

Biocidanvändning och antibiotikaresistens

av John Bylund och Jakob Ottoson

Innehåll

Förord.....	2
Förkortningar	3
Sammanfattning	4
Inledning	4
Bakgrund och övergripande frågeställning	5
Specifika frågeställningar och avgränsningar	5
Metod	5
Kunskapssammanställning.....	7
Vad är Biocider	7
Användningen av biocider i livsmedelsproduktion.....	7
Resistens mot antibiotika	10
Resistens emot biocider.....	10
Tidigare riskvärderingar över biocid- och antibiotikaresistens.....	11
Hur kan biocidresistens utvecklas?	12
Kopplingar mellan biocidresistens och antibiotikaresistens	14
Genetiska mekanismer för resistensspridning.....	14
Biocid- och antibiotikaresistensgener inom livsmedelstillverkning	16
Biocid- och antibiotikaresistens inom livsmedelsindustrin	18
Slutsatser	20
Referenser	22

Förord

Biocider är benämningen på en heterogen grupp ämnen som dödar levande organismer. Biocider kan å ena sidan användas för att minska bakterietrycket och därigenom leda till mindre sjukdom, med minskad användning av antibiotika som följd. Å andra sidan riskerar mottagarorganismerna att utveckla resistens, mot biociden, och korsresistens, mot diverse antibiotika. Det finns därför ett behov av att se hur användningen av biocider ser ut inom livsmedelsproduktionen och om denna användning i förlängningen kan resultera i en ökad bakteriell resistens mot antibiotika. Denna rapport baserar sig på ett underlag som skrevs av John Bylund till Rådgivningsenheten som önskade svar på ett antal frågor kring riskerna med biocidanvändning inom livsmedelsindustrin. Eftersom svaren på dessa frågor är av intresse för en bredare allmänhet valde vi att skriva om det interna underlaget till en extern rapport i Livsmedelsverkets rapportserie.

Förkortningar

MIC	Minimum inhibitory concentration. Den lägsta koncentration av ett antibiotikum som hämmar tillväxten av en specifik bakterie under standardiserade förhållanden
MBC	Minimum bactericidal concentration. Den lägsta koncentration av en biocid som behövs för att avdöda en bestämd andel, till exempel 99,9 procent, av en specifik bakterie under standardiserade förhållanden
Efsa	European food safety authority. Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet
SCENIHR	Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. Kommittén ger synpunkter på nyligen identifierade hälso- och miljörisker och på breda, komplexa eller tvärvetenskapliga frågor som kräver en omfattande bedömning av riskerna för konsumentssäkerheten och folkhälsan.
WHO	World Health Organization. Världshälsoorganisationen.

Sammanfattning

Vid livsmedelstillverkning används biocider (antibakteriella ämnen) framförallt för att desinfektera utrustning som kan komma i kontakt med livsmedel. På senare tid har frågan väckts om bakterier kan bli motståndskraftiga mot vissa biocider och om användningen kan göra bakterierna motståndskraftiga mot antibiotika.

Livsmedelsverket har gjort en sammanställning över kunskapsläget om biocid- och antibiotikaresistens hos bakterier kopplat till biocidanvändning inom livsmedelskedjan. Olika slags biocider har olika förmåga att gynna uppkomst och spridning av antibiotikaresistens. Det saknas idag kunskap om hur stor den risken är för vissa biocider samt hur mycket av dem som används inom livsmedelssektorn.

De flesta studierna på området är gjorda i laborativ miljö och baserat på dessa verkar risken liten att resistens mot biocider och antibiotika utvecklas så länge som man följer biocidtillverkarnas rekommendationer. Antibiotikaresistens kan framförallt utvecklas vid felaktig användning som till exempel om desinfektionsmedel används utan förgående rengöring, vid användning av för låga koncentrationer eller om desinfektionsmedel späs ut när de spolats bort.

Baserat på det vi vet om utveckling av biocid- och antibiotikaresistens och användningen av biocider inom svensk livsmedelstillverkning, bedöms kvartära ammoniumföreningar relativt sätt utgöra störst risk för att bidra till antibiotikaresistens. Klorhexidin, triclosan och metalljoner bedöms kunna utgöra en risk för resistensutveckling, men eftersom användningen inom livsmedelsindustrin idag är liten eller obefintlig utgör de en liten risk för resistensutveckling inom denna sektor. Eftersom mycket av den kunskap som denna rapport bygger på endast kommer från laborativa försök bör fler praktiska försök inom livsmedelstillverkning genomföras.

Inledning

Bakgrund och övergripande frågeställning

Antibiotikaresistenta bakterier är ett av de största hoten mot folkhälsan. I Sverige har spridningen av bakterier som är resistenta mot flera sorters antibiotika ökat kraftigt under de senaste åren, både inom sjukvården och i samhället i stort. Allt fler antibakteriella biocider introduceras på den svenska marknaden. Även inom livsmedelsindustrin används biocider med antibakteriella egenskaper. Dessa används framför allt som desinfektionsmedel, men även i förpackningsmaterial för mat. Det står klart att antibakteriella biocider, precis som antibiotika, kan medföra ökad tålighet hos bakterier, så kallad resistens. Det finns även viss korsresistens- samt co-resistensproblematik (samverkan) mellan antibiotika och antibakteriella biocider som kan ge antibiotikaresistenta bakterier fördelar i konkurrensen med andra bakterier. Betydelsen av olika biociders påverkan på utveckling och spridning av antibiotikaresistenta bakterier och resistensgener är idag oklar. Det finns därför behov av att ta fram ett kunskapsunderlag och analysera resultaten avseende antibiotikaresistensspridning och därmed risk för folkhälsan, som grund för framtida beslut om hanteringsåtgärder, rörande användandet av antibakteriella biocidprodukter inom livsmedelsindustrin.

Specifika frågeställningar och avgränsningar

1. Vilka antibakteriella biocider används inom livsmedelsindustrin samt i produkter i kontakt med livsmedel (till exempel förpackningar, skärbräddor, kylskåp och vattenreningsprodukter)?
2. Finns det någon eller några antibakteriella biocider och miljöer med koppling till livsmedelsindustrin som innebär särskilt höga risker med avseende på biocid- och/eller antibiotikaresistensutveckling?
3. Vilka koncentrationer av antibakteriella biocider behövs för att utöva ett selektionstryck och därmed stimulera biocid- och/eller antibiotikaresistens samt vilka är de verksamma koncentrationerna för dessa ämnen?
4. Vad finns det i dagsläget för bevis för att användning av biocider inom livsmedelsindustrin samt i produkter i kontakt med livsmedel bidrar till utveckling och spridning av antibiotikaresistenta bakterier och resistensgener?
5. Vilka genetiska mekanismer är involverade i korsresistens eller co-resistens mellan antibiotika och antibakteriella biocider?
6. Frågeställningen berör endast antibakteriella biocider som används inom livsmedelsproduktion eller som på annat sätt kommer i kontakt med livsmedel. Biocidanvändning inom jordbruk, sjukvården och biocidanvändningens påverkan i till exempel avlopp tas inte med i frågeställningen.
7. Olika biociders antibakteriella effekt är inte studerad.

Metod

Vetenskaplig litteratur har eftersökts i litteraturlatabasen PubMed och vissa artiklar har hittats via referenslistor. Kunskapssammanställningen har också använt sig av rapporter från SCENIHR (2009), Efsa (2008) samt en doktorsavhandling av Seier-Petersen (2013).

De söksträngar som har använts i Pubmed är:

Biocide* AND food (industry OR production) AND (“2000/01 /01”[PDAT]: “2014/05/15”[PDAT])

(Biocide*[Title/Abstract] OR silver ion*[Title/Abstract] OR triclosan [Title/Abstract] OR Disinfectant*[Title/Abstract] OR Anti-Bacterial Agent*[Title/Abstract]) AND (antibiotic resistan*[Title/Abstract] OR antimicrobial resistan*[Title/Abstract] OR Drug Resistan*[Title/Abstract]) AND (“2000/01 /01”[PDAT]: “2014/05/15”[PDAT])

Kunskapssammanställning

Vad är Biocider

Biocider är en bred grupp av ämnen som dödar levande organismer och inom gruppen kan allt från ogräsbekämpningsmedel till råttgift ingå. Den här rapporten fokuserar på biocider som används inom livsmedelsproduktion för att döda bakterier, till exempel rengöringsprodukter, vattenrening och desinfektionsmedel för kök. En stor del av dessa ämnen regleras sedan 1:a september 2013 inom EU av biocidförordningen (EU nr 528/2012). I biocidförordningen delas de berörda biociderna upp i 22 olika produkttyper. De två mest relevanta produkttyperna inom biocidförordningen för livsmedelsindustrin är desinfektionsmedel för ytor som kommer i kontakt med livsmedel och djurfoder (produktionstyp 4) och desinfektionsmedel för dricksvatten (produktionstyp 5).

Användningen av biocider i livsmedelsproduktion

Användningen av biocider kartläggs inte regelbundet inom EU. Hur mycket, och i vilka koncentrationer, biocider används är därför till stora delar okänt (SCENIHR 2009). I Sverige registreras importen och produktionen av biocider av Kemikalieinspektionen. Enligt Kemikalieinspektionen registrerades det att cirka 16 700 ton biocider, tillhörande produkttypen för desinfektion av ytor i kontakt med livsmedel och foder (produktionstyp 4), tillverkades eller importerades till Sverige år 2011. Under samma år importerades eller tillverkades det cirka 13 400 ton desinfektionsmedel för användning till desinfektion av vatten (produktionstyp 5). För desinfektion av dricksvatten används huvudsakligen olika klorbaserade desinfektionsmedel som hypoklorit. För desinfektion av ytor som kommer i kontakt med livsmedel används ett flertal olika biocider varav de som används i störst mängd är natriumhydroxid och natriumhypoklorit. I uppgifterna över mängden producerade eller importerade biocider till Sverige saknas uppgifter om mängden aktiv substans och på grund av sekretesskäl finns det inte offentliga sammanställningar över vilka biocider som ingår i flertalet produkttyper (Kemikalieinspektionen 2013). Det finns däremot uppgifter över den totala kemikalieanvändningen för branscher inom livsmedelsframställning och på vattenverk inom Sverige över ämnen med bakteriedödande effekt (tabell 1). Flera av dessa ämnen har också andra användningsområden inom livsmedelsproduktion, till exempel används etanol som både lösningsmedel och för desinfektion.

Tabell 1. Ett urval av ämnen med antibakteriell effekt som används inom livsmedelsindustri

Ämnesgrupp	Verksamt ämne	Användning livs- medelsindustri och vattenverk i Sverige 2012 (ton) ¹	Vanlig kon- centration i brukslösning ²
Aldehyder	Glutaraldehyd	22,7	2 %
	Formaldehyd	32,9	0,03-15,7 %
Alkoholer	Etanol	1160	0,1-99 %
	Propanol	8,1	
	Isopropanol	12,6	0,1-77,22 %
Biguanider	Klorhexidin	1,1	0,43 %
	Polymeriska biguanider	-	
Fenoler	Triclosan (2,4,4'- triklorohydroxifenyleter)	0	0,5 %
Klorbaserade ämnen	Natriumhypoklorit	3598	0,02-22,4 %
Kvartära ammo- niumföreningar	Bensalkoniumklorid	7,3	0,03-50 %
	Didecyldimetylammoniumklorid	2,1	
	Kvartär kokosalkyl- metyloxydimetylklorid	0,1	
Peroxygener	Perättikssyra	9,4	0,0008-0,23 %
	Väteperoxid	197,2	0,5-29 %
Silver	Silverniträt	-	
	Kolloidalt silver	-	0,001-0,0022 % ³
Syror, organiska och icke- organiska	Ättikssyra	279,9	0,4-52 %
	Svavelsyra	293,0	
	Fosforsyra	523,8	

¹(Kemikalieinspektionen (2013)²(SCENIHR 2009)³(van Hasselt et al. 2004)

I en enkätundersökning riktad till livsmedelsindustrier inom styckning, chark och fisk i Göteborgs kommun svarade 33 anläggningar av 60 tillfrågade om vilka slags rengörings- och desinfektionsmedel som de använder. De medel som oftast uppgavs användas var alkaliska medel i kombination med hypoklorit (cirka 72 % av anläggningarna), alkoholer (cirka 45 %), alkaliska medel (cirka 48 %) och kvartära ammoniumföreningar (cirka 33 %). På mindre än en anläggning av tio uppgavs att klorbaserade ämnen, syror, väteperoxid eller tensider användes. I undersökningen uppgavs även att cirka 35 procent av de svarande använde biocider med okänt innehåll. Knappt hälften av de svarande uppgav att de använde

hetvatten för desinfektion, en metod som är vanlig för att dekontaminera knivar inom kött-, chark- och fiskindustrin. Eftersom de flesta anläggningar använde olika slags biocider för olika ändamål, till exempel alkohol för handdesinfektion och alkaliska medel för rengöring av utrustning blir summan av alla kategorier mer än 100 procent. Inga av verksamheterna använde skärbrädor som innehöll antibakteriella medel (Miljöförvaltningen, Göteborgs Stad, 2008).

I en liknande undersökning från Storbritannien 2001 kombinerades enkätundersökningar med besök hos livsmedelsproducenter från hela produktionskedjan. Enligt undersökningen var de vanligast använda biociderna hos brittiska livsmedelsproducenter: kvartära ammoniumföreningar (55 % av anläggningarna), natriumhypoklorit (38 % av anläggningarna) och alkohol (26 % av anläggningarna). Andra biocider som användes på mindre än 7 procent av anläggningarna var perättiksyra, biguanider (till exempel klorhexidin), amfolyter (till exempel vissa tensider) och klordioxid (Holah et al. 2002).

Utrustning som kommer i kontakt med livsmedel kan också vara behandlade med antibakteriella biocider. I en kvalitativ studie av Kemikalieinspektionen (2012) undersöktes utbudet av biocidbehandlade konsumentvaror som säljs på internet. I studien identifierades bland annat skärbrädor, matförvaringslådor, knivar, salladsskålar, tallrikar, diskbänkar, diskborstar, plastpåsar, kylskåp, frysar och diskmaskiner. Varorna beskrevs ofta i termer som ”antibakteriell” och endast i ett fåtal fall fanns information om vilka biocider varorna innehöll. Bland de varor där tillverkaren specificerade vilka biocider som användes i produkten var silver och triclosan de biocider som oftast användes. Sedan biocidförordningen (EU nr 528/2012) trädde i kraft inom EU den 1:a september 2013 måste tillverkare ange vilka biocider som används i biocidbehandlade produkter. Det är inte känt i vilken utsträckning tillverkarna deklarerar detta sedan sedan biocidförordningen trätt i kraft. Det är inte heller känt om användningen av biocidbehandlade produkter ökat eller minskat.

Hur mycket silver som används för biocidbruk är osäkert. En konsultfirma som arbetar med marknadsanalyser av ädelmetaller, GFMS (2011), uppskattade den globala användningen av silver år 2010 i förpackningar som kommer i kontakt med livsmedel till mindre än 28 ton. Användningen för dricksvattenrening och för produkter på hygienmarknaden uppskattades under samma år till 56 respektive 85 ton. En tillverkare av silverbiocider uppskattade årsförbrukningen år 2011 av silver till alla slags antibakteriella produkter, både produkter som kommer i kontakt med livsmedel och andra produkter, på den europeiska marknaden till mindre än 25 ton (Diener & Palme 2012). Totalt användes 14 175 ton silver för industriell användning år 2011 och andelen av silver som används till produkter som kommer i kontakt med livsmedel är alltså liten.

Resistens mot antibiotika

Antibiotikaresistens innebär en förmåga hos bakterier att motstå exponering för antibiotika. Ökad resistens mot antibiotika har av WHO (2007) klassats som ett av de största globala hälsoproblemen som världen står inför, då behandling av infektionssjukdomar försvåras och dödligheten i dessa ökar. Utvecklingen av antibiotikaresistens beror på flera olika faktorer och användningen av bakteriella biocider har föreslagits som en bidragande orsak (SCENIHR 2009). Antibiotika verkar ofta på ett eller ett fåtal mål i en bakteriecell och resistens kan uppstå genom att dessa mål förändras. Andra mekanismer som också kan öka resistensen är att bakterien bryter ned ämnet, transporterar ut det ur cellen eller minskar genomsläppligheten genom sitt cellmembran.

När man pratar om antibiotikaresistens skiljer man på klinisk och mikrobiologisk resistens. Vid klinisk resistens hämmas inte bakterien av de doser antibiotika som används vid behandling och antibiotikan är inte längre verksamt emot bakterien vid behandling. Vid mikrobiologisk resistens har bakterien en ökad resistens gentemot ett antibiotikum, till exempel jämfört med andra stammar av samma bakterieart, men ämnen kan fortfarande vara verksamt i de koncentrationer som används vid behandling.

Resistens emot biocider

Det finns idag inte någon standardmetod för att mäta biocidresistens hos bakterier vilket gör det svårt att jämföra olika studier med varandra. De flesta undersökningar om biocidresistens bygger på förändringar i *minimum inhibitory concentration* (MIC), vilket är den lägsta koncentration av ett ämne som hämmar tillväxten av en bakterie. En bakterie klassas som resistent om dess MIC-värde gentemot en biocid är högre jämfört med MIC-värdet hos en jämförbar bakterie. Detta gör det svårt att tolka MIC-värden eftersom det inte finns fasta tröskel-värden för när en bakterie räknas som resistent. En annan metod för att mäta biocidresistens är att mäta *minimum bactericidal concentration* (MBC) som är den lägsta koncentrationen av ett ämne som dödar minst 99,9 procent av en mikroorganism (EUCAST 2000). Morrissey *et al.* (2014) undersökte fördelningen av MIC- och MBC-värden för biociderna triclosan, klorhexidin, benzalkoniumklorid och natriumhypoklorit ett stort antal bakteriesolat. Framförallt undersöktes flera olika bakteriestammar av arterna *Staphylococcus aureus* och släktet *Salmonella* i syfte att ta fram epidemiologiska tröskelvärden för när en bakterie skall anses vara resistent mot en biocid. Förekomsten av förhöjd resistens var i undersökningen ovanlig och för huvudparten av de testade bakteriearterna var resistensen normalfördelad vilket tyder på att det inte finns delar av bakteriepopulationen som utvecklat en förhöjd resistens emot biocider.

Biocider verkar i de flesta fall på flera olika mål i bakterieceller och biocid-resistens, till skillnad mot antibiotikaresistens, utvecklas därför sällan genom att enstaka målmolekyler förändras. Resistens mot en bakteriell biocid utvecklas istället oftast genom att bakterien minskar sin genomsläpplighet av ämnen in i cellen, genom att biociden bryts ned, eller genom att bilda effluxpumpar som transporterar ut biociden ur cellen (Efsa 2008).

Bakteriers resistens gentemot biocider kan bero på nedärvda egenskaper som kodas av naturligt förekommande gener på bakteriekromosomen. Denna form av resistens kallas för nedärvd resistens. Till exempel anses mykobakterier och bakteriesporer ha en större nedärvd resistens mot många biocider eftersom deras cellväggar har låg genomsläpplighet för många ämnen. Vissa bakterier kan också öka sin resistens mot biocider genom att ändra på hur nedärvda egenskaper uttrycks, till exempel genom att förändra genomsläppligheten i cellmembran (Ortega Morente et al. 2013). Bakterier kan på så sätt succesivt öka sin tolerans gentemot en biocid utan att dess genuppsättning förändras.

Många bakterier har förmågan att växa tätt tillsammans i en så kallad biofilm. Bakterier som växer i biofilmer har oftast högre resistens mot biocider jämfört med fritt växande bakterier. Troligtvis beror den ökade biocidresistensen i biofilmer av flera olika faktorer såsom en minskad tillväxhastighet, att biocider har svårt att tränga ned till underliggande celler på grund av den extracellulära matrix som bildas i biofilmer och genom en ökad tillverkning av enzymer som inaktiverar vissa biocider (Ortega Morente et al. 2013).

Bakterier kan också öka sin resistens, både emot biocider och antibiotika, genom att bakteriens genuppsättning förändras, så kallad förvärvad resistens. Förvärvad resistens kan erhållas genom att befintliga gener förändras (genmutation), eller genom att en gen kopieras, och på så sätt ökar sitt uttryck (genamplifiering). Ytterligare ett sätt för bakterier att förvärva resistens är genom att ta upp nya gener från mobila genetiska element. Många gener för biocidresistens finns i mobila genetiska element som plasmider och integroner. Detta innebär att generna kan spridas mellan olika närbesläktade bakteriearter, till exempel mellan icke-patogena och patogena bakterier. Denna typ av genöverföring kallas för horisontell genöverföring.

Tidigare riskvärderingar över biocid- och antibiotikaresistens

EU-kommissionens vetenskapliga kommitté för uppkommande och nyligen identifierade hälsorisker (SCENIHR) gjorde bedömningen att det finns en risk för att användning av antibakteriella biocider kan bidra till ökad antibiotikaresistens (SCENIHR 2009). Kommittén kunde däremot inte bedöma vilka antibakteriella biocider som medför störst risk för att gynna antibiotikaresistensutvecklingen eftersom flera stora kunskapsluckor gör bedömningen osäker. Framförallt saknas

det uppgifter över hur mycket, och i vilka koncentrationer, biocider används. Andra stora kunskapsluckor som identifierades var avsaknaden av standardmetoder för att utvärdera om en biocid kan bidra till biocid- och antibiotikaresistens, samt att det finns för få kartläggningsstudier över förekomsten av biocid- och antibiotikaresistens ifrån de miljöer där biocider ofta används. Trots dessa kunskapsluckor gjorde SCENIHR (2009) en bedömning över vilka ämnen som har störst förmåga att bidra till biocidresistens, om man inte tar hänsyn till hur stor användningen är. De biocider som, framförallt baserat på laborativa resultat, bedömdes ha störst förmåga att utveckla biocidresistens var: kvartära ammoniumföreningar, biguanider (till exempel klorhexidin), fenoler (till exempel triclosan) och metallsalter (till exempel silverjoner). För mer reaktiva biocider som oxiderande eller alkyliserande ämnen (till exempel natriumklorit och aldehyder) bedömdes förmågan att utveckla biocidresistens som låg. För övriga grupper av biocider som utvärderades (isotiazoliner, anilider, diamider, oorganiska syror och alkoholer) fanns det vid tidpunkten för lite uppgifter för att med säkerhet kunna bedöma förmågan att selektera för en ökad resistens. SCENIHR bedömde förmågan för dessa ämnen att bidra till resistensbildning som medelhög.

Generellt sätt så är risken för att biocidresistens utvecklas och sprids störst i de miljöer där både biocider och antibiotika ofta förekommer, till exempel inom sjukvården, vid storskalig djuruppfödning och vid spol- och avloppsvatten där rester av antibakteriella biocider och antibiotika kan förekomma i låga koncentrationer (SCENIHR 2009).

Efsa (2008) gjorde ett utlåtande om risken för utveckling av antibiotikaresistens vid användningen av fyra olika biocider (klorindioxid, natriumklorit, trinatriumfosfat och peroxysyror) för desinfektion av kycklingslaktkroppar. I genomgången fann man att det inte finns några uppgifter som tyder på att användning av de undersökta biociderna kan leda till en ökad resistens mot vare sig biocider eller antibiotika (Efsa 2008). Efsa konstaterade däremot att det finns uppgifter om att andra biocider, framförallt katjoniska biocider (till exempel klorhexidin), isotiazoliner, fenoler och väteperoxid, har lett till ökad biocidresistens. Huvudparten av de uppgifter som finns om biocidresistens bygger på uppgifter om felaktig användning eller från laborativa försök. Efsa rekommenderar därför att mer forskning om biocidresistens och eventuella kopplingar till antibiotikaresistens utförs.

Hur kan biocidresistens utvecklas?

Koncentrationen är den viktigaste faktorn som påverkar effektiviteten av en biocid (Russell & McDonnell 2000). I de flesta fallen där biocidresistens har utvecklats så har biociden, på grund av felaktig användning eller förvaring, haft en lägre koncentration än vad tillverkaren rekommenderat (SCENIHR 2009). Även låga halter av antibiotika gynnar resistensutveckling och koncentrationer av antibiotika som ligger under de MIC-koncentrationer vilka inhiberar vildtypen av bakterier skapar fortfarande ett selektionstryck som gynnar antibiotikaresistenta bakterier (Gullberg et al. 2011).

Huvuddelen av den forskning som har gjorts på biocidresistens är utförd i laborativ miljö. Ökad resistens mot antibakteriella biocider har flera gånger påvisats i laboratorier genom att utsätta bakterier för låga koncentrationer av en biocid, antingen genom att upprepade gånger utsätta en bakteriekultur för en låg biocidkoncentration, eller genom att succesivt öka biocidkoncentrationen, till exempel från 10 µg/ml klorhexidin upp till 100 µg/ml (Tattawasart et al. 1999).

Rensch *et al.* (2013) undersökte hur höga koncentrationer triclosan som krävdes för att förhindra att resistenta Salmonellamutanter kunde utvecklas. Av åtta testade Salmonellastammar varierade den lägsta koncentration som hindrade utvecklingen av triclosanresistenta mutanter mellan 1-16 mg/l vilket är 8-64 gånger högre än de testade stammarnas MIC-värden för triclosan. Detta tyder på att koncentrationen av en biocid behöver vara högre än de koncentrationer som vanligtvis inhiberar en bakterie för att minimera risken för att nya resistensegenskaper utvecklas genom mutationer. Trots att man i flera studier har sett en ökning av flera bakteriers MIC-värden, så är de biocid-koncentrationer som uppges användas inom livsmedelskedjan betydligt högre än de biocid-koncentrationer som resistenta bakterier kan växa i.

Studier har också visat att trots att bakterier har förhöjda MIC-värden för en biocid så avdödas de fortfarande av de koncentrationer som uppges användas inom livsmedelsindustrin idag (SCENIHR 2009, Condell et al. 2012, Seier-Petersen 2013). En förhöjning av MIC-värdet behöver alltså inte innebära att en biocid i praktiken förlorat sin avdödande förmåga gentemot en bakterie. Till exempel uppmätte Lear *et al.* (2006) MIC-värdet för triclosan hos *Acinetobacter johnsonii* till < 0,01 procent vilket är långt under den angivna brukskoncentrationen på 0,5 procent (Tabell 1).

Trots att bakterier skall avdödas av de biocidkoncentrationer som används inom livsmedelsindustrin så har det i praktiken visat sig att bakterier i vissa fall kan överleva ett desinfektionssteg med biocider. Exempelvis isolerade Sidhu *et al.* (2001a) biocidresistenta mjölktsyrabakterier på ytor i en livsmedelsindustri vilka desinfekterats med kvartära ammoniumföreningar.

Vid användning av biocider finns en risk att koncentrationen av det verksamma ämnet sjunker, antingen på grund av att det förbrukas eller späds ut, till exempel om biociden spolas bort efter desinfektion. Flera biocider reagerar med organiskt material, som kan finnas kvar på ytor på grund av bristfällig rengöring, vilket leder till att koncentrationen av den verksamma biociden sjunker (Seier-Petersen 2013). Till exempel sänks den bakteriedödande förmågan för silverjoner kraftigt i kontakt med organiskt material som till exempel livsmedelsrester (Møretro & Langsrud 2011).

Kopplingar mellan biocidresistens och antibiotikaresistens

Bakteriers resistens gentemot biocider kan också öka dess motståndskraft mot antibiotika. Detta kan ske genom att de resistensmekanismer som utvecklas påverkar flera slags ämnen, till exempel genom att bakterierna minskar sin permeabilitet för ämnen in till cellen eller genom att bakterierna bildar en biofilm.

Vissa undersökningar har också dokumenterat att biocidresistenta bakterier oftare har förhöjd resistens gentemot antibiotika jämfört med bakterier känsliga mot biocider. Bland annat var *Salmonellabakterier* med förhöjd resistent mot triclosan oftare resistent gentemot flera olika sorters antibiotika jämfört med triclosankänsliga isolat (Copitch et al. 2010). Gullberg *et al.*, (2014) visade att låga koncentrationer av bland annat kopparjoner och arsenik kunde selektera för resistensplasmider.

I andra undersökningar, till exempel där man studerat *E. coli*-bakteriers resistens gentemot triclosan (Ledder et al. 2006), har man inte sett någon koppling mellan biocidresistens och antibiotikaresistens. I undersökningar där man istället undersöker om antibiotikaresistenta bakterier oftare har en ökad resistens mot antibakteriella biocider, jämfört med antibiotikakänsliga bakterier, har man inte sett en sådan koppling (Gilbert & McBain 2003). Vissa artikelförfattare argumenterar istället för att korrekt biocidanvändning är ett viktigt redskap för att förhindra antibiotikaresistens eftersom desinfektion med biocider kan användas för att förebygga infektionssjukdomar, vilka i sin tur kräver behandling med antibiotika (Gilbert & McBain 2003).

Genetiska mekanismer för resistensspridning

Resistens mot både biocider och antibiotika kan uppstå antingen genom att mutationer ger upphov till nya gener som kodar för resistensegenskaper eller genom att bakterier förvärvar resistensgener från andra organismer via horisontellt genutbyte. I vissa fall kan en enstaka gen medföra resistens mot flera olika ämnen, som till exempel både en bakteriell biocid och ett antibiotikum. Denna typ av resistens kallas för korsresistens och uppstår ofta mot ämnen som liknar varandra eller påverkar samma målmolekyl i bakterien

Vissa gener kodar för bildandet av effluxpumpar vilket kan ge resistens mot flera olika ämnesgrupper eftersom dessa pumpar transporterar ett brett spektrum av ämnen ut ur bakteriecellen (Wong *et al.*, 2014). Till exempel har qac-effluxpumpar i försök gett ökad resistens mot flera organiska katjoner som etidium och de kvartära ammoniumföreningarna benzalkoniumklorid och cetrimide. Förekomst av effluxpumpar kan också, till en viss grad, öka en bakteries resistens mot divalenta katjoner som klorhexidin och pentamidine.

Gener för qac-pumpar har bland annat isolerats hos isolat av *S. aureus* (Ortega Morente et al. 2013) och *Enterococcus* från nötboskap, humanprover och ost (Bischoff et al. 2012). Bakterier med gener som kodar för effluxpumpar har visat sig vara vanligare i jordprover i anslutning till industrier som använder sig av stora mängder av kvartära ammoniumföreningar jämfört med jordprover från jordbruk där användningen av antibakteriella biocider är mindre vanligt förekommande (Gaze et al. 2005). I tabell 2 finns exempel på hur olika gener kan påverka resistensen mot vissa antibakteriella biocider.

Antibiotikaresistens kan också spridas horisontellt genom bakteriers utbyte och upptag av mobila genetiska element, som till exempel plasmider som kan innehålla flera olika gener vilka var för sig kodar för biocid- och antibiotikaresistens. Denna typ av multiresistens kallas för co-resistens. Det är oklart om antibakteriella biocider kan öka det horisontella genutbytet mellan olika bakterier. I vissa laborativa studier har låga koncentrationer av biocider som till exempel klorhexidin, jodpreparat och ceftrimid visat på en minskning av genöverföringen mellan bakterier (Gilbert & McBain 2003) medan låga koncentrationer av etanol, koppar och arsenik istället ökade överföringen av plasmider (Seier-Petersen 2013). Andra studier har visat att många biocider kan initiera en SOS-respons hos bakterier. SOS-responsen är en stressrespons som främst aktiveras vid DNA-skador och responsen kan öka risken för att nya mutationer uppstår och att gener överförs inom och mellan olika bakteriearter (Beaber et al. 2004, Ubeda et al. 2005). Seier-Petersen (2013) undersökte om låga koncentrationer av fem antibakteriella biocider som är vanliga inom livsmedelsindustrin kunde öka mutationsgraden hos isolat av *S. aureus*. I försöket utlöste låga koncentrationer av kvartära ammoniumföreningar, klorhexidin och väteperoxid en SOS-respons hos de testade bakterierna medan väteperoxid och perättiksyra både ökade graden av mutationer och utvecklingen av resistens. I försöket testades även natriumhypoklorit vilket inte utlöste en SOS-respons hos *S.aureus*.

Även bakterier som har en förhöjd resistens gentemot en biocid avdödas i princip alla fortfarande av de biocidkoncentrationer som uppges användas inom livsmedelsindustrin idag. Till exempel så har MIC-värden hos bakterier med resistens gentemot den kvartära ammoniumföreningen benzalkoniumklorid mätts till maximalt 80 µg/ml (tabell 2) medan de koncentrationer som uppges användas inom livsmedelsindustrin är 500-1 000 µg/ml (Ortiz et al. 2014). Vidare ger vissa av de förändringar som ökar en bakteries biocidresistens samtidigt ge bakterien sämre möjligheter att konkurrera med andra mikroorganismer i miljöer där det inte finns biocider (Rensch et al. 2013). Detta kan vara en bidragande orsak till att man ofta har sett en ökad resistens emot antibakteriella biocider hos renodlade bakteriekulturer i laboratorieförsök, men att det än så länge har varit ovanligt att hitta biocidresistenta bakterier i miljöprover där bakterier hela tiden konkurrerar med varandra (Gilbert & McBain 2003).

Tabell 2. Exempel på MIC-värden för olika biocider beroende på om den bär på en resistensgen eller inte (efter Seier-Petersen 2013)

Gen	Ämne	MIC		Organism	Ref.
		Utan gen	Med gen		
<i>qacA/B</i>	BK	12 µg/ml	60 µg/ml	<i>E. coli</i>	Tennent <i>et al.</i> (1985)
<i>smr</i>	BK	0,5- 1,0 µg/ml	2,5–3,0 µg/ml	<i>S. aureus</i>	Bjorland <i>et al.</i> (2001)
<i>smr</i>	BK	2 µg/ml	8 µg/ml	<i>Staphylococcus</i> spp.	Heir <i>et al.</i> (1998)
<i>smr</i>	BK	20 µg/ml	80 µg/ml	<i>E. coli</i>	Paulsen <i>et al.</i> (1993)
<i>qacE</i>	BK	20 µg/ml	80 µg/ml	<i>E. coli</i>	Paulsen <i>et al.</i> (1993)
<i>qacΔE1</i>	BK	20 µg/ml	µg/ml	<i>E. coli</i>	Paulsen <i>et al.</i> (1993)
<i>qacF</i>	CTAB	100 µg/ml	400 µg/ml	<i>E. coli</i>	Ploy <i>et al.</i> (1998)
<i>qacG</i>	BK	2 µg/ml	10 µg/ml	<i>Staphylococcus</i> spp.	Heir <i>et al.</i> (1998)
<i>qacH</i>	BK	2,0–4,0 µg/ml	10 µg/ml	<i>Staphylococcus</i> spp.	Heir <i>et al.</i> (1998)
<i>qacI</i>	CTAB	100 µg/ml	400 µg/ml	<i>E. coli</i>	Heir <i>et al.</i> (1999)
<i>qacJ</i>	BK	1,0–1,5 µg/ml	3,5–4,5 µg/ml	<i>Staphylococcus</i> spp.	Bjorland <i>et al.</i> (2003)
<i>qacJ</i>	CTAB	2,0–4,0 µg/ml	7,5–10 µg/ml	<i>Staphylococcus</i> spp.	Bjorland <i>et al.</i> (2003)
<i>qacZ</i>	BK	4 µg/ml	16 µg/ml	<i>Enterococcus faecalis</i>	Braga <i>et al.</i> (2011)
<i>qrg</i>	CTAB	4 µg/ml	8 µg/ml	<i>Streptococcus oralis</i>	Ciric <i>et al.</i> (2011)
<i>trcB</i>	CuSO ₄	4 mM	16/28 mM*	<i>E. faecium</i>	Hasman & Aarestrup(2002)
<i>adhC</i>	formaldehyd	0,009 %	0,03 %	<i>E. coli</i>	Kaulfers <i>et al.</i> (1987)
<i>oqxAB</i> -gener	BK	2 µg/ml	16 µg/ml	<i>E. coli</i>	Hansen <i>et al.</i> (2007)
<i>oqxAB</i> -gener	cetrimid	2 µg/ml	8 µg/ml	<i>E. coli</i>	Hansen <i>et al.</i> (2007)

Förkortningar: BK: Benzalkoniumklorid (kvartär ammoniumförening), CTAB: Cetyl trimetylammmoniumbromid (kvartär ammoniumförening), cetrimide (kvartär ammoniumförening), CuSO₄: kopparsulfat.

Biocid- och antibiotikaresistensgener inom livsmedelskedjan

Få undersökningar har gjorts om hur biocidanvändningen inom livsmedelskedjan påverkar utveckling och spridning av antibiotikaresistenta bakterier och i dagsläget vet man därför inte heller hur stor risken är att resistensgener sprids från bakterier i livsmedelsindustrin till sjukdomsalstrande bakterier. Man har däremot isolerat mobila genetiska element med gener både för antibiotika- och biocidresistens från bakterier i livsmedelskedjan vilka kan spridas inom och mellan olika närbesläktade bakteriearter (Gullberg *et al.*, 2014). En plasmid med gener för både antibiotika- och biocidresistens isolerades i avföring från danska och svenska grisar.

Plasmiden, pOLA52, kan överföras mellan bakterier tillhörande familjen *Enterobacteriaceae* (Norman et al. 2008) och innehåller genen *oqxA* som kodar för en effluxpump (OqxAB). Denna effluxpump kan transportera ut ett brett spektrum av ämnen, bland annat antibiotika, desinfektionsmedel och ämnen som används som tillväxtfrämjande tillsatser i grisfoder. Genen har visat sig öka resistensen mot kloramfenikol, ciprofloxacin, norfloxacin och trimetoprim. Effluxpumpen ökar även resistensen för biociderna benzalkonium och triclosan, samt till en lägre grad cetrimid och klorhexidin (Hansen et al. 2007). Plasmiden innehåller även en gen (*mrkABCDF*) vilket kan öka en bakteries förmåga att bilda biofilmer, en egenskap som indirekt också ökar bakteriens resistens mot biocider.

I Norge har stammar av koagulasnegativa stafylokocker och *S.aureus* isolerats, vilka har plasmider med gener för resistens mot beta-laktam-antibiotika (*BlaZ*) och kvartära ammoniumföreningar (*QacA/B*) (Sidhu et al. 2001b, Anthonisen et al. 2002, Bjorland et al. 2005). I vattenrenningsverk i Rumänien har bakterier påvisats som innehåller mobila genetiska element med både *qac*-gener och *sulI* gener, vilka kodar för sulfonamid-resistens (Farkas et al. 2013).

I en norsk kartläggning av biocidresistenta bakterier i mjölkdjur påvisades *S. aureus* med resistens mot kvartära ammoniumföreningar i 21 procent av de undersökta nötbosättningarna och i 10 procent av getbosättningarna. Hos de isolat som hade förhöjd resistens emot kvartära ammoniumföreningar testades även resistensen gentemot en rad antibiotika. Bland de biocidresistenta stammarna var 69 procent även resistenta mot penicillin. Bland 21 procent av de biocid- och antibiotika-resistenta isolaten fanns resistensgener för kvartära ammoniumföreningar (*quac*, *smr*) och penicillin (*blaZ*) på samma plasmid (Bjorland et al. 2005).

Plasmider som innehåller gener för ökad resistens mot kvartära ammoniumföreningar, klorhexidin och silverjoner har påträffats hos olika slags bakterier, bland annat kliniska isolat av *S. aureus* och andra stafylokocker (Ortega Morente et al. 2013). Under åren 2005-2007 drabbades Uppsala universitetssjukhus av ett utbrott av en stam multiresistenta *Klebsiella pneumoniae* och *E.coli* vilka infekterade eller koloniserade cirka 250 patienter. Bakteriestammarna bar på en plasmid (pUUH239.2) med resistensgener för ett flertal sorters antibiotika (betalaktamer, aminoglykosider, tetracykliner, trimetoprim, sulfonamider och makrolider) samt kvartära ammoniumföreningar och metalljoner som silver, koppar och arsenik (Sandegren et al. 2011).

Plasmiden pAPEC-O2-R, som hittats hos *E. coli*-bakterier vilka isolerats från kyckling innehåller gener för resistens mot silver och andra tungmetaller samt mot kvartära ammoniumföreningar. Plasmiden innehåller även antibiotikaresistensgener som ger resistens mot tetracyklin, sulfonamider, aminoglykosider, trimetoprim och betalaktamer (Johnson et al. 2005).

Biocid- och antibiotikaresistens inom livsmedelskedjan

I dagsläget finns få undersökningar om hur biocidanvändning inom livsmedelskedjan kan påverka utveckling och spridning av antibiotikaresistenta bakterier. Risken för att bakterier utvecklar biocid- eller antibiotikaresistens på grund av biocidanvändningen inom jordbruk och livsmedelsproduktion är därför oklar (SCENIHR 2009). Förekomsten av biocidresistenta bakterier inom Sverige är inte heller känd, vare sig inom djuruppfödningen eller inom livsmedelsproduktionen.

I laborativa försök har man sett att *Salmonella*-stammar som exponeras för olika desinfektionsmedel vilka används inom jordbruk oftare har minskad känslighet mot antibiotika. I försöken användes kommersiella desinfektionsmedel vilka bestod av en blandning av flera olika ämnen med biocidverkan. Bland annat testades ett medel innehållande triclosan och ett annat medel bestående av kvartära ammoniumföreningar, formaldehyd och glutaraldehyd. Användning av dessa två desinfektionsmedel ledde till en ökning i bakteriernas resistens gentemot antibiotika såsom ampicillin, ciprofloxacin och tetracyclin (Karatzas et al. 2007). De kloner som hade en förhöjd resistens emot de testade biociderna hade en förhöjd produktion av effluxpumpen *acrAB* och ett flertal olika proteiner som skyddar emot oxidanter, peroxider, nitroaromater och disulfider. De isolat som hade en förhöjd biocidresistens hade också en lägre tillväxthastighet och sämre förmåga att invadera eukaryota celler i cellodlingar jämfört med biocidkänsliga vildtyper (Karatzas et al. 2008).

Bakterier med ökad resistens mot både biocider och antibiotika har upprepade gånger hittats i livsmedelskedjan, bland annat hos nötdjur (Bjorland et al. 2001), i norska slakterier och livsmedel (Heir et al. 1995), i ekologiska livsmedel (framförallt grönsaker och spannmål) från Spanien (Fernández-Fuentes et al. 2012), samt i vattenreningsverk (Farkas et al. 2013). I många undersökningar har man endast undersökt förekomsten av biocid- och antibiotikaresistenta bakterier utan att undersöka om antibiotikaresistens är vanligare hos biocidresistenta bakterier, jämfört med bakterier som är känsliga mot biocider (Marino et al. 2011). I de rapporter där man undersökt detta har man inte sett någon statistiskt signifikant koppling mellan biocidresistens och antibiotikaresistens (Aase et al. 2000, Aarestrup et al. 2007, Condell et al. 2012).

Mjölksyrabakterier med resistens mot kvartära ammoniumföreningar har isolerats på ytor i en livsmedelsanläggning som nyligen desinfekterats med en kvartär ammoniumförening. De isolerade bakterierna hade betydligt lägre MIC-värde för biociden än de koncentrationer som vanligtvis uppges användas vid desinfektion, men lyckades trots detta överleva desinfektionen. De stammar som isolerats efter desinfektion hade högre MIC-värden för kvartära ammoniumföreningar jämfört med mjölksyrabakterier som isolerats från andra delar av samma livsmedelsanläggning som inte desinfekterats.

Bland de stammar med resistens mot kvartära ammoniumföreningar sågs också en förhöjd resistens mot klorhexidin och antibiotikan gentamycin (Sidhu et al. 2001a).

I en jämförelse över förekomsten av antibiotikaresistenta bakterier i hushåll som använder antimikrobiella produkter jämfört med hushåll som inte använder sådana produkter fann man inget samband mellan användning av biocidprodukter i hushållet och en ökad biocid- eller antibiotikaresistens i hemmens bakterieflora (Cole et al. 2003, Marshall et al. 2012). I två undersökningar av blandkulturer, respektive biofilmer som isolerats från hushållsavlopp och som under tre månaders tid utsatts för triclosan (McBain et al. 2003) respektive kvartära ammoniumföreningar (McBain et al. 2004) kunde man inte heller se någon klart trend i utvecklingen av vare sig biocid- eller antibiotikaresistens. Vissa bakterier ökade sin resistens gentemot de använda biociderna medan andra fick en sänkt resistens.

Slutsatser

Det är inte klarlagt hur viktig användningen av biocider är för utvecklingen av antibiotikaresistens. Det är inte heller klarlagt i vilken utsträckning användningen av biocider inom livsmedelskedjan bidrar till utveckling av antibiotikaresistens. Majoriteten av de undersökningar som gjorts på kopplingen mellan biocid- och antibiotikaresistens är utförda i laborativ miljö och det finns få uppgifter från livsmedelsindustrin eller andra miljöer där biocider används. Mer forskning på hur biocidanvändning påverkar utvecklingen av resistens i miljön behövs.

Ökad resistens har rapporterats för ett flertal biocider. Om man inte tar hänsyn till mängden biocider som används är så är det troligtvis störst risk att bakterier kan utveckla resistens emot: kvartära ammoniumföreningar, biguanider (till exempel klorhexidin), fenoler (till exempel triclosan) och metallsalter (till exempel silverjoner). Det saknas kunskap om i vilka sammanhang risken för biocidresistens kan uppstå.

En riskranking över vilka biocider som bedöms utgöra en risk för biocid- och antibiotikaresistens har utförts av Livsmedelsverket utifrån den kunskap som funnits tillgänglig (tabell 3). De biocider som utgör störst risk för att bidra till utvecklingen av antibiotikaresistens inom den svenska livsmedelskedjan bedöms vara kvartära ammoniumföreningar. Klorhexidin, triclosan och metalljoner har bedömts utgöra en risk för resistens-utveckling men eftersom användningen inom livsmedelsindustrin idag är liten eller obefintlig utgör de därför en liten risk för resistens-utveckling inom denna sektor.

Tabell 3. Riskranking för att användningen av en biocid gynnar utvecklingen av biocidresistens.

Riskranking	Biocid	Riskklass för utveckling av biocidresistens enligt SCENIHR	Koppling till antibiotikaresistens	Användning inom branscher för livsmedelstillverkning och vattenrening
Nivå 1	Kvartära ammoniumföreningar	Hög risk	Ja	Ca 10 ton
Nivå 2	Biguanider (Klorhexidin)	Hög risk	Ja	Ca 1 ton
	Silverjoner	Hög risk	Ja	0 ton
	Triklosan	Hög risk	Ja	0 ton
Nivå 3	Alkoholer	Okänd risk	Nej	Ca 1 200 ton
	Syror, organiska och icke-organiska	Okänd risk	Nej	Ca 110 ton
Nivå 4	Aldehyder	Låg risk	Nej	Ca 50 ton
	Klorbaserade ämnen	Låg risk	Nej	Ca 3 600 ton
	Peroxygener	Låg risk	Nej	Ca 210 ton

Upprepad exponering av en låg koncentration av en biocid kan skapa ett selektionstryck som eventuellt leder till att biocidresistensen successivt ökar. De koncentrationer av biocider som idag uppges användas inom livsmedelsproduktionen är högre än de koncentrationer som hindrar tillväxt hos biocidresistenta bakterier. Låga koncentrationer av biocider kan dock förekomma till exempel när biocider spolats bort efter desinfektion eller vid felaktig användning, till exempel om biocider används på smutsiga ytor utan föregående tvättning så att höga halter organiskt material reagerar med biociden.

Det saknas idag detaljerade uppgifter om vilka mängder och i vilka koncentrationer bakteriella biocider används inom livsmedelsproduktionen vilket innebär att det inte går att kvantifiera riskerna med olika biocider. I Sverige är de ämnen med biocidverkan som i störst mängd används inom branscher för livsmedelsproduktion natriumhydroxid och natriumhypoklorit. Endast en mindre mängd kvartära ammoniumföreningar och klorhexidin används inom branscher för livsmedelsproduktion. Triclosan och silverjoner används inte inom branscher för livsmedelsproduktion men vissa konsumentvaror som kan komma i kontakt med livsmedel, till exempel antibakteriella skärbrädor och kylskåp, kan innehålla triclosan eller silverjoner.

Utveckling av biocidresistens kan öka resistensen emot antibiotika. Antingen genom att egenskaper som ökar resistensen emot flera olika ämnen sprids, till exempel via effluxpumpar eller bildandet av biofilmer. Antibiotikaresistens kan också utvecklas genom att mobila genetiska element som innehåller gener för både biocid- och antibiotikaresistens sprids mellan bakterier. Vid ett flertal tillfällen har mobila genetiska element vilka innehåller gener som kan leda till biocid- och antibiotikaresistens isolerats i livsmedelskedjan. Det är framförallt gener som kodar för qac-effluxpumpar vilka ökar resistensen emot kvartära ammoniumföreningar och antibiotika som kloramfenikol, ciprofloxacin, norfloxacin och trimetoprim, samt plasmider som innehåller flera olika gener som kodar för resistens gentemot biocider och antibiotika.

Biocidanvändningen är viktig för att förebygga spridningen av sjukdomsframkallande, inklusive antibiotikaresistenta, bakterier inom livsmedelskedjan och i resten av samhället. En minskad smittspridning leder till ett minskat behov av behandling med antibiotika. Det saknas dock, som tidigare påpekats, idag bra underlag för att kunna göra en risk- nyttoanalysbedömning av biocidanvändningen i livsmedelskedjan. Det är däremot viktigt att biocidprodukter används i tillräckligt höga koncentrationer för att vara effektiva och att bakteriella biocider inte används i syften där desinfektion inte är nödvändigt.

Referenser

- Aarestrup FM, Knochel S & Hasman H (2007) Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* from food products. *Foodborne Pathog Dis* 4: 216-221.
- 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.
- Anthonisen IL, Sunde M, Steinum TM, Sidhu MS & Sorum H (2002) Organization of the antiseptic resistance gene *qacA* and Tn552-related beta-lactamase genes in multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* strains of animal and human origins. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 3606-3612.
- Beaber JW, Hochhut B & Waldor MK (2004) SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. *Nature* 427: 72-74.
- Bischoff M, Bauer J, Preikschat P, Schwaiger K, Molle G & Holzel C (2012) First detection of the antiseptic resistance gene *qacA/B* in *Enterococcus faecalis*. *Microb Drug Resist* 18: 7-12.
- Bjorland J, Sunde M & Waage S (2001) Plasmid-borne *smr* gene causes resistance to quaternary ammonium compounds in bovine *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 39: 3999-4004.
- Bjorland J, Steinum T, Sunde M, Waage S & Heir E (2003) Novel plasmid-borne gene *qacJ* mediates resistance to quaternary ammonium compounds in equine *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans*, and *Staphylococcus intermedius*. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 3046-3052.
- Bjorland J, Steinum T, Kvitle B, Waage S, Sunde M & Heir E (2005) Widespread distribution of disinfectant resistance genes among staphylococci of bovine and caprine origin in Norway. *J Clin Microbiol* 43: 4363-4368.
- Braga TM, Marujo PE, Pomba C & Lopes MF (2011) Involvement, and dissemination, of the enterococcal small multidrug resistance transporter *QacZ* in resistance to quaternary ammonium compounds. *J Antimicrob Chemother* 66: 283-286.
- Ciric L, Mullany P & Roberts AP (2011) Antibiotic and antiseptic resistance genes are linked on a novel mobile genetic element: Tn6087. *J Antimicrob Chemother* 66: 2235-2239.
- Cole EC, Addison RM, Rubino JR, et al. (2003) Investigation of antibiotic and antibacterial agent cross-resistance in target bacteria from homes of antibacterial product users and nonusers. *J Appl Microbiol* 95: 664-676.
- Condell O, Iversen C, Cooney S, Power KA, Walsh C, Burgess C & Fanning S (2012) Efficacy of biocides used in the modern food industry to control salmonella enterica, and links between biocide tolerance and resistance to clinically relevant antimicrobial compounds. *Appl Environ Microbiol* 78: 3087-3097.

- Copitch JL, Whitehead RN & Webber MA (2010) Prevalence of decreased susceptibility to triclosan in *Salmonella enterica* isolates from animals and humans and association with multiple drug resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents* 36: 247-251.
- Diener D & Palme U (2012) Silver i produktkedjan: Från konsumentvaror till avloppsslam med aktörsperspektiv. *Svenskt Vatten Utveckling Rapport* 2012-18. Svenskt Vatten. Stockholm.
- Efsa (2008) Assessment of the possible effect of the four antimicrobial treatment substances on the emergence of antimicrobial resistance. *EFSA Journal* 659: 4-26.
- EUCAST (2000) EUCAST Definitive Document E.Def 1.2, May 2000: Terminology relating to methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. *Clin Microbiol Infect* 6: 503-508.
- Farkas A, Butiuc-Keul A, Ciatarăș D, Neamțu C, Crăciunaș C, Podar D & Drăgan-Bularda M (2013) Microbiological contamination and resistance genes in biofilms occurring during the drinking water treatment process. *Science of The Total Environment* 443: 932-938.
- Fernández-Fuentes MA, Ortega Morente E, Abriouel H, Pérez Pulido R & Gálvez A (2012) Isolation and identification of bacteria from organic foods: Sensitivity to biocides and antibiotics. *Food Control* 26: 73-78.
- Gaze WH, Abdousslam N, Hawkey PM & Wellington EM (2005) Incidence of class 1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment. *Antimicrob Agents Chemother* 49: 1802-1807.
- GFMS (2011) The Future of Silver Industrial Demand. Commissioned by the Silver Institute.
- Gilbert P & McBain AJ (2003) Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Rev* 16: 189-208.
- Gullberg E, Cao S, Berg OG, Ilback C, Sandegren L, Hughes D & Andersson DI (2011) Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathog* 7: e1002158.
- Gullberg E, Albrecht LM, Karlsson C, Sandegren L & Andersson DI (2014) Selection of multidrug resistance plasmid by sublethal levels of antibiotics and heavy metals. *Mbio* 5: e01918-14.
- Göteborgs stad & miljöförvaltningen (2008) Antibakteriella medel inom livsmedelsindustrin- förekomst och användning i Göteborg. Göteborgs stad. Rapport 11:2008.
- Hansen LH, Jensen LB, Sorensen HI & Sorensen SJ (2007) Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J Antimicrob Chemother* 60: 145-147.
- Hasman H & Aarestrup FM (2002) *trcB*, a gene conferring transferable copper resistance in *Enterococcus faecium*: occurrence, transferability, and linkage to macrolide and glycopeptide resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 1410-1416.

- Heir E, Sundheim G & Holck AL (1995) Resistance to quaternary ammonium compounds in *Staphylococcus* spp. isolated from the food industry and nucleotide sequence of the resistance plasmid pST827. *J Appl Bacteriol* 79: 149-156.
- Heir E, Sundheim G & Holck AL (1998) The *Staphylococcus* qacH gene product: a new member of the SMR family encoding multidrug resistance. *FEMS Microbiol Lett* 163: 49-56.
- Heir E, Sundheim G & Holck AL (1999) The qacG gene on plasmid pST94 confers resistance to quaternary ammonium compounds in staphylococci isolated from the food industry. *J Appl Microbiol* 86: 378-388.
- Holah JT, Taylor JH, Dawson DJ & Hall KE (2002) Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology* 92: 111S-120S.
- Johnson TJ, Siek KE, Johnson SJ & Nolan LK (2005) DNA sequence and comparative genomics of pAPEC-O2-R, an avian pathogenic *Escherichia coli* transmissible R plasmid. *Antimicrob Agents Chemother* 49: 4681-4688.
- Karatzas KA, Webber MA, Jorgensen F, Woodward MJ, Piddock LJ & Humphrey TJ (2007) Prolonged treatment of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with commercial disinfectants selects for multiple antibiotic resistance, increased efflux and reduced invasiveness. *J Antimicrob Chemother* 60: 947-955.
- 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.
- Kaulfers PM, Karch H & Laufs R (1987) Plasmid-mediated formaldehyde resistance in *Serratia marcescens* and *Escherichia coli*: alterations in the cell surface. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A* 266: 239-248.
- Kemikalieinspektionen (2012) Biocide treated articles-an internet survey. PM 2/12.
- Kemikalieinspektionen (2013) KemI-stat. Websida: <https://apps.kemi.se/kemistat/start.aspx> Hämtad:2013-11-28.
- Lear JC, Maillard JY, Dettmar PW, Goddard PA & Russell AD (2006) Chloroxylenol- and triclosan-tolerant bacteria from industrial sources—susceptibility to antibiotics and other biocides. *International Biodeterioration & Biodegradation* 57: 51-56.
- Ledder RG, Gilbert P, Willis C & McBain AJ (2006) Effects of chronic triclosan exposure upon the antimicrobial susceptibility of 40 ex-situ environmental and human isolates. *J Appl Microbiol* 100: 1132-1140.
- Marino M, Frigo F, Bartolomeoli I & Maifreni M (2011) Safety-related properties of staphylococci isolated from food and food environments. *J Appl Microbiol* 110: 550-561.

- Marshall BM, Robleto E, Dumont T & Levy SB (2012) The frequency of antibiotic-resistant bacteria in homes differing in their use of surface antibacterial agents. *Curr Microbiol* 65: 407-415.
- McBain AJ, Ledder RG, Moore LE, Catrenich CE & Gilbert P (2004) Effects of quaternary-ammonium-based formulations on bacterial community dynamics and antimicrobial susceptibility. *Appl Environ Microbiol* 70: 3449-3456.
- McBain AJ, Bartolo RG, Catrenich CE, Charbonneau D, Ledder RG, Price BB & Gilbert P (2003) Exposure of sink drain microcosms to triclosan: population dynamics and antimicrobial susceptibility. *Appl Environ Microbiol* 69: 5433-5442.
- Morrissey I, Oggioni MR, Knight D, Curiao T, Coque T, Kalkanci A & Martinez JL (2014) Evaluation of epidemiological cut-off values indicates that biocide resistant subpopulations are uncommon in natural isolates of clinically-relevant microorganisms. *PLoS ONE* 9: e86669.
- Møretro T & Langsrud S (2011) Effects of materials containing antimicrobial compounds on food hygiene. *Journal of Food Protection* 74: 1200-1211.
- Norman A, Hansen LH, She Q & Sorensen SJ (2008) Nucleotide sequence of pOLA52: a conjugative IncX1 plasmid from *Escherichia coli* which enables biofilm formation and multidrug efflux. *Plasmid* 60: 59-74.
- Ortega Morente E, Fernández-Fuentes MA, Grande Burgos MJ, Abriouel H, Pérez Pulido R & Gálvez A (2013) Biocide tolerance in bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 162: 13-25.
- Ortiz S, Lopez V & Martinez-Suarez JV (2014) Control of *Listeria monocytogenes* contamination in an Iberian pork processing plant and selection of benzalkonium chloride-resistant strains. *Food Microbiol* 39: 81-88.
- 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.
- Ploy MC, Courvalin P & Lambert T (1998) Characterization of In40 of *Enterobacter aerogenes* BM2688, a class 1 integron with two new gene cassettes, *cmlA2* and *qacF*. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 2557-2563.
- Rensch U, Klein G, Kehrenberg C & Cloeckaert A (2013) Analysis of triclosan-selected *Salmonella enterica* mutants of eight serovars revealed increased aminoglycoside susceptibility and reduced growth rates. *PLoS ONE* 8: e78310.
- Russell AD & McDonnell G (2000) Concentration: a major factor in studying biocidal action. *Journal of Hospital Infection* 44: 3.
- Sandegren L, Linkevicius M, Lytsy B, Melhus A & Andersson DI (2011) Transfer of an *Escherichia coli* ST131 multiresistance cassette has created a *Klebsiella pneumoniae*-specific plasmid associated with a major nosocomial outbreak. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67: 74-83.
- SCENIHR (2009) Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides.

- Seier-Petersen MA (2013) Development of bacterial resistance to biocides and antimicrobial agents as a consequence of biocide usage. Thesis, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby.
- Sidhu MS, Langsrud S & Holck A (2001) Disinfectant and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from the food industry. *Microb Drug Resist* 7: 73-83.
- 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.
- Tattawasart U, Maillard J-Y, Furr JR & A.D. R (1999) Development of resistance to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride in *Pseudomonas stutzeri* and changes in antibiotic susceptibility *Journal of Hospital Infection* 42: 219-229.
- Tennent JM, Lyon BR, Gillespie MT, May JW & Skurray RA (1985) Cloning and expression of *Staphylococcus aureus* plasmid-mediated quaternary ammonium resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 27: 79-83.
- Ubeda C, Maiques E, Knecht E, Lasa I, Novick RP & Penades JR (2005) Antibiotic-induced SOS response promotes horizontal dissemination of pathogenicity island-encoded virulence factors in staphylococci. *Mol Microbiol* 56: 836-844.
- van Hasselt P, Gashe BA & Ahmad J (2004) Colloidal silver as an antimicrobial agent: fact or fiction? *J Wound Care* 13: 154-155.
- WHO (2007) The world health report 2007 - A safer future: global public health security in the 21st century. <http://www.who.int/whr/2007/en/> Hämtad:2013-11-28.
- Wong K, Ma J, Bigging PC & Kerr IA (2014) Towards understanding promiscuity in multidrug efflux pumps. *Trends Biochem Sci* 39: 8-16.

1. Exponeringsuppskattningar av kemiska ämnen och mikrobiologiska agens – översikt samt rekommendationer om arbetsgång och strategi av S Sand, H Eneroth, B-G Ericsson och M Lindblad.
2. Fusariumsvampar och dess toxiner i svenskodlad vete och havre – rapport från kartläggningsstudie 2009-2011 av E Fredlund och M Lindblad.
3. Colorectal cancer-incidence in relation to consumption of red or precessed meat by PO Darnerud and N-G Ilbäck.
4. Kommunala myndigheters kontroll av dricksvattenanläggningar 2012 av C Svärd, C Forslund och M Eberhardson.
5. Kontroll av bekämpningsmedelsrester i livsmedel 2011 och 2012 av P Fohgelberg, A Jansson och H Omberg.
6. Vad är det som slängs vid utgången hållbarhetsdatum? – en mikrobiologisk kartläggning av utvalda kylvaror av Å Rosengren.
7. Länsstyrelsernas rapportering av livsmedelskontrollen inom primärproduktionen 2012 av L Eskilson och S Sylvén.
8. Riksmaten – vuxna 2010-2011, Livsmedels- och näringsintag bland vuxna i Sverige av E Amcoff, A Edberg, H Enghart Barbieri, A K Lindroos, C Nälsén, M Pearson och E Warensjö Lemming.
9. Matfett och oljor – analys av fettsyror och vitaminer av V Öhrvik, R Grönholm, A Staffas och S Wretling.
10. Revision av Sveriges livsmedelskontroll 2013 – resultat av länsstyrelsernas och Livsmedelsverkets revisioner av kontrollmyndighete av A Rydin, G Engström och Å Eneroth.
11. Kontrollprogrammet för tvåskaliga blötdjur – Årsrapport 2011-2013 – av M Persson, B Karlsson, SMHL, M Hellmér, A Johansson, I Nordlander och M Simonsson.
12. Riskkaraktärisering av exponering för nitrosodimetylamin (NDMA) från kloramin använt vid dricksvattenberedning av K Svensson.
13. Risk- och nyttovärdering av sänkt halt av nitrit och koksalt i charkuteriprodukter – i samband med sänkt temperatur i kylkedjan av P O Darnerud, H Eneroth, A Glynn, N-G Ilbäck, M Lindblad och L Merino.
14. Kommuners och Livsmedelsverkets rapportering av livsmedelskontrollen 2013 av L Eskilsson och M Eberhardson.
15. Rapport från workshop 27-28 november 2013. Risk- och sårbarhetsanalys – från jord till bord. Sammanfattning av presentationer och diskussioner.
16. Risk- och nyttovärdering av nöter – sammanställning av hälsoeffekter av nötkonsumtion av J Bylund, H Eneroth, S Wallin och L Abramsson-Zetterberg.
17. Länsstyrelsernas rapportering av livsmedelskontrollen inom primärproduktionen 2013 av L Eskilson, S Sylvén och M Eberhardson.
18. Bly i viltkött – ammunitionrester och kemisk analys, del 1 av B Kollander och B Sundström, Livsmedelsverket, F Widemo, Svenska Jägareförbundet och E Ågren, Statens veterinärmedicinska anstalt.
Bly i viltkött – halter av bly i blod hos jägarfamiljer, del 2 av K Forsell, I Gyllenhammar, J Nilsson Sommar, N Lundberg-Hallén, T Lundh, N Kotova, I Bergdahl, B Järholm och P O Darnerud.
Bly i viltkött – riskvärdering, del 3 av S Sand och P O Darnerud.
Bly i viltkött – riskhantering, del 4 av R Bjerselius, E Halldin Ankarberg och A Kautto.
19. Bra livsmedelsval baserat på nordiska näringsrekommendationer 2012 av H Eneroth, L Björck och Å Brugård Konde.
20. Konsumtion av rött kött och charkuteriprodukter och samband med tjock- och ändtarmscancer – risk och nyttohanteringsrapport av R Bjerselius, Å Brugård Konde och J Sanner Färnstrand.
21. Kontroll av rests substanser i levande djur och animaliska livsmedel. Resultat 2013 av I Nordlander, B Aspenström-Fagerlund, A Glynn, A Törnkvist, T Cantillana, K Neil Persson, Livsmedelsverket och K Girma, Jordbruksverket.
22. Kartläggning av shigatoxin-producerande *E.coli* (STEC) på nötkött och bladgrönsaker av M Egervärn och C Flink.
23. The Risk Thermometer – a tool for comparing risks associated with food consumption, draft report by S Sand, R Bjerselius, L Busk, H Eneroth, J Sanner Färnstrand and R Lindqvist.
24. A review of Risk and Benefit Assessment procedures – development of a procedure applicable for practical use at NFS by L Abramsson Zetterberg, C Andersson, W Becker, P O Darnerud, H Eneroth, A Glynn, R Lindqvist, S Sand and N-G Ilbäck.
25. Fisk och skaldjur, metaller i livsmedel – fyra decenniers analyser av L Jorhem, C Åstrand, B Sundström, J Engman och B Kollander.
26. Bly och kadmium i vetetabilier odlade kring Rönnskårsverken, Skelleftehamn 2012 av J Engman, B Sundström och L Abramsson Zetterberg.
27. Bättre måltider i äldreomsorgen – vad har gjorts och vad behöver göras av K Lilja, I Stevén och E Sundberg.
28. Slutredovisning av regeringsuppdrag om näringsriktig skolmat samt skolmåltidens utformning 2012-2013 av A-K Quetel och E Sundberg.

1. Spannmål, fröer och nötter -Metaller i livsmedel, fyra decenniers analyser av L Jorhem, C Åstrand, B Sundström, J Engman och B Kollander.
2. Konsumenters förståelse av livsmedelsinformation av J Grausne, C Gössner och H Enghardt Barbieri.
3. Slutrapport för regeringsuppdraget att inrätta ett nationellt kompetenscentrum för måltider i vård, skola och omsorg av E Sundberg, L Forsman, K Lilja, A-K Quetel och I Stevén.
4. Kontroll av bekämpningsmedelsrester i livsmedel 2013 av A Jansson, P Fohgelberg och A Widenfalk.
5. Råd om bra matvanor – risk- och nyttohanteringsrapport av Å Brugård Konde, R Bjerselius, L Haglund, A Jansson, M Pearson, J Sanner Färnstrand och A-K Johansson.
6. Närings- och hälsopåståenden i märkning av livsmedel – en undersökning av efterlevnaden av reglerna av P Bergkvist, A Laser-Reuterswärd, A Göransdotter Nilsson och L Nyholm.
7. Serveras fet fisk från Östersjön på förskolor och skolor, som omfattas av dioxinundantaget av P Elvingsson.
8. The Risk Thermometer – A tool for risk comparison by S Sand, R Bjerselius, L Busk, H Eneroth, J Sanner Färnstrand and R Lindqvist.
9. Revision av Sveriges livsmedelskontroll 2014 – resultat av länsstyrelsernas och Livsmedelsverkets revisioner av kontrollmyndigheter av A Rydin, G Engström och Å Eneroth.
10. Kommuners och Livsmedelsverkets rapportering av livsmedelskontrollen 2014 av L Eskilsson och M Eberhardson.
11. Bra livsmedelsval för barn 2-17 år – baserat på nordiska näringsrekommendationer av H Eneroth och L Björck.
12. Kontroll av rests substanser i levande djur och animaliska livsmedel. Resultat 2014 av I Nordlander, B Aspenström-Fagerlund, A Glynn, A Törnkvist, T Cantillana, K Neil Persson, Livsmedelsverket och K Girma, Jordbruksverket.
13. Biocidanvändning och antibiotikaresistens av J Bylund och J Ottoson.