes in *Aspergillus fumigatus* CYP51A based on protein homology modeling. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54: 2425-30.

Snelders E, Huis in 't Veld RAG, Rijs AJMM, Kema GHJ, Melchers EJJ, Verweij PE, 2009. Possible environmental origin of resistance of *Aspergillus fumigatus* to medical triazoles. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 4053-4057.

Snelders E, Camps SMT, Karawajczyk A, Schaftenaar G, Kema GHJ, Van der Lee, HA, Klaassee CH, Melchers WJG, Verweij PE, 2012. Triazole fungicide scan induce cross-resistance to medical triazoles in *Aspergillus fumigatus*. *PLoS One* 7;3:e31801.

Snelders E, 2012. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: collateral damage of fungicide use.

http://en.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_fumigatus, geraadpleegd op 5 maart 2013.

<http://www.vhn.org/>, geraadpleegd op 26 april 2013.

http://www.vvn.nl/import_en_exportcijfers, geraadpleegd op 26 april 2013.

http://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=D01AC&showdescription=yes, geraadpleegd op 19 april 2013.

Appendix 1
Overzichtstabel toegelaten biociden op basis van
triazolen

Naam middel	Toelating s-nummer	Expiratie datum	Werkzame stof(fen)
Aidol Pro 100 SL	11940	09-09-9999	propiconazool
Delta Imprägnierlasur 3.01 BPD	13999	31-03-2020	3-jood-2-propynylbutylcarbamaat propiconazool
Embadecon	13825	31-03-2020	3-jood-2-propynylbutylcarbamaat propiconazool
Embadecon W	13846	31-03-2020	3-jood-2-propynylbutylcarbamaat propiconazool
Embalit P	11575	31-03-2020	propiconazool
Induline SW-900	13793	30-06-2020	3-jood-2-propynylbutylcarbamaat propiconazool
SCOMRID 100 SL	14135	31-03-2020	propiconazool
Tenco Houtconservering	14118	31-03-2020	propiconazool 3-jood-2-propynylbutylcarbamaat
WOCOSEN 100 SL	13476	31-03-2020	propiconazool
Wocosen SF	13945	31-03-2020	propiconazool 3-jood-2-propynylbutylcarbamaat
Wolsit KD 10	11727	01-08-2013	propiconazool
Woodlife HL 50	12107	01-08-2013	propiconazool
<hr/>			
ACTICIDE TCB (tenten, PT 9)	12906	01-04-2017	tebuconazool carbendazim
End-Seal+ (hout PT8)	11775	31-01-2016	boorzuur tebuconazool koper(II)carbonaathydroxide
Tanalith E 3500 (hout PT8)	11323	31-01-2016	tebuconazool koper(II)carbonaathydroxide
Visir Oljegrunding Pigmentert (hout PT8)	13763	31-03-2020	tebuconazool
<hr/>			

Appendix 2
Overzichtstabel toegelaten
gewasbeschermingsmiddelen op basis van triazolen

Naam middel	Toelatings- nummer	Expiratie datum	Werkzame stof(fen)
Bravo Premium	13549	31-05-2014	propiconazool chloorthalonil
Tilt 250 EC	8627	01-06-2018	propiconazool
Fezan Plus	13859	15-09-2014	tebuconazool chloorthalonil
Folicur	11765	09-09-9999	tebuconazool
FOLICUR SC	13057	01-05-2018	tebuconazool
Matador	12015	09-09-9999	tebuconazool triadimenol
NATIVO	13211	01-07-2019	trifloxystrobin tebuconazool
Phantom	13562	01-04-2019	folpet tebuconazool
Pokon Schimmel Stop	12768	01-04-2015	tebuconazool
PROSARO	12843	28-02-2014	prothioconazool tebuconazool
Redigo Pro	13548	31-07-2019	prothioconazool tebuconazool
Rosacur	12728	01-09-2015	tebuconazool
Rosacur Pro	12931	09-09-9999	tebuconazool
ROSACUR SPRAY	12693	01-04-2015	tebuconazool
Skyway Xpro	13513	01-11-2014	prothioconazool tebuconazool bixafen
Spirit	13168	01-04-2019	folpet tebuconazool
Tarcza 250 EW	13959	31-08-2020	tebuconazool
Twist Plus Spray	13417	01-04-2021	trifloxystrobin tebuconazool
Adexar	13978	01-03-	epoxiconazool

		2022	fluxapyroxad
Allegro	11826	01-09-2013	kresoxim-methyl epoxiconazool
Allegro Plus	12747	01-09-2013	kresoxim-methyl epoxiconazool fenpropimorf
Comet Duo	12921	31-05-2014	pyraclostrobine epoxiconazool
Opera	12509	31-05-2014	pyraclostrobine epoxiconazool
Opus	11408	01-04-2023	epoxiconazool
Opus EC	13823	13-01-2014	epoxiconazool
Opus Team	11407	31-12-2013	epoxiconazool fenpropimorf
Osiris	13908	31-12-2019	epoxiconazool metconazool
Retengo Plus	13947	09-09-9999	epoxiconazool pyraclostrobine
Venture	12781	01-05-2023	boscalid epoxiconazool
Venture N	13822	01-02-2014	boscalid epoxiconazool
Amistar Top	13197	01-07-2019	azoxystrobin difenoconazool
DIFCOR 250 EC	13740	31-12-2018	difenoconazool
Score 10 WG	12497	31-12-2013	difenoconazool
Score 250 EC	11453	09-09-9999	difenoconazool
Score 250 EC	13229	31-12-2013	difenoconazool
Spyrale	12975	01-01-2018	fenpropidin difenoconazool