Wageningen UR Livestock Research

Partner in livestock innovations

Rapport 690

Onderzoek naar de resistentie van de bruine rat in Nederland - 2012

April 2013

LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR

Colofon

Uitgever
Wageningen UR Livestock Research
Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Telefoon 0320 - 238238
Fax 0320 - 238050
E-mail info.livestockresearch@wur.nl
Internet http://www.livestockresearch.wur.nl

Redactie
Communication Services

Copyright
© Wageningen UR Livestock Research, onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, 2013
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

Aansprakelijkheid
Wageningen UR Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Wageningen UR Livestock Research en Central Veterinary Institute, beiden onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek vormen samen met het Departement Dierwetenschappen van Wageningen University de Animal Sciences Group van Wageningen UR (University & Research centre).

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.

De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Abstract
Development and application of a quick test for resistance of brown rats against rodenticides

Keywords
Resistance, rats, mutation, rodenticide, anticoagulants

Referaat
ISSN 1570 - 8616

Auteur(s)
T.A.J. van der Lee, Plant Research International (PRI)
M.P.E. van Gent - Pelzer, Plant Research International (PRI)
H. Schilder, Wageningen UR Livestock Research
J.W.H. Huis in 't Veld, Wageningen UR Livestock Research
B.G. Meerburg, Wageningen UR Livestock Research

Titel
Onderzoek naar de resistentie van de bruine rat in Nederland - 2012

Rapport 690

Samenvatting
Resultaten van een onderzoek naar het voorkomen van genetische mutaties bij bruine ratten in Nederland

Trefwoorden
Resistentie, ratten, mutatie, rodenticide, anticoagulantia

LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR

Rapport 690

Onderzoek naar de resistentie van de bruine rat in Nederland - 2012

T.A.J. van der Lee, Plant Research International (PRI)
M.P.E. van Gent - Pelzer, Plant Research International (PRI)
H. Schilder, Wageningen UR Livestock Research
J.W.H. Huis in ’t Veld, Wageningen UR Livestock Research
B.G. Meerburg, Wageningen UR Livestock Research

April 2013

Voorwoord

Vanuit haar verantwoordelijkheid voor het Beleidsprogramma Biociden heeft het toenmalige ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening & Milieu (inmiddels Infrastructuur en Milieu) een ‘Initiatiefgroep Plaagdierbestrijding’ opgericht. Binnen deze initiatiefgroep is getracht de problemen in de sector via een aantal werkgroepen te identificeren en nieuwe oplossingsrichtingen te vinden. Een van de problemen waarop men zich richt is het onderwerp resistentie.
Vanwege het belang van dit thema is in opdracht van de overheid door Wageningen UR een TaqMan PCR-test ontwikkeld waarmee genetische resistentie tegen rodenticiden bij de bruine rat in Nederland kan worden vastgesteld. Daarnaast is er een voorstudie gedaan naar het daadwerkelijk voorkomen van deze resistentie. In deze voorstudie werden met behulp van de nieuwe test 61 wilde bruine ratten afkomstig uit allerlei regio’s in Nederland onderzocht. Van dit aantal bleken er 24 verminderd gevoelig (resistent) te zijn voor gifstoffen. De ratten zijn kennelijk zo geëvolueerd dat zij wel van het gif eten, maar er minder makkelijk dood aan gaan. Dit is een alarmerende situatie omdat hiermee mogelijk de volksgezondheid in gevaar kan komen. De staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu heeft daarom aanvullend onderzoek toegezegd aan de Tweede Kamer (d.d. 27-10-2011, kenmerk BSK-2011/147182). De resultaten van dit aanvullende onderzoek is te vinden in dit rapport. Financiering vond plaats door het Ministerie van Infrastructuur en Milieu. Wij danken de betrokken beleidsmedewerkers, Rob van Ittersum en Jolanda Roth-Postema, voor hun constructieve houding tijdens dit onderzoek.

De auteurs
Lelystad/Wageningen, maart 2013

Samenvatting

Dit rapport bevat de resultaten van een onderzoek naar rodenticide-resistentie bij de bruine rat in Nederland door middel van onderzoek rattenkeutels. Door middel van een publieksactie werden in totaal 361 monsters verkregen. Hiervan waren er 290 bruikbaar en voldeden aan de uiterlijke kenmerken van bruine ratten. Van deze monsters lieten uiteindelijk 121 monsters (41%) geen reactie zien. Dit kunnen bijvoorbeeld monsters zijn waaruit onvoldoende DNA geïsoleerd kon worden of monsters die qua uiterlijk wel van bruine ratten zouden kunnen zijn, maar toch van andere diersoorten afkomstig zijn. Uiteindelijk bleven er dus 169 monsters over waarbij een testuitslag zichtbaar was (59%). Van deze monsters waren 131 (75%) afkomstig van niet-resistente ratten (wild-type) en 42 (25%) waren afkomstig van verminderd gevoelige ofwel resistente ratten. Hoewel het percentage resistente ratten over heel Nederland dus lijkt mee te vallen, is het vermoeden dat in bepaalde regio's dit percentage waarschijnlijk veel hoger ligt. Homozygoot resistente dieren met de Duitse mutatie (cys-cys) werden niet alleen aangetroffen in die regio's waarvan al langer bekend is dat er resistentie kan optreden (Twente, Achterhoek), maar ook in de regio Rotterdam en de Noord-Oostpolder. Ook homozygote resistente dieren met de Franse mutatie (phe-phe) werden op meerdere locaties in het land aangetroffen: in de Gelderse Vallei, Zuid-Oost Brabant en Noord-Limburg. Daarnaast lijken heterozygoot resistente dieren met zowel de Duitse (tyr-cys) als de Franse (tyr-phe) mutaties zich verder door Nederland te verspreiden. Transport (o.a. via scheepvaart) kan hierbij als mogelijke oorzaak worden aangegeven.

Summary

This report contains the results of a study on rodenticide resistance in brown rats in the Netherlands through research of rat droppings. By involvement of the general public, a total of 361 samples was obtained. Of these, 290 were usable and met the appearance of brown rat droppings. Of these samples, 121 (41%) showed no reaction. This could include samples in which insufficient DNA was isolated and samples that looked similar to droppings of brown rats, but in fact came from other animal species. Thus, 169 samples remained with a test result (59%). Of these samples 131 (75%) were originating from non-resistant rats (wild-type) and 42 (25%) were derived from less-sensitive or resistant rats. Although the percentage of resistant rats throughout the Netherlands is limited, it is suspected that in some regions this percentage can be much higher. Homozygous resistant animals with the German mutation (cys-cys) were not only found in those regions which have long known that resistance may occur (Twente, Achterhoek), but also in the Rotterdam region and the Noord-Oostpolder. Also homozygous resistant animals with the French mutation (phe-phe) were in found in multiple locations throughout the country: in the Gelderse Vallei, South-East Brabant and North Limburg. Moreover, heterozygous resistant animals with both the German (tyr-cys) and French (tyr-phe) mutations continue to spread across the Netherlands. It is indicated that transportation (eg via shipping) could be a possible cause for this.

Inhoudsopgave

Voorwoord

Samenvatting

Summary

1 Inleiding 1

1.1 Achtergrond 1

1.2 Projectdoelstelling 1

2 Materiaal & Methoden 1

2.1 Toets-ontwikkeling 1

2.2 Optimale inzet media 1

2.3 Materiaal & Methode 5

2.3.1 Afhandeling van de inzendingen 5

2.3.2 Extractie van DNA uit rattenkeutels 5

2.3.3 TaqMan toets 5

3 Resultaten 10

4 Conclusies 17

Vervolg 18

1 Inleiding

1.1 Achtergrond

Met behulp van een door Wageningen UR ontwikkelde snelle test (TaqMan) is in 2011 een onderzoek uitgevoerd (Van der Lee *et al.*, 2011) om genetische mutaties bij bruine ratten (*R. norvegicus*) vast te stellen die duiden op het optreden van verminderde gevoeligheid tegen rodenticiden (resistentie). Uit dit onderzoek, waarbij 61 monsters werden onderzocht, bleek dat als gevolg van genetische mutaties 84% van de bruine ratten verminderd gevoelig was voor rodenticiden.

In 2012 werd daarom een vervolg nagestreefd om zoveel mogelijk materiaal van bruine ratten te onderzoeken, afkomstig uit diverse regio's van het land.

1.2 Projectdoelstelling

Hoofddoel van dit project was om met de ontwikkelde TaqMan zoveel mogelijk dierlijk materiaal van bruine ratten (staarten en keutels) te testen op aanwezigheid van genetische mutaties.

2 Materiaal & Methoden

2.1 Toets-ontwikkeling

Vanuit het oogpunt van efficiëntie en het beperkt beschikbare budget was het noodzakelijk om te testen of met behulp van keutels van bruine ratten de genetische mutaties zouden kunnen worden vastgesteld. Hiervoor werd de moleculaire test gebruikt die eerder werd ontwikkeld, en losgelaten op referentiemateriaal (keutels *R. norvegicus*). Uit dit onderzoek bleek dat de test, met geringe aanpassingen, kon worden gebruikt voor het toetsen op genetische mutaties.

2.2 Optimale inzet media

Om een zo breed mogelijk beeld te krijgen van het voorkomen van genetische mutaties onder de populatie bruine ratten was het wenselijk om vanuit alle delen van het land materiaal toegezonden te krijgen. Mede hierom werd besloten om een media-campagne rond het onderzoek op te zetten. Speciaal voor het onderzoek werd de interactieve website www.bruinerat.nl opgezet, waarop alle informatie over het onderzoek te vinden was en waarop ook de tussenresultaten te vinden waren. De hele mediastrategie richtte zich op het toesturen van rattenkeutels door het grote publiek; van het beperkte onderzoeksbudget zou dan optimaal gebruik kunnen worden gemaakt. Voor rattenkeutels werd gekozen, omdat het publiek het opsturen van rattenstaarten te eng zou kunnen vinden, waardoor dat aantal mogelijk zou tegenvallen. In samenspraak met de afdeling wetenschapsvoorlichting van Wageningen UR werd gekozen om begin augustus 2012 een persbericht de wereld in te sturen. Er was juist voor dit moment gekozen, omdat dit tijdens de vakantie en Olympische Spelen viel en er dan

een grote behoefte aan nieuws bestaat ('komkommertijd'). Uiteindelijk bracht dit persbericht een storm van media-aandacht teweeg om zo het grote publiek te bewegen om rattenkeutels op te sturen en dit bleef zo gedurende het gehele onderzoek.

De volgende media brachten het nieuws over het resistentieonderzoek (Tabel 1):

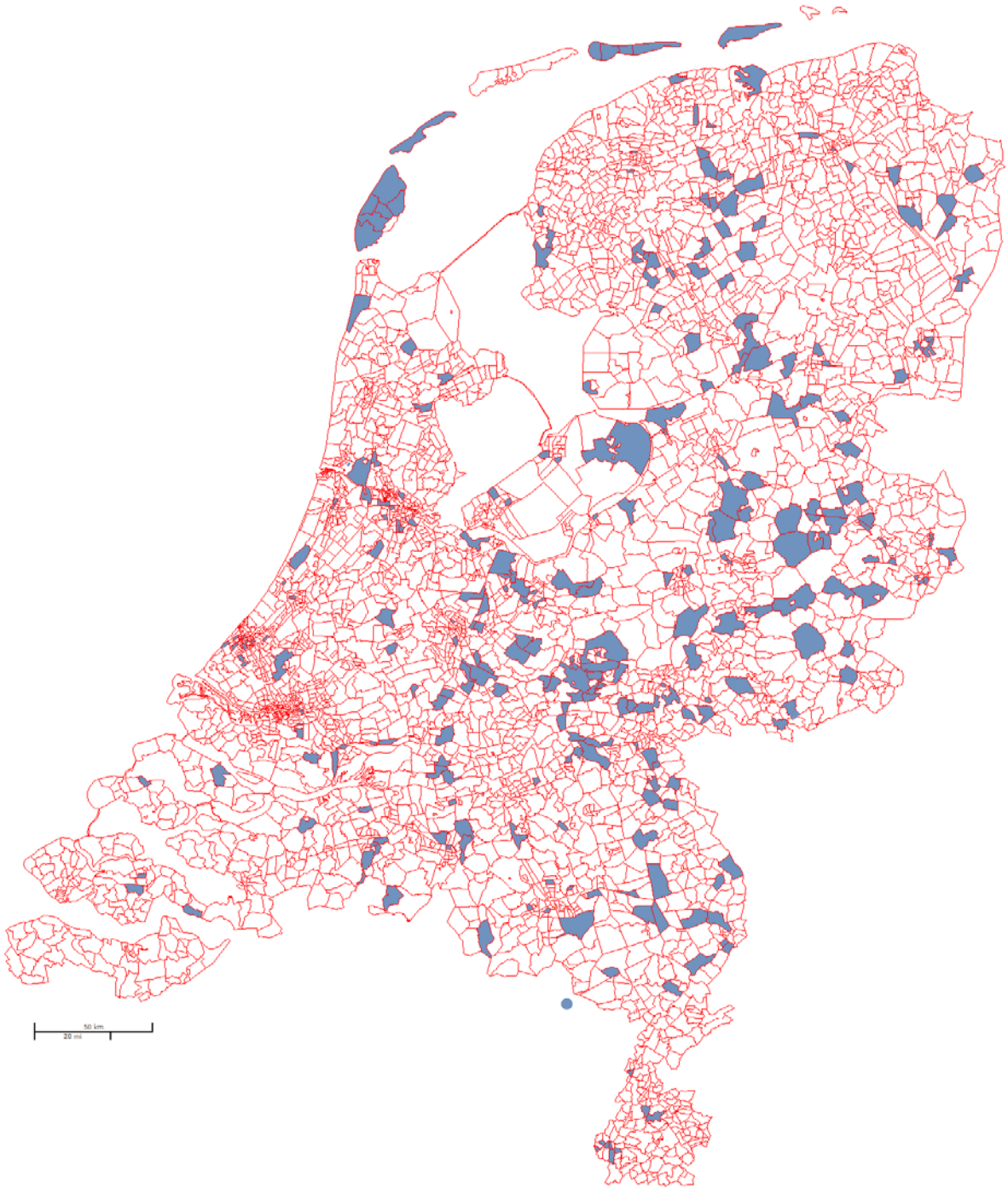
***Tabel 1**. Overzicht van diverse bronnen die berichtten over het onderzoek naar rattenkeutels*

Medium	**Datum**
BNR Radio	07-08-2012
NOS Teletekst	07-08-2012
NOS Radio 1 Journaal	08-08-2012
Radio 5 Omroep Max (Wekker Wakker)	08-08-2012
RTV Oost	08-08-2012
Radio Gelderland	08-08-2012
Radio M	08-08-2012
Radio 538 (Ruud de Wild)	08-08-2012
De Telegraaf (voorpagina)	08-08-2012
Resource (Wageningen UR)	16-08-2012
TROS Radio Nieuwsshow	17-08-2012
Resource (Wageningen UR)	30-08-2012
Volkskrant	01-09-2012
VARA Radio 1 DeGids.fm	10-09-2012
Leeuwarder Courant	27-10-2012
Wageningen World (relatiemagazine)	Winter 2012
Dierplagen Informatie	Nr. 4. 2012
ANP	31-12-2012
O.a. Nu.nl/Telegraaf.nl	31-12-2012
Sky Radio	31-12-2012
Brabants Dagblad	02-01-2013
Gelderlander/Stentor/Tubantia/Leids Dagblad/Gooi&Eemlander/Limburger	05-01-2013

Bovenstaande aandacht leidde ertoe dat de website www.bruinerat.nl door het grote publiek veelvuldig werd bezocht (gemiddeld ongeveer 100 unieke bezoekers per dag) en er ook veel keutels werden opgestuurd. De kracht van de media wordt onder meer zichtbaar in Figuur 1, dat een overzicht toont van de periode rond 31 december 2012 toen er maar liefst 854 unieke bezoekers de website bezochten.

Figuur 1: De kracht van de media.

Naast het inzetten van het grote publiek werden door medewerkers van Wageningen UR Livestock Research ook professionele bestrijdingsbedrijven benaderd om monsters toe te sturen. Uiteindelijk was de 'oogst' per op 25 januari 2013 een totaal van 361 keutels. Deze keutels waren afkomstig uit heel Nederland (zie Figuur 2), en zelfs uit België vond één inzending haar weg naar Wageningen. Alleen uit delen van Drenthe, Zeeuws-Vlaanderen, Noord-Oost Groningen en Limburg werden relatief weinig keutels ingestuurd. Overigens gaat het bij inzendingen van particulieren niet altijd om keutels van bruine ratten, soms werden ook keutels van bijvoorbeeld muizen ingezonden. Desondanks vormt het aantal een voldoende basis om het onderzoek verder uit te voeren.



Figuur 2: Overzicht van de viercijferige postcodegebieden (paars), waarvandaan monsters naar Wageningen werden opgestuurd.

2.3 Materiaal & Methode

2.3.1 Afhandeling van de inzendingen

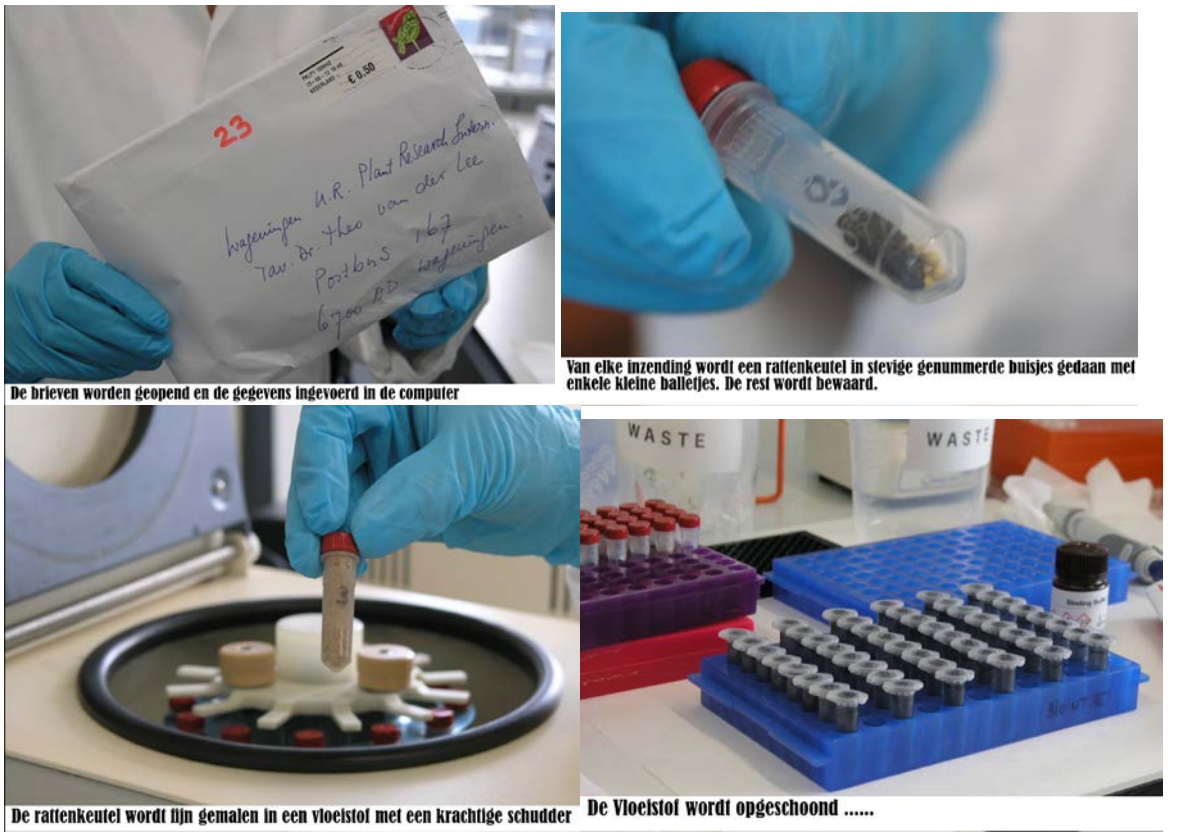
De ingezonden monsters werden voorzien van een uniek volgnummer (Figuur 3a). De bijbehorende gegevens zoals postcode, huisnummer, visuele beoordeling van het materiaal, datum, afzender en eventuele andere mededelingen werden ingevoerd in een Excel tabel. Eventueel bijgevoegde brieven zijn onder het unieke volgnummer gescand.

2.3.2 Extractie van DNA uit rattenkeutels

DNA werd geïsoleerd met behulp van de een commerciële extractie kit volgens het door hun aanbevolen protocol (InviMag Stool DNA Kit/ KFflex 96). Van elke inzending werd één ratten keutel overgebracht naar een reactievaatje (Figuur 3b). De keutel werd twee maal met balletjes in een lysisbuffer geschud (Figuur 3c). Na centrifugatie werd bovenstaande donkere vloeistof in een reactievaatje met adsorberende matrix overgebracht. (Figuur 3d). De opgeschoonde vloeistof werd na centrifugatie overgebracht naar een 96 wells blok. Vervolgens werd het DNA geïsoleerd met een KingFisher Robot (Figuur 3e). Het DNA werd 10 maal verdund en gebruikt voor de TaqMan (Figuur 3f).

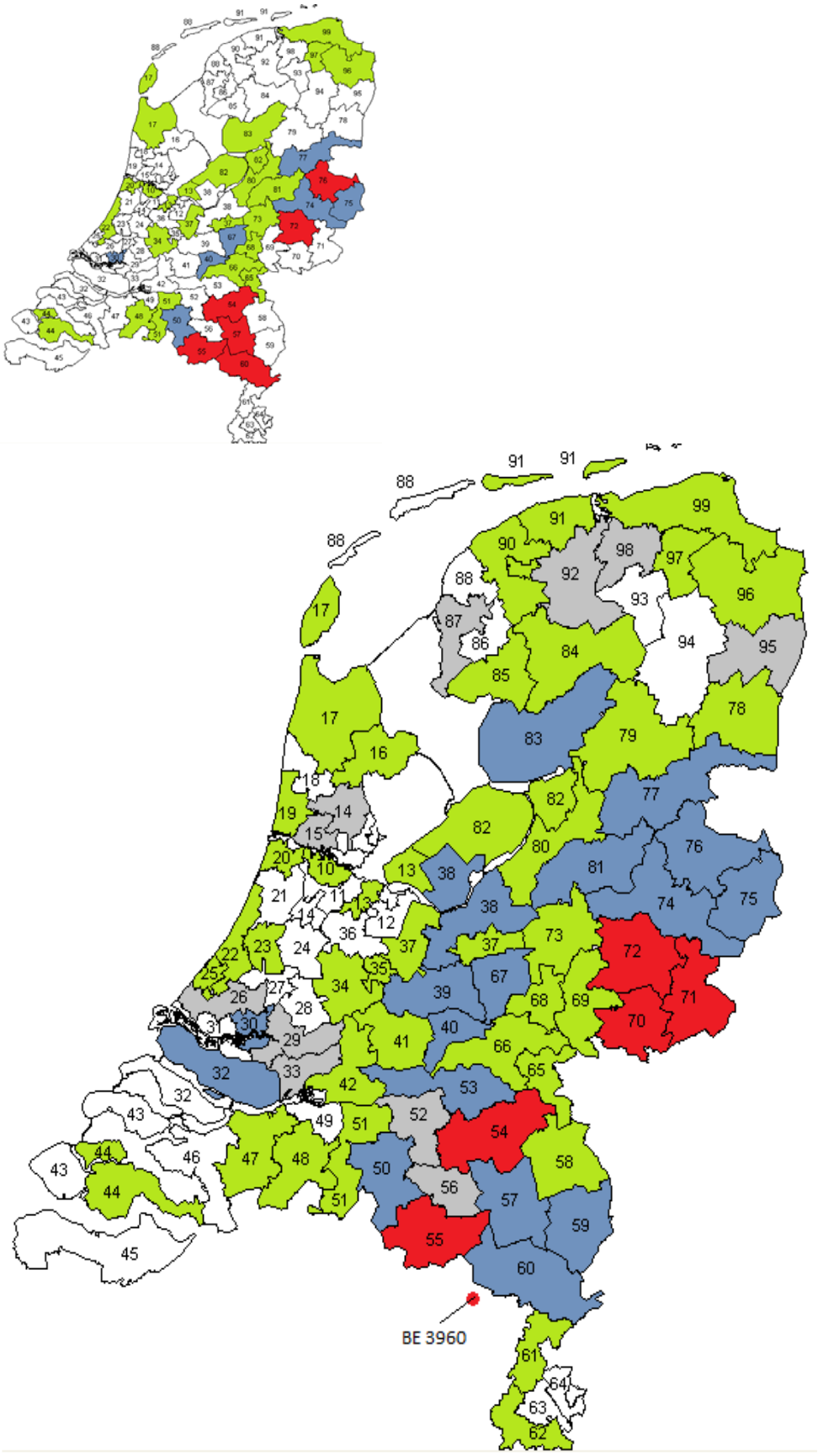
2.3.3 TaqMan toets

Voor de TaqMan werd 5 µl DNA met 300 nM van de bijbehorende primers (Tyr139-Forward en Tyr139 reverse) en 100 nM probe van elk van de drie probes (Tyr139 FAM, Tyr139 NED, in 25 µl TaKaRa Premix Ex Taq (Perfect Real Time) mix. De PCR start met 2 minuten bij 95°C vervolgens werden 45 cycli uitgevoerd met de temperatuurstappen 95°C (15 sec) en 60°C (1 min). De profielen werden vervolgens visueel gescoord.



Figuur 3: Foto's van de onderzoeksprocedure

Het grote publiek kon gedurende het onderzoek ook de tussenresultaten volgen (zie Figuur 4). Dit leidde tot veel positieve feedback, onder meer via het contactformulier op de site www.bruinerat.nl en ook enkele aanvullende vragen, die wij als onderzoekers konden beantwoorden. Overigens is de inkleuring arbitrair, want al op basis van één gevonden resistente rat kon een postcodegebied al rood kleuren. Daarom is een totaaloverzicht van de aantallen monsters per postcodegebied ook belangrijk en te vinden in Bijlage 1.



Figuur 4: De tussenresultaten op 5 december 2012 (boven) en het eindresultaat op 25 januari 2013 (onder), de kaart van Nederland op basis van tweecijferige postcodegebieden werd door de tijd steeds gekleurder. Groen betekent geen resistente ratten aangetroffen, blauw is

zowel resistente als niet-resistentie ratten aangetroffen, rood betekent uitsluitend resistente ratten aangetroffen. Uit lichtgrijze gebieden zijn weliswaar monsters ingestuurd, maar deze lieten bij de test geen reactie zien.

3 Resultaten

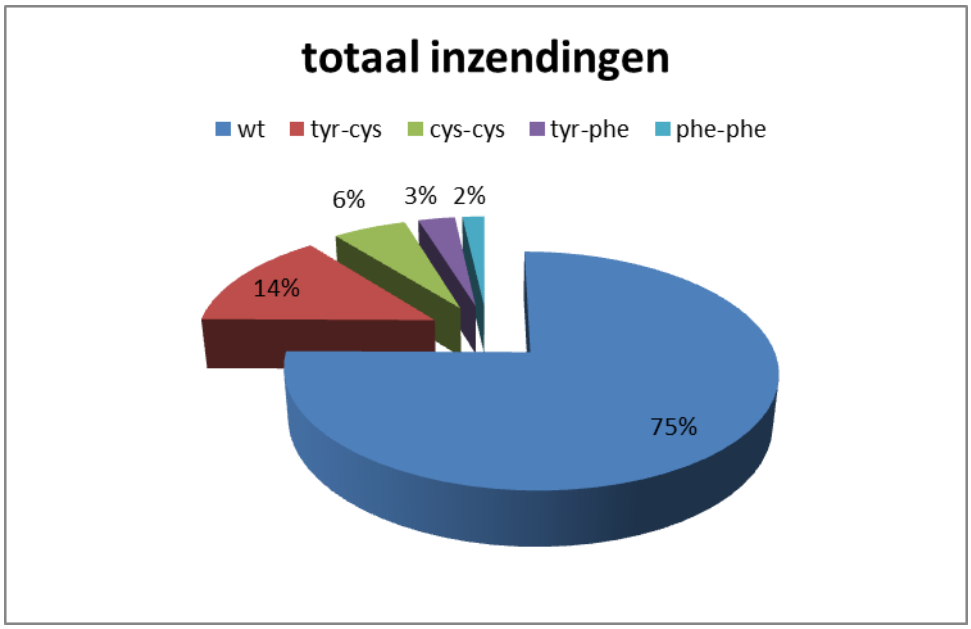
Zoals eerder aangegeven werden er in totaal 361 monsters ingestuurd. Van deze 361 zijn uiteindelijk 290 monsters geanalyseerd. Dit verschil werd veroorzaakt ofwel omdat het ingestuurde materiaal geen uiterlijke kenmerken vertoonde van de uitwerpselen van bruine ratten, ofwel omdat het materiaal zich in een dergelijke slechte staat bevond (door de verzending) dat een verdere analyse hierop van weinig waarde geweest zou zijn. Van de 290 geanalyseerde monsters lieten uiteindelijk 121 monsters (41%) geen reactie zien. Dit kunnen bijvoorbeeld monsters zijn waaruit onvoldoende DNA geïsoleerd kon worden of monsters die qua uiterlijk wel van bruine ratten zouden kunnen zijn, maar toch van andere diersoorten afkomstig zijn. Uiteindelijk bleven er dus 169 monsters over waarbij een testuitslag zichtbaar was (59%). Van deze monsters waren 131 afkomstig van niet-resistente ratten (wild-type) wat overeenkomt met 75%, en 42 waren afkomstig van verminderd gevoelige ofwel resistente ratten (25%). Een overzicht van de resultaten, uitgesplitst naar inzendingen van particulieren en professionele bestrijders wordt gegeven in Tabel 2.

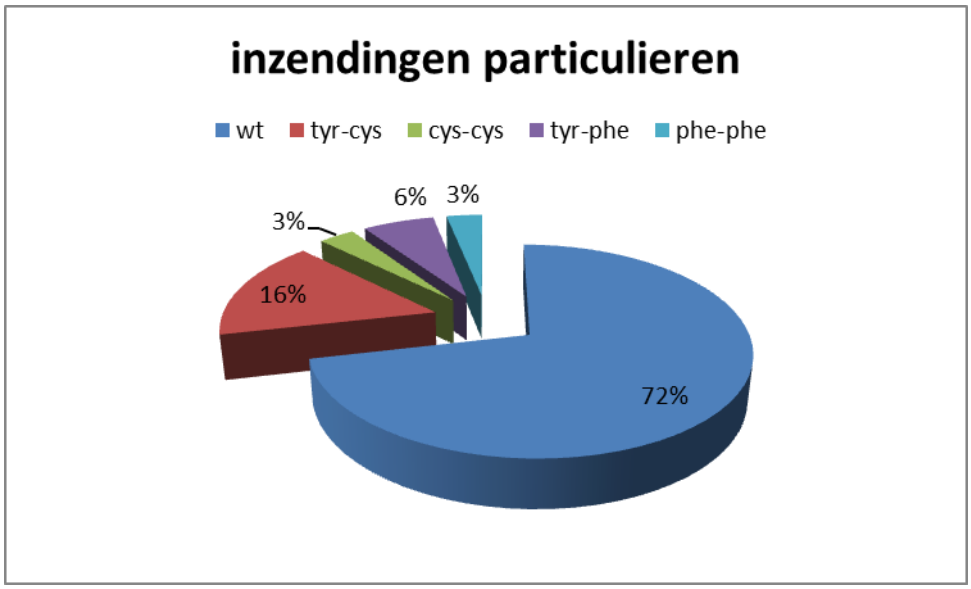
Tabel 2. *Overzicht van de ingestuurde en geanalyseerde monsters.*

	totaal	%	particulier	%	professioneel	%
ingestuurde monsters	361		189		172	
geteste monsters	290		141		149	
gescoorde genotypen	169		63		106	
wild type	127	75	45	71	82	77
Resistent	42	25	18	29	24	23

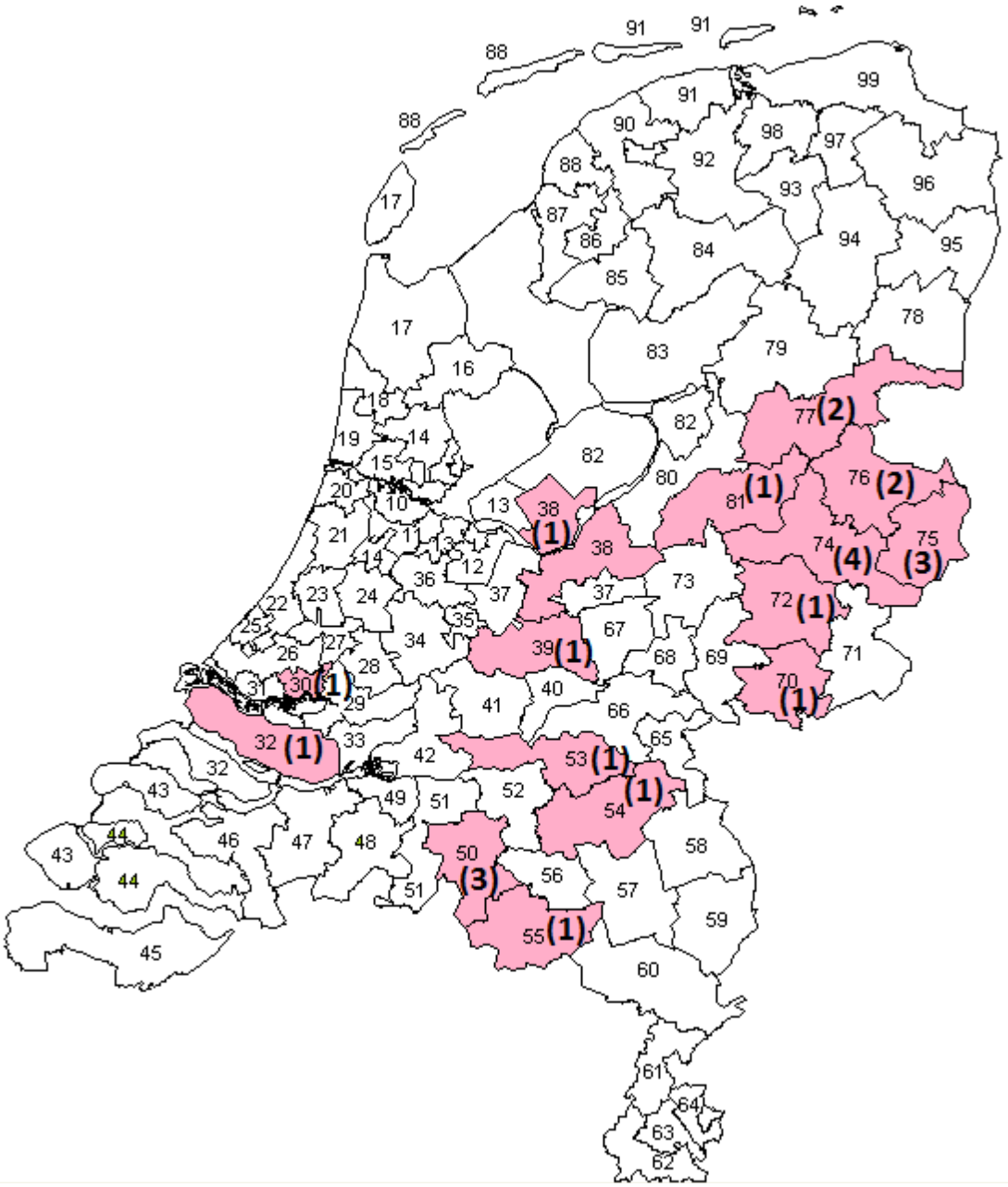
Onder de 42 verminderd gevoelige monsters waren vier mutaties. Het grootste aandeel werd gevormd door de zogeheten ‘Duitse’ mutatie. Deze mutatie werd zowel heterozygoot (tyr-cys), als homozygoot aangetroffen (cys-cys), de ‘Franse’ mutatie werd ook heterozygoot (tyr-phe) en homozygoot (phe-phe) aangetroffen. Een overzicht van de frequenties van de verschillende genotypen, uitgesplitst naar inzendingen van particulieren en professionele bestrijders wordt gegeven in Figuur 5. Er zijn opvallend weinig verschillen in de percentages van de genotypen wanneer de inzendingen van particulieren en professionele bestrijders worden vergeleken. Opvallend is wel dat de ratio tussen de heterozygoten en homozygote ‘Duitse’ mutatie bij professionele bestrijders (13% tegenover 8%) ongunstiger lijkt te liggen dan bij de monsters ingezonden door particulieren (16% tegenover 3%). Gezien de lage aantallen en de onevenredige distributie over Nederland moet hier echter voorzichtig mee omgegaan worden.

Figuur 5. Overzicht van de verdeling (in %) tussen verschillende aangetroffen mutaties.

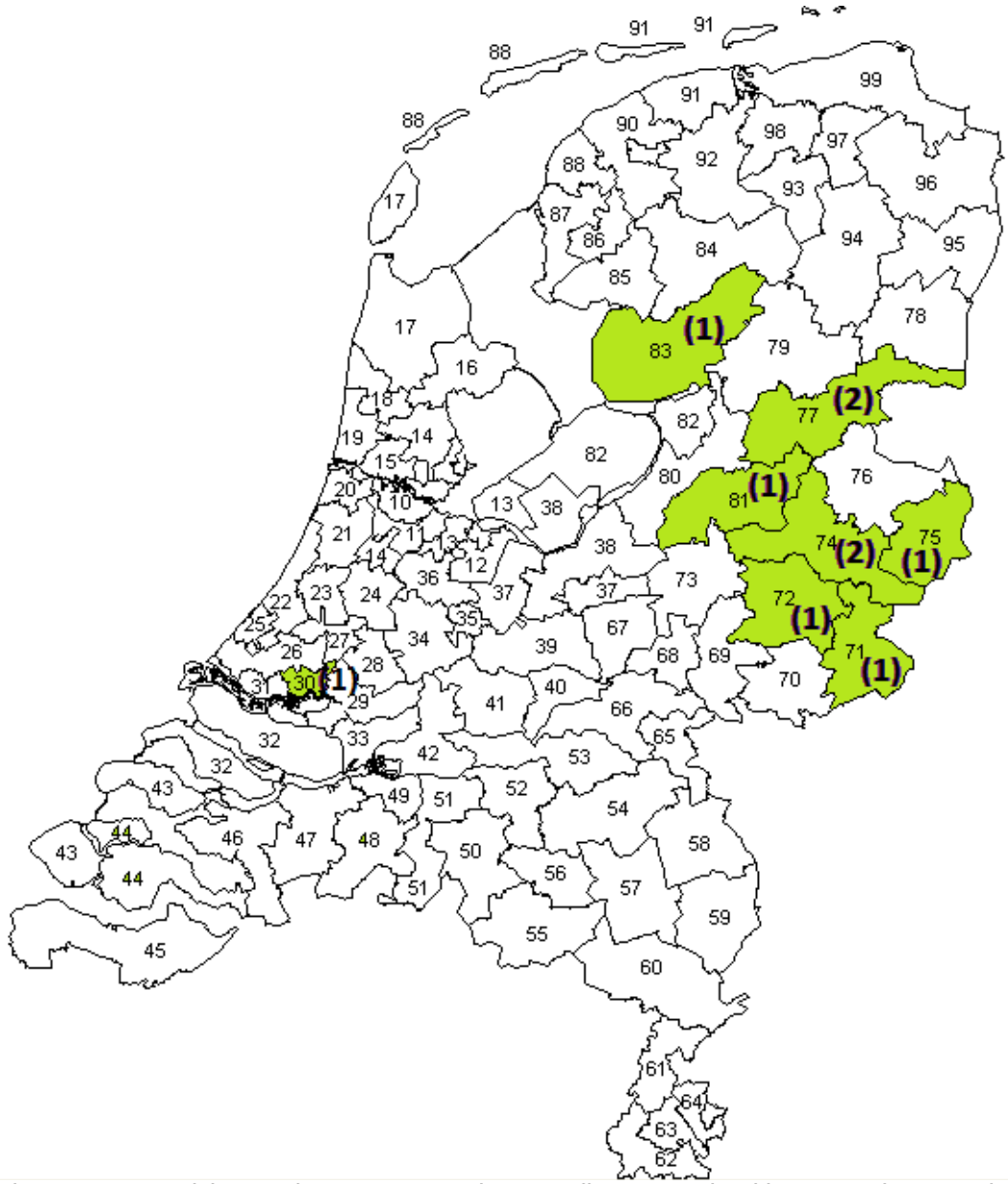




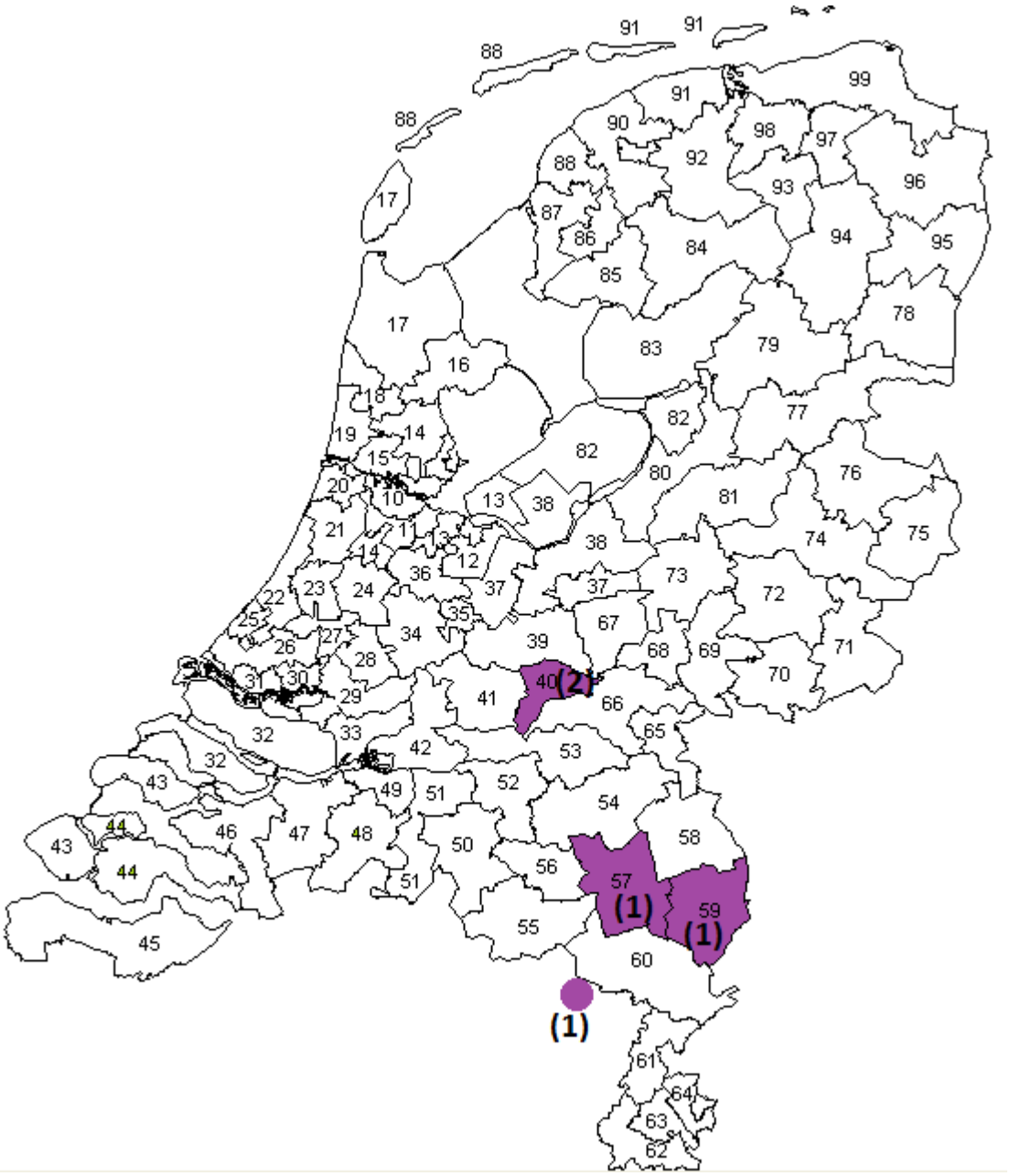
Opvallend was ook dat de verschillende mutaties in verschillende delen van het land optraden (Figuur 6 t/m 9).



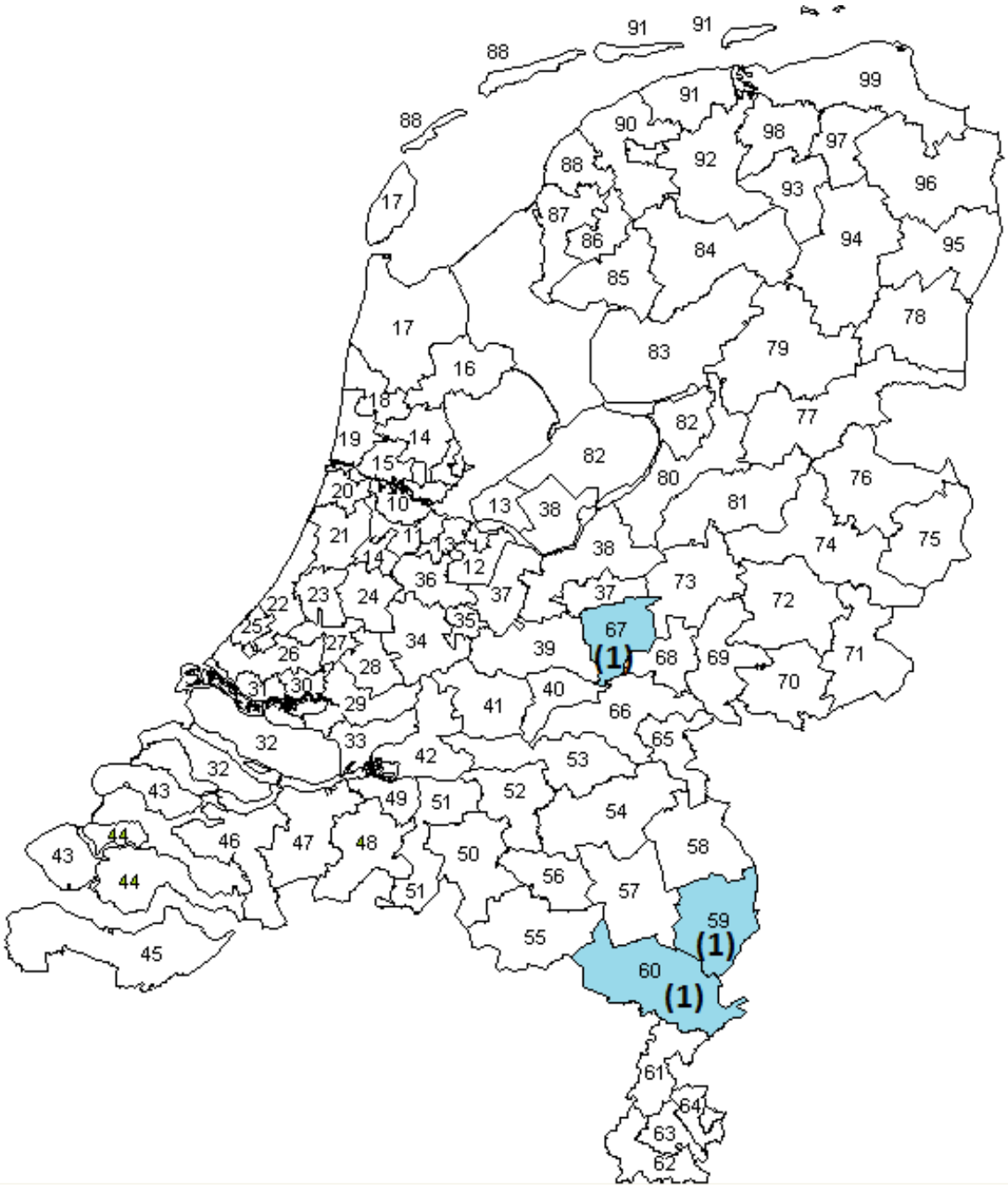
Figuur 6. Overzicht van de tyr-cys mutaties. Getallen tussen haakjes geven het aantal aangetroffen mutaties van die soort binnen het tweecijferige postcodegebied aan.



Figuur 7. Overzicht van de cys-cys mutaties. Getallen tussen haakjes geven het aantal aangetroffen mutaties van die soort binnen het tweecijferige postcodegebied aan.



Figuur 8. Overzicht van de tyr-phe mutaties. Getallen tussen haakjes geven het aantal aangetroffen mutaties van die soort binnen het tweecijferige postcodegebied aan.



Figuur 9. Overzicht van de phe-phe mutaties. Getallen tussen haakjes geven het aantal aangetroffen mutaties van die soort binnen het tweecijferige postcodegebied aan.

Ook de frequentie van homozygoten en heterozygoten geeft aan dat de verschillende mutaties niet gelijkelijk verdeeld zijn. In tabel 3 zijn de gevonden aantallen per genotype (wildtype tyr-tyr, tyr-cys, cys-cys, tyr-phe en phe,phe) vergeleken met de verwachte aantallen op basis van de allel-frequenties weergegeven. Bij een homogene populatie zullen de verwachte en gevonden aantallen niet veel afwijken. Is een populatie niet homogeen, maar is er een lokale ophoping van mutanten dan zal het aantal gevonden homozygoten (tyr-tyr, wildtype; cys-cys; phe-phe) hoger zijn dan verwacht op basis van het gemiddelde, terwijl het aantal heterozygoten lager zal zijn dan verwacht. Dit is precies wat voor alle varianten gevonden wordt, zodat ook op basis van deze analyse verondersteld kan worden dat regionale verschillen in frequenties belangrijk zijn.

Tabel 3. *Overzicht van de gevonden en verwachte frequenties*

genotype	gevonden	verwacht
wild type	127	118
tyr-cys	24	37
cys-cys	10	2
tyr-phe	5	9
phe-phe	3	0

4 Conclusies

- De eerder ontwikkelde snelle test (zie Van der Lee et al., 2011) kan met enkele aanpassingen worden gebruikt voor de moleculaire detectie van genetisch resistente bruine ratten via uitwerpselen (mits van goede kwaliteit);

- Van de 169 onderzochte monsters waar een reactie optrad, bleken er 42 afkomstig van verminderd gevoelige ratten (25%). Dit percentage is een lager aantal dan geschat op basis van de voorstudie, waarin bleek dat 39% van de bruine ratten verminderd gevoelig was (Van der Lee et al., 2011). In deze voorstudie was slechts een beperkt aantal monsters beschikbaar en deze waren afkomstig van gebieden waar ook nu veel verminderd gevoelige ratten gevonden zijn. Het nu gevonden percentage komt ongeveer overeen met het percentage resistente ratten zoals dat door bestrijders is ingeschat (20%). Dit getal werd genoemd tijdens een enquête onder bestrijders (Schoelitsz, 2010). Ook in een studie in Frankrijk werd een soortgelijk percentage resistente ratten gevonden, namelijk 28% (Grandemange *et al.*, 2010). De 25% is een gemiddelde voor heel Nederland. In sommige regio's (bijvoorbeeld Twente) werden alleen keutels gevonden van resistente ratten. Het voorkomen van homozygoot resistente dieren in deze gebieden (cys-cys, phe-phe) is ook een duidelijke indicator dat het percentage resistente ratten in deze gebieden hoog is. Immers, als twee heterozygoot resistente dieren paren vindt selectie plaats richting homozygotie.

- We hebben samen met de opgestuurde rattenkeutels veel brieven ontvangen van particulieren, met daarin vragen of bruine ratten in hun omgeving resistent waren omdat de bestrijding uitermate lastig verliep. Echter, maar in een deel van zulke gevallen kon resistentie worden aangetoond. Uit de brieven werd ook duidelijk dat effectieve bestrijding bijvoorbeeld met goed werkende rodenticide vaak dringend gewenst is.

- Onduidelijk is in welke mate het optreden van verschillende mutaties en homo-/heterozygotie de resistentie tegen de vijf in Nederland toegelaten werkzame stoffen beïnvloedt. Opvallend is dat in dit onderzoek juist bij de inzendingen van professionele bestrijders relatief veel homozygoot resistente dieren met de Duitse mutatie (cys-cys) zijn aangetroffen.

- Homozygoot resistente dieren met de Duitse mutatie (cys-cys) werden niet alleen aangetroffen in die regio's waarvan al langer bekend is dat er resistentie kan optreden (Twente, Achterhoek), maar ook in de regio Rotterdam en de Noord-Oostpolder. Ook homozygote resistente dieren met de Franse mutatie (phe-phe) werden op meerdere locaties in het land aangetroffen: in de Gelderse Vallei, Zuid-Oost Brabant en Noord-Limburg. Mogelijk heeft dit te maken met transport (scheepvaart) vanuit Frankrijk en België, omdat daar deze mutatie frequent voorkomt (Grandemange *et al*., 2010). Daarnaast lijken heterozygoot resistente dieren met zowel de Duitse (tyr-cys) als de Franse (tyr-phe) mutaties zich verder over Nederland te verspreiden. Dit is een

risico, want als heterozygoot resistente dieren onderling paren kan er selectie plaatsvinden richting homozygotie. Is dit eenmaal het geval (en dat kan dus binnen één generatie) dan is deze genetische verandering niet meer uit de populatie te elimineren, omdat bij homozygoot resistente ouders alle nakomelingen resistent zullen zijn.

Vervolg

Hoewel het gemiddelde percentage resistente ratten in Nederland met de Duitse of Franse mutaties beperkt is (25%), lijkt het erop dat in Nederland in bepaalde regio's toch op grote schaal resistentie optreedt. Wat dit precies betekent voor de bestrijding blijft onduidelijk. Sommige werkzame stoffen zouden in deze gebieden hun werking gedeeltelijk of geheel kunnen verliezen, of zij hebben dit wellicht al gedaan. Dit verwachten we met name voor de minder krachtige rodenticiden van de tweede generatie: bromadiolon en difenacoum. Uit recent buitenlands onderzoek (Buckle *et al.*, 2012) kan wel worden gezegd dat 0.005% brodifacoum voor wat betreft de Tyr139cys mutatie (tyr-cys) in Münsterland nog steeds effectief kan zijn, en er mag dan ook worden verwacht dat dit ook voor de Nederlandse tyr-cys mutaties geldt. Uit een andere studie (Buckle *et al.*, 2013) is gebleken dat de resistentiefactor voor difenacoum bij Duitse bruine ratten met een Tyr139cys mutatie rond de 2,5 ligt en dat voor deze populaties geen acceptabel niveau van bestrijding met dit rodenticide kon worden bereikt. Bovendien merken ook deze auteurs op dat het succes van de bestrijding kan samenhangen met de omstandigheid of men heterozygoot of homozygoot resistente dieren te maken heeft. Voor wat betreft de andere door ons aangetroffen mutaties blijft onduidelijk in welke mate bestrijdingsmiddelen effectief zijn, en dit zou een mogelijk interessant vervolgtraject kunnen zijn. Hierbij is het belangrijk om vast te stellen welke werkzame stoffen nog wel of niet werken op resistente ratten met verschillende mutaties.

Een ander interessant onderzoeksonderwerp betreft het vaststellen van de selectiedruk op de VKORC1 Tyr139 mutaties door een populatie-analyse. Het huidige onderzoek laat zien dat resistente ratten over een groot deel van Nederland zijn verspreid. De vraag is of deze resistente populatie zich verder uitbreidt en als dit zo is, hoe snel dit kan gaan. Met het nu verkregen materiaal kan, gebruikmakend van de nieuwste sequentie-analyse methodieken, een eerste aanzet worden gegeven. Doordat de populatie van de bruine rat in Nederland nu niet homogeen is, kan deze analyse mogelijk ook inzicht geven in migratiepatronen van de bruine rat. Daarnaast kan het in de huidige studie verkregen genetische materiaal, ook gebruikt worden om andere mutaties in het VKORC1 gen op te sporen die mogelijk ook tot resistentie leiden.

Literatuur

Buckle, A. P., Klemann, N. and Prescott, C. V. (2012), Brodifacoum is effective against Norway rats (Rattus norvegicus) in a tyrosine139cysteine focus of anticoagulant resistance in Westphalia, Germany. Pest. Manag. Sci., 68: 1579–1585.

Buckle, A., Endepols, S., Klemann, N. and Jacob, J. (2013), Resistance testing and the effectiveness of difenacoum against Norway rats (Rattus norvegicus) in a tyrosine139cysteine focus of anticoagulant resistance, Westphalia, Germany. Pest. Manag. Sci., 69: 233–239.

Grandemange A, Kohn MH, Lasseur R, Longin-Sauvageon C, Berny P, Benoit E (2009) Consequences of the Y139F Vkorc1 mutation on resistance to AVKs: in-vivo investigation in a 7th generation of congenic Y139F strain of rats. Pharmacogenetics and Genomics 19 (10).

Grandemange, A., Lasseur, R., Longin-Sauvageon, C., Benoit, E. and Berny, P. (2010), Distribution of VKORC1 single nucleotide polymorphism in wild *Rattus norvegicus* in France. Pest. Manag. Sci., 66: 270–276. doi: 10.1002/ps.1869

Lasseur, R, Pelz H-J (2006) Spread of resistance to anticoagulant rodenticides in *Rattus Norvegicus* in France and Germany. In: Proceedings of the 3rd International Conference on Rodent Biology and Management, p. 82. National Institute of Plant Protection, Hanoi.

Schoelitsz, B. (2011). Enquêteresultaten onderzoek resistentie huismuis, zwarte rat en bruine rat. Rapport Kenniscentrum Dierplagen (KAD), Wageningen. 12 p.

Van der Lee, T.A., Van Hoof, J.R.A., Brouwer, G., Meerburg, B.G. (2011), Ontwikkeling en toepassing van een snelle diagnostische test voor resistentie van de bruine rat tegen rodenticiden. Wageningen UR Livestock Research, Wageningen, The Netherlands, pp. 1–19.

Bijlage 1. Overzicht van het aantal onderzochte monsters per tweecijferig postcodegebied en het voorkomen van de verschillende mutaties.

Verklaring: ND=niet bepaald, WT=wildtype, tyr-cys Duitse mutatie heterozygoot, cys-cys Duitse mutatie homozygoot, tyr-phe Franse mutatie heterozygoot, phe-phe Franse mutatie homozygoot.

Postcode (2 cijfers)	# monsters	ND	WT	tyr-cys	cys-cys	tyr-phe	phe-phe
10	13	2	11				
13	1		1				
14	2	2					
15	1	1					
16	3	1	2				
17	14	8	6				
19	1		1				
20	1		1				
22	4	2	2				
23	1		1				
25	7	4	3				
26	2	2					
29	1	1					
30	3		1	1	1		
32	4	2	1	1			
33	2	2					
34	2	1	1				
35	7	1	6				
37	10	8	2				
38	5	1	3	1			
39	10	6	3	1			
40	6	3	1			2	
41	4	2	2				
42	5	4	1				
44	2	1	1				
47	2		2				
48	7		7				
50	6	2	1	3			
51	1		1				
52	1	1					
53	4	2	1	1			
54	2	1		1			
55	4	3		1			
56	1	1					
57	3	1	1			1	
58	6		6				

59	6		4			1	1
60	2		1				1
61	1		1				
62	4	2	2				
65	4	2	2				
66	7	3	4				
67	6	1	4				1
68	2		2				
69	5	2	3				
70	1			1			
71	1				1		
72	5	3		1	1		
73	3	1	2				
74	15	5	4	4	2		
75	5		1	3	1		
76	7	4	1	2			
77	5		1	2	2		
78	3	2	1				
79	6	4	2				
80	3	2	1				
81	7	2	3	1	1		
82	6		6				
83	4	1	2		1		
84	9	7	2				
85	2		2				
87	1	1					
90	1		1				
91	6	4	2				
92	5	5					
95	2	2					
96	4	2	2				
97	2		2				
98	1	1					
99	1		1				
BE 3960 (België)	1					1	