

## Triclosan nur im ärztlichen Bereich anwenden, um Resistenzbildungen vorzubeugen

Stellungnahme Nr. 030/2006 des BfR vom 08. Mai 2006

Biozide machen Schadorganismen auf chemischem oder biologischem Wege unschädlich. Ursprünglich wurden sie zur Schädlingsbekämpfung, als Schutzmittel für Holz oder Mauerwerk sowie zu Desinfektionszwecken eingesetzt. Die Industrie verwendet Biozide seit einiger Zeit aber auch in Produkten des täglichen Bedarfs. Triclosan ist dafür ein Beispiel. Es wird neben dem sachgerechten Einsatz in Krankenhäusern und Zahnarztpraxen auch in Haushaltsreinigern, Zahnpasten, Deodorants, Seifen, Textilien und anderen Bedarfsgegenständen angewendet. Diese breite Verwendung könnte die Resistenzbildung von Bakterien fördern, wodurch wichtige Desinfektionsmittel in Krankenhäusern und Arztpraxen sowie Behandlungstherapien für Mensch und Tier wirkungslos werden könnten. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat daher die Gefahr einer Triclosanresistenz bakterieller Mikroorganismen insbesondere auch hinsichtlich einer möglichen Antibiotikaresistenz bewertet.

Biozide wirken in Abhängigkeit von ihrer Konzentration, weshalb die richtige Dosierung und sachgerechte Anwendung entscheidend ist. Triclosan wird zur Desinfektion im ärztlichen Bereich so dosiert, dass es Bakterien abtötet. Dagegen kann es speziell in den sachfremden Bereichen nur in niedrigen Konzentrationen zum Einsatz kommen. Dies führt zu einer vermehrten Selektion resistenter Erreger, die aufgrund der niedrigen Dosierung nicht abgetötet werden. Verschiedene in-vitro-Untersuchungen belegen, dass Bakterien wie *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* über Mechanismen verfügen, Resistenzen gegenüber Triclosan zu entwickeln. Das BfR hat bei seiner Risikobewertung auch epidemiologische Untersuchungen berücksichtigt, die das tatsächliche Auftreten resistenter Erreger in der Umwelt untersuchen. Bei diesen Studien lässt sich zwar kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Triclosan und der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika nachweisen. Jedoch zeigt sich ein Trend hin zur Resistenzzunahme gegenüber Antibiotika wie Chinolonen, Fluorchinolonen oder Tetracyclinen.

Die wissenschaftlichen Zusammenhänge im Hinblick auf die Antibiotikaresistenz können bisher nicht abschließend aufgeklärt werden. Daher sollte das Vorsorgeprinzip greifen, insbesondere in den Bereichen, in denen durch Triclosan kein Hygienevorteil beziehungsweise der gleiche Effekt durch schonende Maßnahmen wie herkömmliche Reinigung erreicht werden kann. Das BfR empfiehlt, den Einsatz von Triclosan auf das unbedingt notwendige Maß im ärztlichen Bereich zu beschränken.

### 1 Anlass

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) wurde um eine Stellungnahme zur Gefahr der Resistenzentwicklung durch den zunehmend breiten Einsatz von Triclosan außerhalb des ärztlichen Bereiches gebeten. Bei Triclosan handelt es sich um ein Biozid, das einen breiten Anwendungsbereich aufweist: Es wird heutzutage in Kleidung, Kunststoffen, Reinigern, Desinfektionsmitteln, kosmetischen Mitteln, Zahnpasten, Mundspüllösungen sowie apothekenpflichtigen Rezepturen verwendet. Die Zahl der Triclosan-haltigen Produkte hat sich in den vergangenen Jahren sprunghaft erhöht und zu einer Zunahme des Selektionsdrucks auf bakterielle Populationen geführt. Im Bereich der klassischen antimikrobiell wirksamen Substanzen führt dies zu einer vermehrten Selektion resistenter Erreger, was die Therapie von Mensch und Tier verhindern kann. Aus diesem Grund hatte sich die Europäische Kommission an den wissenschaftlichen Lenkungsausschuss der Europäischen Kommission (Scientific

Steering Committee, SSC) mit der Bitte um Äußerung zur Problematik einer durch Triclosan hervorgerufenen Resistenzentwicklung bei bakteriellen Mikroorganismen gewandt.

Im Juni 2002 kam der Lenkungsausschuss zu dem Schluss, dass Triclosan ein nützliches und effektives Biozid ist, das für viele Jahre im Bereich der Medizin, Kosmetik sowie der Zahnpflege und in Haushaltsprodukten eingesetzt wurde, und auch für die klinische Anwendung immer wichtiger wird (Scientific Steering Committee 2002). Bei hohen Anwendungskonzentrationen, so das SSC, sei Triclosan sehr effektiv, und es sei unwahrscheinlich, dass größere Probleme im Bezug auf die antimikrobielle Resistenz entstehen. Allerdings bestehe diese Möglichkeit für den Einsatz bei niedrigen, subbioziden und bakteriostatistischen Konzentrationen. Im Jahre 2002 bewertete das SSC die vorliegende Literatur zur Resistenzentwicklung von Triclosan als widersprüchlich. Es betonte, dass es in der bis 2002 verfügbaren Literatur keinen epidemiologischen Beweis für Probleme in der klinischen Praxis gäbe. Das BfR folgt dieser Einschätzung nach damaliger wissenschaftlicher Datenlage. Bei seiner aktuellen Risikobewertung stützt sich das BfR deshalb hauptsächlich auf die neuere, seit 2002 erschienene Literatur zu dieser Thematik.

## 2 Mechanismen der Triclosanresistenz

Für eine Risikobewertung im Hinblick auf eine Triclosanresistenz ist es wichtig, die Grundlagen der Antibiotikaresistenz zu betrachten. Antibiotikaresistenzen können im Wesentlichen durch drei Mechanismen, die für die Bewertung von Triclosan wichtig sind, hervorgerufen werden:

### 2.1 Modifikation des Angriffsortes der Substanz

Anders als Antibiotika können biozide Agenzien in Abhängigkeit von ihrer Konzentration unterschiedlich wirken. Bei geringen Konzentrationen können einzelne Angriffsorte (Targets) innerhalb der Bakterienzellen inaktiviert werden. In den kodierenden Genen kann es zu Punktmutationen kommen, die eine erhebliche Toleranz gegenüber dem Biozid hervorrufen. Bei höheren Konzentrationen jedoch, die normalerweise in den genannten Produkten angewandt werden und die im Bereich von 600-20.000 µg/ml liegen, werden multiple Angriffsorte betroffen. Diese können zu einer Serie kumulativer Zellstörungen führen, die einen sehr schnellen Zelltod zur Folge haben. Hierbei ist es nicht möglich, alle Zielstrukturen durch Mutation gleichzeitig zu verändern.

Bei *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* ist der Angriffsort von Triclosan das Genprodukt des *envM* bzw. *fabI* Gens, das für eine Enoyl-Acyl-Reduktase codiert (MacMurry et al. 1998). Diese ist für den Fettsäurestoffwechsel wichtig. Eine Mutation dieses Gens resultiert lediglich in einer Resistenz gegen Isoniazid in *Mycobacterium tuberculosis* (Parikh et al. 2000) und weist keine weiteren Kreuzresistenzen zu antimikrobiell wirksamen Substanzen auf, die therapeutisch bedeutsam sind.

### 2.2 Inaktivierende Enzyme

Der Mechanismus einer spezifischen Inaktivierung von Triclosan durch ein Enzym ist bisher in der Literatur nicht beschrieben worden.

### 2.3 Ausbildung einer multiplen antimikrobiellen Resistenz (mar) durch Effluxpumpen

Für Triclosan steht besonders dieser Punkt im Vordergrund der Risikobetrachtung.

Unter Effluxpumpen versteht man Membran-assoziierte Strukturen, die über die Zellmembran aktiv toxische Substanzen aus dem Zellinneren in das Zelläußere transportieren. Dabei handelt es sich um einen energieverbrauchenden Prozess, der durch ATP-Hydrolyse ermöglicht wird. Effluxpumpen können durch Signale aus der Umwelt oder Mutationen in Regulatorgenen aktiviert werden. Durch Effluxpumpen können eine Vielzahl toxischer Substanzen aus der Zelle exportiert werden. Dabei handelt es sich zum Teil um Stoffwechselprodukte, Toxine, antimikrobiell wirksame Substanzen, Antibiotika und andere biozide Substanzen. Effluxpumpen sind in grampositiven Bakterien normalerweise auf Plasmiden und in gramnegativen Bakterien chromosomal lokalisiert. Der in *E. coli* vorkommende „Multi Antibiotika Resistenz (mar) Locus“ und die mar-Regulationseinheit sind dabei am besten untersucht. Daneben sind in gramnegativen Bakterien besonders die MexAB, MexCD, und MexEF-Systeme von *P. aeruginosa* und das AcrAB-System von *E. coli* von Bedeutung. Sie gehören zu der Gruppe der „Resistance Nodulation Cell Division“ (RND) Familie von Effluxpumpen und ermöglichen den Transport einer großen Zahl von Bioziden (inklusive Triclosan, Chlorhexidin u.a.), Antibiotika und toxischen Substanzen durch die Zellwand (Webber M.A./Piddock, L.J. 2003). Speziell das MexAB-Effluxsystem ist für die sehr hohe Resistenz gegenüber Triclosan (1000 µg/ml), die in *P. aeruginosa* beobachtet wird, verantwortlich.

In ihren in-vitro-Studien zeigten Chuanchuen et al. 2001, dass die Überexpression des MexCD-OprJ Effluxsystems durch Mutation des Regulatorgens *nfxB* die minimale Hemmkonzentration (MHK) gegenüber einer Vielzahl von Substanzen 500fach und dabei auch die MHK gegenüber Ciprofloxacin 94fach erhöhte.

Der beobachtete Zusammenhang zwischen einer Cyclohexanresistenz und der Fluorchinolonresistenz wurde in einer Studie von Liebana et al. 2002 weiter vertieft. Dabei wurden im Gegensatz zu der Studie von Chuanchuen Wildtyp Isolate und keine laborinduzierten Mutanten untersucht. In diesem Fall handelte es sich um 100 Isolate von *Salmonella enterica*, die von Nutztieren stammten. Die Untersuchungen zeigten, dass in 79 % der Fälle, bei denen eine GyrA-Mutation und Cyclohexanresistenz nachweisbar war, auch eine erhöhte Ciprofloxacinresistenz von  $\geq 2,0$  µg/ml vorlag. Die Autoren folgerten, dass Mutationen in der GyrA-QRDR (Quinolone Resistance Determining Region, d.h. der Teil des Proteins, in dem Mutationen zur Fluorchinolonresistenz hauptsächlich stattfinden) zu einer niedrigeren Resistenz mit MHK-Werten  $\leq 1$  µg/ml führen, während GyrA-Mutationen, die mit einer Cyclohexanresistenz assoziiert sind, höhere MHK-Werte im Bereich von  $\geq 2$  µg/ml aufweisen.

Eine weitere in-vitro-Studie führten Randall et al. 2004 an *Salmonella enterica* durch. Auch sie konnten zeigen, dass sich die durchschnittliche Mutationshäufigkeit der Antibiotika- oder Cyclohexanresistenz um den Faktor 10-100 erhöhte, wenn die Stämme vorher mit Triclosan behandelt wurden. In ihrer im Jahr 2005 veröffentlichten Studie untersuchen Randall et al. die Reaktion von *E. coli*-Isolaten auf die Exposition gegenüber verschiedenen Desinfektionsmitteln im Hinblick auf ihre Fluorchinolonresistenz. Außerdem wurde das Vorkommen der Cyclohexantoleranz bei 389 aus Farmen isolierten *E. coli*-Stämmen untersucht. Die in-vitro-Untersuchung dieser Studie zeigte, dass es unter künstlichen Farmbedingungen möglich ist, *E. coli*-Isolate, die den mar-Multiresistenz-Phänotyp aufweisen, zu selektieren. Allerdings konnte von den 389 Wildtyp-Isolaten nur ein einziges isoliert werden, das Cyclohexantolerant war.

Zusammenfassend kann aus diesen in-vitro-Studien geschlossen werden, dass es bei Mikroorganismen ein großes evolutionäres Potenzial gibt, mit Hilfe von Effluxpumpen und anderen Mechanismen eine entsprechende Resistenz gegenüber Bioziden und damit auch Triclosan zu exprimieren. Wichtig ist allerdings, dass auch Untersuchungen durchgeführt werden, die neben dieser theoretischen Möglichkeit das reale Auftreten resistenter Erreger

und ihre Beziehung zu Resistenzen, die für die veterinäre und humane Therapie von Bedeutung sind, belegen.

### 3 Epidemiologie der Triclosanresistenz

Es wurden verschiedene epidemiologische Untersuchungen durchgeführt, die der Frage nachgehen, ob Triclosan und multiresistente Erreger in der Umwelt bereits vorhanden sind und wie sich der Gebrauch von Triclosan auf die Resistenzlage auswirkt.

Den Einfluss Triclosan-haltiger Zahnpasta auf die Resistenzlage der normalen oralen Mikroflora untersuchten Walker et al. bereits im Jahr 1994 und Sullivan et al. erneut im Jahr 2003. Während die Studie von Walker et al. 144 Teilnehmer aufwies und den Gebrauch der Zahnpasta über sechs Monate beobachtete, waren an der Studie von Sullivan et al. lediglich neun Teilnehmer beteiligt, die Triclosan-haltige Zahnpasta für zwei Wochen einsetzten. Beide Studien konnten keinen Einfluss von Triclosan auf die Resistenz der normalen oralen Mikroflora und speziell auf Streptokokken nachweisen.

Wesentlich aufwendiger angelegt war die in den Jahren 2004 und 2005 veröffentlichte Studie von Aiello et al.. Die Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen Triclosananwendung und der Empfindlichkeit von Bakterien, die von den Händen der Studienteilnehmer in 224 Haushalten isoliert wurden. Die Teilnehmer benutzten über ein Jahr antibakterielle Haushaltsreiniger und Hygieneprodukte und wurden mit Benutzern von nicht-antibakteriellen Haushaltsreinigern und Hygieneprodukten verglichen. Auch diese Studie konnte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Einsatz Triclosan-haltiger Seife und den MHK-Werten verschiedener Mikroorganismen nachweisen, obwohl zehn Bakterienspezies untersucht wurden und die Studie mit Sicherheit zu einer der aufwendigsten und größten gehörte, die zur Aufklärung der Triclosan-MHK-Werte und damit zusammenhängender Antibiotika-Empfindlichkeiten im Haushaltsbereich durchgeführt wurde. Obwohl sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Triclosan, MHK-Werten und der Empfindlichkeit gegenüber anderen Antibiotika nachweisen ließ, wurde ein Trend zur Resistenzzunahme beim Vergleich der Anfangswerte der Studie mit den Endwerten ermittelt. Außerdem wurde festgestellt, dass die Triclosan-MHK-Werte der im Januar 2003 durchgeführten Studie generell höher lagen als die in früheren Studien beschriebenen.

### 4 Risikobewertung

Auf Grund der genannten Ergebnisse und Sachverhalte kommt das BfR zu folgender Risikoeinschätzung:

Der Einsatz von Triclosan zur Desinfektion in Krankenhäusern und Zahnarztpraxen ist eine sachgerechte Anwendung. Die neuerdings zu beobachtende Ausweitung des Einsatzes dieser Substanz in der Bekleidungs- und Kosmetikindustrie, im Bereich von Bedarfsgegenständen und vielen anderen Feldern führt zu einem wesentlich höheren Selektionsdruck auf die verschiedensten Bakterienpopulationen. Dies gilt vor allem für die Bereiche, in denen Unterdosierungen unvermeidbar sind. Untersuchungen zeigten, dass sowohl grampositive als auch gramnegative Bakterien über Mechanismen verfügen, niedrige bis hohe Resistenzen gegenüber Triclosan zu entwickeln. Dazu gehören im Besonderen Effluxpumpen, die auch Resistenzen gegenüber Therapieantibiotika, speziell Chinolonen, hervorrufen.

Andererseits bleibt festzustellen, dass die oben zitierte Literatur und weitere Untersuchungen bis jetzt in vivo keinen klaren Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Triclosan und dem vermehrten Auftreten von Effluxpumpen und der damit verbundenen Kreuzresistenz zu an-

deren Therapieantibiotika belegen. Für den Bereich der Chinolone und Tetracycline ist ein solcher Zusammenhang allerdings wahrscheinlich und anzunehmen. Speziell die Fluorchinolone gehören zu den von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als für die Humantherapie besonders wichtig eingestuften antimikrobiell wirksamen Substanzen (WHO 2003). Bereits 2003 wiesen die Welternährungsorganisation (FAO), die Weltorganisation für Tiergesundheit (OIE) und die WHO auf einer gemeinsam durchgeführten Expertentagung darauf hin, dass bis zur kompletten Aufklärung der wissenschaftlichen Zusammenhänge im Bereich der Antibiotikaresistenz das Vorsorgeprinzip des Verbraucherschutzes eingehalten werden sollte. Auch die „Global Principles“ der WHO (WHO 1999) empfehlen, speziell dem Missbrauch antimikrobiell wirksamer Substanzen im öffentlichen Bereich entgegen zu wirken.

Das BfR ist daher der Meinung, dass Zulassung und Einsatz von Triclosan und verwandten Desinfektionsmitteln restriktiv und mit der notwendigen Sorgfaltspflicht gegenüber den Verbrauchern gehandhabt werden sollten. Dies gilt besonders für die Fälle, in denen der Einsatz von Triclosan und anderen Bioziden keinen Hygienevorteil bringt oder ein solcher durch andere Maßnahmen schonender zu erreichen ist. Der Einsatz von Triclosan sollte auf das unbedingt notwendige Maß im ärztlichen Bereich beschränkt werden.

## 5 Referenzen

Aiello, A. E., Marshall, B., Levy, S. B., Della-Latta, P., and Larson, E. (2004). Relationship between triclosan and susceptibilities of bacteria isolated from hands in the community. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 2973-2979.

Aiello, A. E., Marshall, B., Levy, S. B., Della-Latta, P., Lin, S. X., and Larson, E. (2005). Antibacterial cleaning products and drug resistance. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1565-1570.

Chuanchien, R., Beinlich, K., Hoang, T. T., Becher, A., Karkhoff-Schweizer, R. R., and Schweizer, H. P. (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-Opr. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 428-432.

Liebana, E., Clouting, C., Cassar, C. A., Randall, L. P., Walker, R. A., Threlfall, E. J., Clifton-Hadley, F. A., Ridley, A. M., and Davies, R. H. (2002). Comparison of *gyrA* mutations, cyclohexane resistance, and the presence of class I integrons in *Salmonella enterica* from farm animals in England and Wales. *J. Clin. Microbiol.* 40, 1481-1486.

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

Parikh, S. L., Xiao, G., and Tonge, P. J. (2000). Inhibition of *InhA*, the enoyl reductase from *Mycobacterium tuberculosis* by triclosan and isoniazid. *Biochem* 39, 7645-7650.

Randall, L. P., Cooles, S. W., Piddock, L. J., and Woodward, M. J. (2004). Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic-resistant *Salmonella enterica*. *J. Antimicrob. Chemother.* 54, 621-627.

Randall, L. P., Clouting, C. S., Gradel, K. O., Clifton-Hadley, F. A., Davies, R. D., and Woodward, M. J. (2005). Farm disinfectants select for cyclohexane resistance, a marker of multiple antibiotic resistance, in *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* 98, 556-563.

Scientific Steering Committee (2002) Opinion on Triclosan Resistance European Commission, [http://europa.eu.int/comm/health/ph\\_risk/committees/sccp/documents/out182\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out182_en.pdf)

Sullivan, A., Wretling, B., and Nord, C. E. (2003). Will triclosan in toothpaste select for resistant oral streptococci? *Clin. Microbiol. Infect.* 9, 306-309.

Walker, C., Borden, L. C., Zambon, J. J., Bonta, C. Y., DeVizio, W., and Volpe, A. R. (1994). The effects of a 0.3% triclosan-containing dentifrice on the microbial composition of supra-gingival plaque. *J. Clin. Periodontol.* 21, 334-341.

Webber, M. A. and Piddock, L. J. (2003). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 51, 9-11.

WHO (2000). WHO Global Principles for the Containment of Antimicrobial Resistance in Animals Intended for Food: Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO//CDS/CSR/APH/2000.4

WHO (2003). Joint FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific Assessment. Geneva <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/nov2003/en/>

WHO (2005). Critically Important Antimicrobial Agents For Human Medicine For Risk Management Strategies Of Non-Human Use. Canberra [http://www.who.int/foodborne\\_disease/resistance/amr\\_feb2005.pdf](http://www.who.int/foodborne_disease/resistance/amr_feb2005.pdf)