

HOVEDBUDSKAP

- I tannbehandling brukes klorheksidin til forebygging av infeksjoner og etter kirurgiske inngrep i munnhulen, men bakteriell resistens mot klorheksidin er et voksende problem.
- De viktigste funnene i denne studien er at orale mikroorganismer så vel som *E. coli*, under gitte omstendigheter kan utvikle nedsatt ømfintlighet mot klorheksidin.
- De praktiske implikasjonene av disse funnene viser hvordan vår bruk av klorheksidin kan generere bakterieresistens, men også hvordan vi kan motvirke dette.

FORFATTERE

Sabrena Amjad, tannlege. Follo Tannlegesenter, Ski
Ifrah Ahmed, tannlege. Kongsvinger Tannklinikk, Kongsvinger

Sana Shaddiq, tannlege. Grefsenveien Tannlegesenter, Oslo

Henning Sørum, professor. Avdeling for mattrygghet og infeksjonsbiologi, Fakultet for veterinærmedisin, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Oslo

Hans R. Preus, professor em. Avdeling for periodonti, IKO, Det odontologiske fakultet, Universitetet i Oslo

Korresponderende forfatter: Hans R. Preus, e-post: hpreus@odont.uio.no. Avd for Periodonti, IKO, Det odontologiske fakultet; Postboks 1109 Blindern, 0317 Oslo.

Akseptert for publisering 22.09.2021.

Artikkelen er basert på masteroppgave i odontologistudiet ved Universitetet i Oslo, 2018, av Sabrena Amjad, Ifrah Ahmed og Sana Shaddiq.

Artikkelen har gjennomgått ekstern faglig vurdering.

Amjad S, Ahmed I, Shaddiq S, Sørum H, Preus HR. Klorheksidinresistens. Et problem i emning. *Nor Tannlegeforen Tid.* 2021; 131: 1092-6.

Norsk MeSH: Antibakterielle stoffer; Klorheksidin; Desinfeksjonsmidler; Antibiotikaresistens, bakteriell

Klorheksidin-resistens: Et problem i emning

Sabrena Amjad, Ifrah Ahmed, Sana Shaddiq, Henning Sørum og Hans R. Preus

Resistens mot profylaktisk brukte biocider mot infeksjoner er en alvorlig utfordring for menneskers helse, og trolig en større utfordring enn antibiotikaresistens. Klorheksidin brukes utstrakt til å forebygge infeksjoner i medisin, odontologi og veterinærmedisin. Resistensutvikling er derfor svært viktig å oppdage og motvirke. Målet med denne studien var å se om det gikk an å utvikle resistens mot klorheksidin *in vitro* i noen vanlige humane orale bakterier og *Escherichia coli*, og å diskutere mulige konsekvenser basert på dagens litteratur. Fem vanlige, klorheksidinfølsomme bakterier fra dental biofilm og *E. coli* ble dyrket på medier med synkende konsentrasjoner av biocidet til de viste overlevelse ved 0,001 %. Deretter ble klorheksidin konsentrasjonen økt til bakteriestammene ikke lenger viste vekst. Resultatene viste at de orale bakteriene kun viste begrenset *in vitro* resistens mot klorheksidin, mens *E. coli* viste redusert ømfintlighet mot konsentrasjoner som finnes i alle kommersielt tilgjengelige munnhygieneprodukter i Norge. Resistensutvikling i orale bakterier ved daglig bruk av munnhygieneprodukter kan likevel ikke utelukkes. Men siden klorheksidin slippes ut i kloakk og avløpsvann, kan resistensutvikling i organismer som *E. coli* føre til, og uunngåelig spre seg fra denne nisjen til insekters, fuglers, menneskers og andre dyrs mikrobiomer.

Antibiotikaresistens utgjør i dag en alvorlig trussel mot infeksjonsbehandling over hele verden (1 - 5). Imidlertid er bakteriers resistens mot biocider, de profylaktiske tiltak mot infeksjoner, i ferd med å utvikle seg og utgjør en enda mer alvorlig trussel mot menneskers helse og velferd. Selv om dette er et svært alvorlig problem er det publisert relativt få rapporter på forekomst, mikrobiologi, genetik og kliniske kasus (6), til tross for at den første rapporten på klorheksidinresistens ble publisert på 1970 tallet (7)

Blant biocidene kjent innen tannbehandling, human-, og veterinærmedisin, er klorheksidinglukonat (CHX) det vanligst brukte desinfeksjonsmiddelet. Med et globalt produksalg i underkant av 160 millioner USD i 2016, og med en forventet økning til 178 millioner USD i 2021 (8), er CHX-resistens viktig å utforske, forebygge og motvirke. Rapporter antyder at biocidresistens erverves, men det kan også skyldes toleranse (9). Dermed var formålet med denne studien å se om det var mulig å utvikle ervervet motstand mot CHX in vitro i fem vel kjente, raskt voksende humane orale bakterier og tarmbakterien *Escherichia coli*, og i så fall diskutere konsekvensene basert på dagens litteratur.

Materiale og metoder

Eksperimentet ble utført fra januar 2017 til april 2018. Bakterier som ble brukt var *Streptococcus mitis* CCUG (Culture Collection of University of Gothenburg, Sweden) 31611 og 42984, *Streptococcus mutans* UAB (University of Alabama at Birmingham, USA) 159, *Actinomyces naeslundii* 10301, *Streptococcus salivarius* CCUG 11878 og *Escherichia coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922 (294). Laboratoriestammer ble bevisst brukt i stedet for kliniske isolater, da disse sannsynligvis ikke hadde blitt eksponert for biocider tidligere og derfor ikke hadde utviklet redusert følsomhet for disse.

Dyrkningsbetingelser var 5 dager på standard blodagar-medier ved 37°C i 5 % CO₂ i luft. Eksperimentet ble gjennomført på faste vekstmedier siden CHX-desinfisering i hovedsak utføres på overflater og at bakterier i flytende kultur er mer følsomme for antimikrobielle stoffer. Etter å ha oppnådd optimal vekst, ble mikroorganismene dyrket på blodagar med forskjellige konsentrasjoner av klorheksidin glukonat (CHX) (Sigma Aldrich, Oslo, Norge). I tillegg ble de ført videre på de ovenfor nevnte blodskålene.

Etter overføring fra rene blodskåler ble alle de 6 testorganismene startet på 0,06 % CHX-blodagar, noe som tilsvarer konsentrasjonen av kjente, reseptfrie CHX-produkter til daglig bruk. I tilfelle de ikke vokste ved denne CHX konsentrasjon, ble bakterier overført to ganger til med 5-dagers intervaller fra basale (CHX-frie blodagar plater) til 0,06 % CHX blodagar. Tre gjentatte negative overføringer ble akseptert som bevis på følsomhet for den CHX-konsentrasjo-

nen som ble testet. Når den første følsomheten var etablert, ble CHX-konsentrasjonen i vekstmediet redusert til 0,01 %, 0,005 % til 0,001 %, ved å bruke samme prosedyre for å etablere følsomhet som beskrevet ovenfor.

Etter å ha etablert vekst i nærvær av 0,001 % CHX i alle teststammene unntatt en, ble CHX-konsentrasjonen økt trinnvis via 0,005 %, 0,01 %, 0,05 %, 0,12 %, til eksperimentet ble avsluttet med 0,2 % CHX. Ved hver konsentrasjon, hvor testbakteriene ikke vokste, ble kopier av bakteriestammen fra den forrige lavere konsentrasjonen av CHX, hvor bakterien hadde vokst, testet på nytt. Tre gjentatte negative overføringer ble akseptert som følsomhet for den CHX-konsentrasjonen, selv om de hadde vist følsomhet ved en lavere.

Hvis det ikke ble observert vekst på en CHX-plate etter 5-dagers kultur, ble platens overflate skrapet av og overført til en ren blodagar-skål for å se om innholdet i avskrapet ville vokse på CHX-fritt medium (dvs. test toleranse (9) igjen). Hvis det var vekst på en plate, ble den overført til en blodagarplate med samme konsentrasjon av CHX som den mikroorganismen ble høstet fra, og holdt på denne konsentrasjonen i 10 overføringer for å bli miljøtilpasset før ytterligere eksponering for høyere konsentrasjoner. Overlevende bakterier ble frosset ned ved -90°C. En kopi ble oppbevart i kjøleskap for verifisering, mens en annen kopi ble overført til plater med økende CHX-konsentrasjon.

Resultater

Opprinnelig ble alle stammer utsatt for 0,06 % CHX. Unison in vitro resistens (følsomhet) for synkende CHX-konsentrasjoner ble vist helt ned til 0,001 %, der alle stammer - unntatt *S. salivarius* - vokste. Blant de orale bakteriene overlevde kun *A. naeslundii* høyere konsentrasjoner (0,01 %). Alle de testede orale stammene var sensitive for høyere CHX-konsentrasjoner, og ingen viste sovende overlevelse (dvs. toleranse eller utholdenhet (9)) i nærvær av CHX. *E. coli*, viste derimot ervervet in vitro resistens mot 0,2 % CHX, slutt-konsentrasjonen for dette eksperimentet, og den høyeste konsentrasjonen i reseptfrie orale skyllemidler i Norge. Tabell 1 viser hvilke CHX-konsentrasjoner de forskjellige bakteriestammene var i stand til å vokse på etter å ha vist resistens ved 0,001 %.

Diskusjon

Resultatene av dette enkle eksperimentet har vist at flere av de opprinnelig CHX-følsomme bakteriene overlevde høyere konsentrasjoner av biocidet etter at de in vitro ble utsatt for subkliniske konsentrasjoner av CHX (tabell 1). Etter å ha vist vekst ved 0,001 % CHX, var *E. coli* i stand til å vokse ved 0,2 % CHX. I denne studien fokuserte vi på å teste konsentrasjoner av orale CHX-skyllvæsker

Tabell 1. Overlevelse av bakteriestammene i nærvær av forskjellige konsentrasjoner av klorheksidin (CHX)

CHX konsentrasjon	0,001%	0,005%	0,01%	0,05%	0,12%	0,2%
S. salivarius CCUG 11878	-	-	-	-	-	-
S. mitis CCUG 31611	Vekst	-	-	-	-	-
S. mutans UAB 159	Vekst	-	-	-	-	-
S. mitis CCUG 42984	Vekst	Vekst	-	-	-	-
A. naeslundii 10301	Vekst	Vekst	Vekst	-	-	-
E. coli ATCC 25922 (294)	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst

CCUG: Culture Collection of University of Gothenburg, Sweden

AUB: University of Alabama at Birmingham, USA

ATCC: American Type Culture Collection

(0,06 %, 0,12 %, 0,2 %), siden disse representerer markedssegmentet som bidrar mest til det totale forbrukervolumet av CHX (8).

Dette eksperimentet registrerte ikke den minimale veksthemmende konsentrasjonen (minimum inhibitory concentration = MIC), og heller ikke den minimale bakteriedrepende konsentrasjonen (minimum bacteriocidal concentration = MBC) av CHX. Det var et in vitro eksperiment med et lite antall organismer, men bør kunne sees på som et «proof of concept». Kommersielle testsystemer for CHX resistens finnes ikke på markedet enda, men vil nødvendigvis bli utviklet etter som dette problemet blir mer omfattende. Klinisk utføres de fleste profylaktiske CHX-prosedyrer på overflater, og dermed kan et in vitro-eksperiment, som det presenteres her, være nok til å trekke forsiktige konklusjoner fra. CHX-resistens er et stigende problem (6) og noen forskere har i innlegg og diskusjoner tatt til orde for helt å avskaffe bruken av CHX i tannbehandling, selv om det ikke finnes støtte for dette i litteraturen. Tvert imot, men med forsiktighet, indikerer dette eksperimentet og litteraturoversikten noe annet som diskutert nedenfor.

Bakteriell resistens mot CHX er rapportert hos flere bakteriearter, inkludert *E. coli*, *Klebsiella* spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp, *Salmonella* spp, *Pseudomonas* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Acinetobacter* spp, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter anitratus*, *Proteus* spp, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, koagulase-negative stafylokokker, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, VRE (vancomycin-resistant enterococcus gjennomgått i ref. 6) og vanlige karies - og periodontittassosierte bakterier (10,11).

CHX angriper produksjonen av fosfolipider og proteiner i bakteriens cytoplasmamembran (12). Inaktivering, permeabilitetsreduksjon og spesielt effluksmekanismer er mekanismer som hittil er

beskrevet (13, 14). Dermed, og ikke overraskende, har kryssresistens blitt vist med antibiotika (6, 15 - 17). Selv om kromosombundne mutasjoner er foreslått (13), ser de fleste av disse resistensgenene ut til å være plasmidbundet (18, 19), noe som kan forklare lateral spredning av CHX-resistens (19, 20).

Våre resultater indikerer at det er *liten mulighet for å utvikle CHX-resistens i orale bakterier ved kort tids eksponering* mot terapeutiske konsentrasjoner (dvs. 2–3 uker med 0,2 - 0,1 % CHX) i orale skyllevæsker. Det er faktisk vist at plakk (biofilm)-inhiberende effekt av 1 % CHX (10 mg/g) tannkrem var uendret etter to års kontinuerlig bruk (21), og at den bakteriologiske sammensetningen av tungefloraen var uendret etter fire måneders skylling med høye konsentrasjoner (0,1 %, 0,2 %) av CHX (22). Imidlertid kan kontinuerlig bruk av lavkonsentrert CHX (0,06 %, 0,05 %) to ganger daglig, som er anbefalt av produsenter, ikke utelukkes som mulig kilde til lokal resistensutvikling. Dette skyldes at skyllevæskerkonsentrasjoner (0,05 %, 0,06 % CHX) vil reduseres i nisjer i munnhulen siden munnslimhinnen fungerer som et depot for frigjøring av CHX i opptil 12 timer etter skylling (23). Således, hvis det er en nedre konsentrasjonsgrense der orale bakterier kan bli CHX-ufølsomme, som i det herværende eksperiment, kan situasjonen i munnhulen etter skylling to ganger daglig med lavkonsentrert CHX over lengre perioder favorisere seleksjon av CHX-ufølsomme orale bakterier. Selv små mengder CHX vil uunngåelig bli svelget og på samme måte, og hypotetisk, bli presentert for tarmfloraen, der *E. coli* er rikelig representert, i konsentrasjoner som kan generere CHX ufølsomhet. Enda viktigere er at slike konsentrasjoner av CHX, anbefalt i daglige skylleprodukter, er vist uten klinisk verdi for forbrukeren (24).

At *E. coli* utviklet stabil CHX ufølsomhet ved 0,001 % CHX, og at in vitro-resistens mot høyere og profylaktiske konsentrasjoner også ble vist, er bekymringsfullt. Slike lave, resistensgenererende

gradientkonsentrasjoner av CHX finnes teoretisk i nærheten av behandlingssteder hos enkeltpasienter og deres omgivelser ved og kort tid etter behandling. Imidlertid eksponerer ikke disse CHX konsentrasjonene kontinuerlig mikroorganismene, som f.eks. den daglige og langsiktige bruken av orale CHX-skyllvæsker der ufølsomhet kan oppstå over tid. På den annen side er det funnet lave og resistensgenererende konsentrasjoner av CHX i kloakk og avløpsvann fra sykehus, tannklinikker, bedrifter og til og med boligsamfunn, hvor CHX brukes (25, 26) daglig. Her vil CHX-produkter uten nyttig klinisk effekt (24) eller etter ineffektive kliniske CHX-dekontaminasjonsprosedyrer (6), derfor kun bidra til resistensgenererende avløpsvannkonsentrasjoner. I dette miljøet, der *E. coli* er rikelig representert, vil CHX-ufølsomhet uunngåelig forekomme, og spredning fra denne nisje til insekters, fisk, menneskers og andre dyrs mikrobiomer uunngåelig skje (27). En klorheksidinresistent *A. hydrophila* har allerede blitt isolert fra en drikkevannskilde (28), et alarmerende funn på grunn av denne bakteriens evne til å spre seg i vann, inkludert drikkevannsbassenger, samt å skape infeksjoner hos mennesker og andre dyr. Den alvorligste utviklingen av CHX-ufølsomhet vil derfor sannsynligvis ikke finne sted på stedet for bruk og terapi, men i kloakk og avløpsvann fra menneskelig aktivitet (29).

Mulige tiltak

Det er noen tiltak som bør vurderes for å redusere resistens mot CHX:

1. Canada har et program for å motvirke utvikling av CHX-resistens (29). Flere nasjoner burde følge.
2. CHX-holdige produkter eller prosedyrer med ikke-dokumentert effekt bør trekkes ut av markedet. Hos tannlegen vil dette bety å fjerne produkter med 0,12 % og lavere konsentrasjoner av CHX (6, 24).
3. Det er et behov for medisinsk - og odontologisk vitenskapelige miljøer å evaluere nytten av forskjellige prosedyrer som involverer CHX, og om nødvendig må CHX-produktet som resulterer i at færre CHX-molekyler slippes ut i avløpsvannet favoriseres (f.eks. gå over fra skyllvæsker til gel der det er mulig).
4. Det er behov for filtreringsprosedyrer for binding eller inaktivering av CHX på bruksstedene, dvs. i avløpsvann fra sykehus, sykehjem og klinikker som bruker slike biocider. Siden de kommunale rørsystemene i de fleste byer rundt om i verden er gamle og lekkere i stort omfang (30, 31), vil filtreringsprosedyrer ved sentrale avløpsanlegg ikke være effektive.
5. Det er et behov for medisinske-, odontologiske- og veterinær-miljøer å oppgradere og sikre sine enkle hygieniske tiltak.

REFERANSER

1. World Bank. (2017) Drug resistant infections: A threat to our economic future. <http://www.worldbank.org/en/topic/health/publication/drug-resistant-infections-a-threat-to-our-economic-future>
2. WHO. (2014). Antimicrobial resistance. Global report on surveillance 2014. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1
3. Woolhouse M, Farrar J. POLICY: An intergovernmental panel on antimicrobial resistance. *Nature*. 2014; 509: 555–557.
4. WHO. The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action. WHO Press, World Health Organization, 2012. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/iris/handle/10665/44812>
5. ECDC/EMA. The bacterial challenge. Time to react. ECDC/EMA joint technical report. 2009. https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf
6. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine – is it time to establish an ‘antiseptic stewardship’ initiative? *J Hospital Infect*. 2016; 94: 213–227.
7. Rindom Schiött C, Löe H, Börglum Jensen S, Kilian M, Davies RM, Glavind K. The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodont Res*. 1970; 5: 84–89.
8. Global Chlorhexidine Gluconate (CHG) Solution Market 2018 by Manufacturers, Regions, Type and Application, Forecast to 2021 <https://www.globalinfoceresearch.com/search/?Keywords=Chlorhexidine>
9. Brauner A, Fridman O, Gefen O, Balaban NQ. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nature Rev Microbiol*. 2016; 14: 320–330.
10. Saleem HG, Seers CA, Sabri AN, Reynolds EC. Dental plaque bacteria with reduced susceptibility to chlorhexidine are multidrug resistant. *BMC Microbiol*. 2016; 16: 214. DOI: 10.1186/s12866-016-0833-1
11. Kulik EM, Waltimo T, Weiger R, Schweiger I, Lenkeit K, Filipuzzi-Jenny E. Development of resistance of mutans streptococci and Porphyromonas gingivalis to chlorhexidine digluconate and amine fluoride/stannous fluoride-containing mouthrinses, in vitro. *Clin Oral Invest*. 2015; 19: 1547–1553.
12. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999; 12: 147–179.
13. Longtin J, Seah K, Siebert K, McGeer A, Simor A, Longtin Y. & al. Distribution of antiseptic resistance genes qacA, qacB, and smr in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated in Toronto, Canada, from 2005 – 2009. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55: 2999–3001.
14. Webber MA, Piddock LJ. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 51: 9–11.
15. Mayer S, Boos M, Beyer A, Fluit AC, Schmitz F.-J. Distribution of the antiseptic resistance genes qacA, qacB and qacC in 497 methicillin-resistant and -susceptible European isolates of Staphylococcus aureus. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 47: 896–897.
16. Tattawasart U, Maillard JY, Furr JR, Russell AD. Development of resistance to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride in Pseudomonas stutzeri and changes in antibiotic susceptibility. *J Hosp Infect*. 1999; 42: 219–229.
17. Baines SL, Jensen SO, Firth N, da Silva J, Seeman T, Carter GP, et al. Remodeling of pSK1 family plasmids and enhanced chlorhexidine tolerance in a dominant hospital lineage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus that possesses ability to confer chlorhexidine and acrinol resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63: e02356-18. DOI: 10.1128/AAC.02356-18
18. Russell AD. Plasmids and bacterial resistance to biocides. *J Appl Microbiol*. 1997; 83: 155–165.
19. Yamamoto T, Tamura Y, Yokota T. Antiseptic and antibiotic resistance plasmid in Staphylococcus aureus that possesses ability to confer chlorhexidine and acrinol resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988; 32: 932–935.

20. LaBreck, PT, Rice GK, Paskay AC, Elassalet EM, Cer RZ, Law NN, et al. Conjugative transfer of a novel staphylococcal plasmid encoding the biocide resistance gene, qacA. *Front Microbiol.* 2018; 9: 2664. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02664
21. Gjerme P, Eriksen HM. Unchanged plaque inhibiting effect of chlorhexidine in human subjects after two years of continuous use. *Arch Oral Biol* 1974; 19: 317 – 319.
22. Flötra L, Gjerme P, Rølla G, Waerhaug J. Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scand J Dent Res.* 1971; 79: 119–125.
23. Gjerme P, Bonesvoll P, Rølla G. Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol.* 1974; 19: 1031–1034.
24. Haydari M, Bardakci AG, Koldslund OC, Aass AM, Sandvik L, Preus HR. Comparing the effect of 0,06 %, 0,12 % and 0,2 % Chlorhexidine on plaque, bleeding and side effects in an experimental gingivitis model. A parallel, double masked, randomized, placebo-controlled clinical trial. *BMC Oral Health J.* 2017; 17: 118. DOI: 10.1186/s12903-017-0400-7.
25. Östman M, Lindberg RH, Fick J, Björn, E, Tysklind, M. Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater. *Water Res* 2017;115: 318 – 328.
26. Nunez L, Moreton J. Disinfectant-resistant bacteria in Buenos Aires city hospital wastewater. *Braz J Microbiol.* 2007; 38, Online <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822007000400012>
27. Jutkina J, Marathe NP, Flach CF, Larsson DGJ. Antibiotics and common antibacterial biocides stimulate horizontal transfer of resistance at low concentrations. *Sci Tot Environ.*, 2018; 616-617:172-178. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.312.
28. Sekavec JG, Moore WT, Gillock ET. Chlorhexidine resistance in a Gram-negative bacterium isolated from an aquatic source. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2013; 48:1829-1834. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10934529.2013.823338>
29. Canada Health Agenda. Risk Management Scope for Chlorhexidine and its Salts. Environment and climate change. Canada. Health Agenda. 2017. http://www.ec.gc.ca/ese-ees/F9A9B4FE-6F84-4F5A-9539-4CC3A92F8F57/RM%20Scope%20Chlorhexidine%20Moiety_En.pdf
30. Wolf L, Held I, Eiswirth M, Hötzl H. Impact of leaky sewers on groundwater quality. *Acta Hydrochim Hydrobiol.* 2004; 32: 361–373
31. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ahel.200400538>
32. Berge G, Sæther MS. Municipal wastewater, 2012. Statistics Norway 2013. https://www.ssb.no/en/natur-og-miljo/statistikker/var_kostr/aar/2013-06-26

Alle internetreferanser testet og funksjonelle 13.09.2021.

ENGLISH SUMMARY

Amjad S, Ahmed I, Shaddiq S, Sørnum H, Preus HR.

The emerging challenge of acquired bacterial chlorhexidine resistance

Nor Tannlegeforen Tid. 2021; 131: 1092-6.

Resistance to biocides used prophylactically against infections is a serious challenge to human health, possibly more than paralleling antibiotic resistance. In medicine, dentistry and veterinary medicine, chlorhexidine is used to prevent infections. Development of resistance is therefore very important to be aware of, and to counteract. The aim of this experiment was therefore to develop resistance to chlorhexidine *in vitro* in some common human oral bacteria and *Escherichia coli*, and to discuss possible consequences based on current literature. Five common, chlorhexidine sensitive bacteria from dental biofilm and *E. coli* were cultured on media with decreasing concentrations of the biocide until they showed

survival at 0.001%. Subsequently, the chlorhexidine concentration was increased until the bacterial strains no longer grew. The results showed that the oral bacteria showed only limited resistance to chlorhexidine, while *E. coli* showed resistance to concentrations found in all known and commercially available oral hygiene products in Norway. Development of resistance in oral bacteria with daily use of oral hygiene products cannot be ruled out. However, since chlorhexidine is released into sewers and wastewater, the development of resistance in organisms such as *E. coli* can lead to, and inevitably spread from, this niche to the microbiomes of insects, birds, humans and other animals.