

Problematik der Entwicklung von Resistenzen humaner Mykosen gegenüber Azol-Antimykotika und eventueller Wechselwirkungen mit den als Fungizid eingesetzten Pflanzenschutzmitteln

Bericht des BgVV vom 7.6.2001

I. Einleitung

Wirkstoffe zur Behandlung von Pilzinfektionen werden in der Humanmedizin als Antimykotika und im Pflanzenschutz als Fungizide bezeichnet. Unter Fungiziden versteht man Substanzen, die das Wachstum von Pilzen hemmen (Fungistatika) oder völlig unterbinden (Fungizide). In den folgenden Ausführungen wird diese Unterscheidung jedoch nicht berücksichtigt, da die fungistatische oder fungizide Wirkung häufig nur eine Frage der angewendeten Konzentration ist.

Azol-Fungizide zählen zu einer der wichtigsten Wirkstoffgruppen im Pflanzenschutz und werden vor allem im Getreide- sowie im Obst- und Weinbau eingesetzt und. Azol-Derivate besitzen aber auch bei der Behandlung von systemischen Pilzinfektionen des Menschen eine besondere Bedeutung, da diese Wirkstoffe im Vergleich zu anderen Verbindungen (z.B. Amphotericin B) weniger toxisch und daher häufig die einzige therapeutische Alternative sind.

Azol-Derivate besitzen ein Diazol- (Imidazol-) bzw. Triazol-Grundgerüst, das für die antimykotische Aktivität dieser Verbindungen verantwortlich ist und viele chemische Modifikationen zulässt. Die fungistatische bzw. fungizide Wirkung der Azole beruht auf der Blockierung der Biosynthese von Ergosterol, einem essentiellen Bestandteil der Zellmembran von Pilzen. Azole hemmen das Enzym Lanosterol-14- α -Demethylase, das zu den pilzspezifischen Cytochrom-P450-Enzymen gehört und unterbinden dadurch die oxidative Demethylierung der Ergosterol-Vorstufe Lanosterol.

Die Einführung der Azol-Derivate im Pflanzenschutz erfolgte Anfang der 70er Jahre und fand praktisch parallel zur Entwicklung der Azol-Antimykotika gegen humanpathogene Pilze statt. Generell werden in der Humanmedizin und im Pflanzenschutz nicht dieselben Derivate aus dieser Substanzgruppe eingesetzt, die Wirkstoffe verfügen aber über identische Wirkungsmechanismen und werden somit von denselben Resistenzmechanismen der Pilze neutralisiert.

Die meisten im Pflanzenschutz eingesetzten Azol-Wirkstoffe sind sehr lipophil, was ihre Penetration zu den Cytochrom-P450-Enzymen innerhalb des endoplasmatischen Retikulums und im Innern der Mitochondrien der Pilze begünstigt. Diese Eigenschaften sind auch im wesentlichen für die toxikologischen Wirkungen der Azole im Säugerorganismus verantwortlich. Je nach den physikochemischen Eigenschaften der Stoffe kommt es in unterschiedlichem Maße zur Hemmung von Cytochrom P-450-Enzymen, zu toxischen Veränderungen in der Leber und zu endokrinen Störungen; daneben wird bei den meisten Stoffen auch eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Induktion Fremdstoff-metabolisierender Enzyme in der Leber beobachtet.

II. Vorkommen fakultativ humanpathogener Pilze

Bei der Diskussion über die Zunahme Azol-resistenter Pilze als Infektionserreger beim Menschen und einem möglichen Zusammenhang mit der umfangreichen, flächenmäßigen Anwendung von Azolen im Pflanzenschutz ist die normale Verbreitung der fakultativ humanpathogenen Pilze zu berücksichtigen.

Die meisten Hefe- und Schimmelpilze haben ihr natürliches Reservoir in der Umwelt und besiedeln den Menschen oder Säugetiere normalerweise nicht. Von den 163 Arten der Gattung *Candida* hat lediglich *Candida albicans* ihren primären Standort beim Menschen. Diese Art ist jedoch für 80 – 90 % aller systemischen Infektionen beim Menschen verantwortlich. In der Umwelt kommt diese Art nur sehr sporadisch vor. Für andere Spezies wie *Candida glabrata* und *Candida krusei* hat die Besiedlung von Warmblütern im Allgemeinen eine eher sekundäre Bedeutung. Man findet sie hauptsächlich in der Umwelt, auf zahlreichen Substraten wie Früchte, Lebensmittel, Boden, Streu, Schlamm, Süßwasser und in der Luft, daneben treten sie auch auf Insekten und natürlichen wie technischen Anlagen auf. Sie sind nicht zuletzt deshalb so weit verbreitet, weil sie verschiedene Stoffe wie Xylose oder Kohlenwasserstoffe sowie die wachsartige Cuticulaschicht auf Pflanzenoberflächen verwerten können. Als bedeutendstes Reservoir für viele *Candida*-Arten (*C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*) wie auch für Schimmelpilze sind Tierfutter-Silagen anzusehen [IVA 2000].

Bei dem Problem der Resistenzentwicklung gegen Azole geht es vor allem um opportunistische, also fakultativ pathogene Pilze, die bei entsprechender Prädisposition, z.B. bei sehr abwehrgeschwächten Patienten, nach Verletzungen oder Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes mellitus, Erkrankungen auslösen können. Zu diesen opportunistischen Arten gehören insbesondere verschiedene Hefen der Gattungen *Candida* und *Cryptococcus* sowie Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus*, *Fusarium* u.a. Während die Hefepilze im Krankenhaus meistens direkt von Person zu Person oder durch die Nahrung übertragen werden, gelangen die Schimmelpilzsporen vorwiegend über die Atemwege in den Organismus.

III. Anwendung von Azol-Derivaten im Pflanzenschutz (Fungizide)

Fungizide werden im Pflanzenschutz zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten eingesetzt. In Deutschland wurden im Jahr 1998 insgesamt 10530 Tonnen an Fungiziden für den Inlandsbedarf abgegeben, daneben wurden 31340 Tonnen an Fungiziden exportiert. Bezogen auf den mengenmäßigen Anteil an der Inlandsabgabe sind die Dithiocarbamate und Thiuramdisulfide mit 2860 Tonnen (27,2 %) und die Azole mit 1280 Tonnen (12,2 %) als die wichtigsten Wirkstoffgruppen bei den Fungiziden anzusehen. Bezogen auf den Marktanteil entfallen jedoch von den heute weltweit im Pflanzenschutz eingesetzten Fungiziden fast ein Viertel auf die Gruppe der Azole, die damit die bedeutendsten Substanzen zur Bekämpfung von pflanzenpathogenen Pilzen darstellen. Weitere wichtige Wirkstoffgruppen bilden die Dithiocarbamate und Thiuramdisulfide mit etwa 12 %, die relativ neu eingeführten Strobilurine mit etwa 8 % und die Benzimidazole mit etwa 6 % Marktanteil. Der Rest entfällt auf zahlreiche andere, meist unspezifisch wirkende Fungizide [IVA 2000; Schmidt 2000].

Die im Pflanzenschutz eingesetzten Azole tragen wesentlich zur Ertrags- und Qualitätssicherung der Ernte und zumindest teilweise zur Eingrenzung der Mykotoxinbelastung im Erntegut bei. Azole verfügen über das breiteste Wirkungsspektrum aller Fungizide und sind für den integrierten Pflanzenbau unverzichtbar. Ihre wichtigsten Anwendungsgebiete sind in Deutschland der Getreidebau sowie der Obst- und Weinbau (siehe Tabelle 1). Regional besitzen Azol-Fungizide unterschiedliche Bedeutung: Während in Europa im Jahr 1999 auf knapp 49 % der Gesamtanbaufläche (ca. 39 Millionen Hektar, Mehrfachbehandlungen berücksichtigt) Azole zum Einsatz kamen, wurden in den USA, wo das Getreide meist in wesentlich trockeneren, "pilzfeindlichen"

Gebieten angebaut wird, lediglich etwa 3 % (4 Millionen Hektar) mit Azolen behandelt [IVA 2000].

Azol-Fungizide können bei Weizen beispielsweise gleichermaßen gegen Mehltau, Septoria, Halmbruch, Rost und Fusarien eingesetzt werden. Ein ähnliches Wirkungsspektrum haben nur noch die Strobilurine, eine seit der zweiten Hälfte der 90er Jahre verwendete und immer bedeutendere Fungizidgruppe. Allerdings sind die Azole immer dann überlegen, wenn nicht vorbeugend, sondern kurativ gespritzt wird. Das bedeutet, dass nicht unbedingt unmittelbar nach dem ersten Befall behandelt werden muss. Diese Flexibilität ist etwa ein Vorteil, wenn es mehrere Tage hintereinander regnet. Außer den Azolen bieten nur noch die Morpholin-Derivate diese Eigenschaft; ihr Wirkungsspektrum ist jedoch wesentlich enger.

Tab. 1: Wichtige Anwendungsgebiete von Triazol-Fungiziden im Pflanzenschutz [BBA 2001]

Indikation (Schadorganismus)	Kultur
Echter Mehltau (<i>Erysiphe graminis</i>)	Weizen, Gerste, Roggen
Braunrost (<i>Puccinia recondita</i>)	Weizen, Roggen
Gelbrost (<i>Puccinia striiformis</i>)	Weizen
Zwergrost (<i>Puccinia hordei</i>)	Gerste
Blattdürre (<i>Septoria tritici</i>)	Weizen
Braunfleckigkeit (<i>Septoria nodorum</i>)	Weizen
Blattflecken (<i>Rhynchosporium secalis</i>)	Gerste, Roggen
Netzflecken (<i>Pyrenophora teres</i>)	Gerste
DTR-Blattdürre (<i>Drechslera tritici-repentis</i>)	Weizen
Ährenbefall/Mykotoxinbildung (<i>Fusarium</i> -Arten)	Weizen
Wurzelhals- und Stengelfäule (<i>Phoma lingam</i>)	Raps
Weißstengeligkeit (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	Raps
Rapsschwärze (<i>Alternaria brassicae</i>)	Raps
Echter Mehltau (<i>Erysiphe betae</i>)	Zucker- und Futterrübe
Echter Mehltau (<i>Podosphaera leucotricha</i>)	Apfel
Schorf (<i>Venturia inaequalis/pirina</i>)	Kernobst
Spitzendürre (<i>Monilinia laxa</i>)	Kirsche
Echter Mehltau (<i>Sphaerotheca humuli</i>)	Erdbeere
Echter Mehltau (<i>Uncinula necator</i>)	Weinrebe
Echter Mehltau (<i>Sphaerotheca humuli</i>)	Hopfen

Über 90 % der Azol-Fungizide werden im Ackerbau mit Feldspritzgeräten ausgebracht. Die Aufwandmengen orientieren sich an den Empfehlungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft [BBA 2001]. Im Allgemeinen werden bei einer ein- bis zweimaligen Behandlung pro Saison in einer wässrigen Suspension jedes Mal bis maximal 200 g Wirkstoff pro Hektar versprüht, das entspricht etwa 20 mg pro Quadratmeter. Die Wartezeiten zwischen der letzten Anwendung von Azolen und der Ernte bzw. der frühestmöglichen Nutzung des jeweiligen Erntegutes liegen je nach Kultur in der Regel bei 35 bis 56 Tagen.

Im Pflanzenschutz wird die Ausbildung von Resistenzen gegen die eingesetzten Fungizide als ein natürliches, häufig auftretendes Phänomen angesehen, das ein gesondertes Resistenzmanagement erforderlich macht. Der Begriff Resistenz wird im Pflanzenschutz etwas anders formuliert als im medizinischen Bereich, wo man aufgrund von Messungen an Einzelisolaten beispielsweise die minimale Hemmkonzentration (MHK) ermittelt. In der Landwirtschaft wird Resistenz auf Populationsebene als der Fall definiert, in dem mit der zugelassenen Aufwandmenge die erwartete Wirkung nicht erzielt wird.

Vom Internationalen Verband der Pflanzenschutzmittel-Hersteller (Global Crop Protection Federation, GCPF) wurde bereits 1980 ein koordiniertes, firmenübergreifendes Resistenzmanage-

ment für Fungizide (Fungicide Resistance Action Committee, FRAC) etabliert, das über 90 % des Azolfungizid-Marktes repräsentiert. Das Aktionskomitee trifft sich innerhalb von 6 fungizid-spezifischen Arbeitsgruppen einmal jährlich, um über die Resistenzsituation zu beraten und gegebenenfalls zu empfehlen, die Zahl der Anwendungen zu reduzieren oder zu einem anderen, nicht kreuzresistenten Wirkstoff zu wechseln. Die aktuellen Empfehlungen werden seit einiger Zeit über das Internet verbreitet (www.gcpf.org/frac).

Da es sich bei der Resistenzbildung gegen Azole - anders als bei den Strobilurinen - um einen mehrstufigen genetischen Prozess handelt ("multiple step resistance"), dauert es meist mehrere Jahre, bis im Pflanzenschutz ausgeprägte Resistenzen festzustellen sind. Außerdem ist zumindest am Anfang der Azolanwendung die Fitness von resistenten Pilzpopulationen eingeschränkt. Das bedeutet, dass sich diese Varianten nicht ohne weiteres in der Wildpopulation durchsetzen können. Diese Vorteile sind beispielsweise bei Strobilurinen, die oftmals als Alternative zu Azolen ins Gespräch gebracht werden, ebenso wenig gegeben wie etwa bei Benzimidazolen. Gegen diese Wirkstoffe entwickeln sich Resistenzen sehr schnell ("single step resistance"). Aus diesem Grund kann nach Ansicht von Praktikern auch bei einem möglicherweise steigenden Anteil von Strobilurinen auf dem Fungizidmarkt nicht auf Azole verzichtet werden, da im Resistenzmanagement beide Wirkstoffgruppen verfügbar sein müssen [IVA 2000].

Tab. 2: In Deutschland zugelassene Triazol-Fungizide im Pflanzenschutz [BBA 2001]

Wirkstoff	Anwendungsgebiet/Kultur
Azaconazol	Wundbehandlung (Obst- und Ziergehölze)
Bitertanol	Getreide, Kern- u. Steinobst, Zierpflanzen
Bromuconazol	Getreide
Cyproconazol	Getreide
Difenoconazol	Getreide, Zucker- u. Futterrübe, Raps, Spargel
Epoxiconazol	Getreide, Zucker- u. Futterrübe
Fenbuconazol	Getreide
Fluquinconazol	Getreide, Weinrebe
Flusilazol	Getreide, Kernobst
Flutriafol	Getreide, Mais
Metconazol	Getreide, Raps
Myclobutanil	Kern- u. Steinobst, Erdbeere, Hopfen
Penconazol	Kernobst, Weinrebe
Propiconazol	Getreide
Tebuconazol	Getreide, Raps, Gemüse, Weinrebe
Triadimefon	Getreide, Wundbehandlung (Obst- und Ziergehölze)
Triadimenol	Getreide, Zucker- u. Futterrübe, Gemüse, Hopfen, Weinrebe
Triticonazol	Getreide

Aus Sicht des Pflanzenschutzes sind die Azole als Wirkstoffe mit einem mittlerem Risiko in Bezug auf die Resistenzbildung einzustufen [Brent & Hollomon 1998], da der Prozess langsam verläuft und zum Teil auch reversibel ist. Eine völlig resistenzfreie Situation ist allerdings nicht mehr herzustellen, nach Aussage von Praktikern besteht jedoch seit 4-5 Jahren eine stabile Situation hinsichtlich der Azolresistenz. Das gilt auch für die Erreger von Apfelschorf und Weizenmehltau, bei denen man vor allem in den achtziger Jahren vereinzelt starke Resistenzentwicklungen beobachtet hatte. In einigen Teilen Europas waren seinerzeit die Pilze mit Azolen kaum zu bekämpfen. Bei einigen Pilzen, wie den Rosten, wurden in den mehr als zwei Jahrzehnten, seitdem die Azole vermarktet werden, keinerlei Resistenzen beobachtet. Allerdings gibt es auch immer wieder Jahre, zum Beispiel solche mit extrem regenreichen Perioden, in denen es zu starken Infektionen kommen kann, die dann schwer in den Griff zu bekommen sind [IVA 2000].

IV. Anwendung von Azol-Derivaten in der Humanmedizin (Antimykotika)

Azol-Antimykotika besitzen ein breites Wirkungsspektrum und werden in der Humanmedizin sowohl zur systemischen Behandlung von Infektionen mit Hefen (*Candida*- und *Cryptococcus*-Arten) und Schimmelpilzen (*Aspergillus*-Arten) als auch zur topischen Anwendung auf der Haut bei Infektionen mit Dermatophyten (*Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*) eingesetzt.

Für die systemische Behandlung stehen in Deutschland die Wirkstoffe Itraconazol, Ketoconazol und Fluconazol zur Verfügung; die letztgenannte Substanz wird ausschließlich systemisch angewendet. Fluconazol ist wirksam gegen *Candida*- und *Cryptococcus*-Arten, aber unwirksam gegen *Aspergillus*-Arten und die meisten anderen Erreger systemischer Hyphomykosen. Itraconazol ist gegen Dermatophyten, Hefen und *Aspergillus* sowie gegen zahlreiche andere Infektionserreger wirksam. Ketoconazol wird gegen Dermatophyten, *Candida*-Arten und andere pathogene Pilze eingesetzt, gegenüber Schimmelpilzen und *Cryptococcus* ist es unwirksam.

Tab. 3: In Deutschland zugelassene Azol-Antimykotika in der Humantherapie (Rote Liste 2001)

Wirkstoff	Anwendung	Abgabebestimmung
Bifonazol	Dermal	Ap
Clotrimazol	Vaginal, dermal	Rp, Ap
Croconazol	Dermal	Rp
Econazol	Vaginal, dermal	Rp, Ap
Fluconazol	Systemisch	Rp
Fenticonazol	Vaginal, dermal	Rp, Ap
Isoconazol	Dermal	Rp, Ap
Itraconazol	Systemisch, dermal	Rp
Ketoconazol	Systemisch, dermal	Rp, Ap
Miconazol	Vaginal, dermal	Rp, Ap
Oxiconazol	Vaginal, dermal	Rp, Ap
Sertaconazol	Dermal	Ap
Tioconazol	Dermal	Ap

Ap = apothekenpflichtig Rp = rezeptpflichtig

Die ausschließlich lokal angewendeten Azol-Derivate Bifonazol, Clotrimazol, Econazol, Isoconazol, Miconazol, Oxiconazol und Tioconazol sind gegen Dermatophyten (*Trichophyton*- und *Microsporum*-Arten, *Epidermophyton floccosum*), Hefen (*Candida*-Arten) und Schimmelpilze (*Aspergillus*-Arten) wirksam. Bifonazol und Clotrimazol wirken auch gegen andere Pilze wie *Malassezia furfur* (Pityriasis versicolor) und bei Infektionen durch *Corynebacterium minutissimum* (Erythrasma). Fenticonazol ist gegen Dermatophyten und Hefen, nicht jedoch gegen *Aspergillus*-Arten wirksam. Croconazol wird gegen Dermatophyten, Hefen und *Malassezia furfur* und Sertaconazol gegen Dermatophyten und Hefen angewendet.

V. Anwendung von Azol-Derivaten in kosmetischen Mitteln

Azol-Derivate werden auch in kosmetischen Mitteln als antimikrobiell wirksame Substanzen eingesetzt; die Wirkstoffe Clotrimazol, Dichlorophenylimidazoldioxolan und Ketoconazol sind beispielsweise im Inventar der EU (1st Update EU Inventory - 09/06/2000) zur Verwendung in Antischuppenmitteln aufgeführt. Außerdem ist der Wirkstoff Climbazol bis 0,5 % Höchstkonzentration als Konservierungsstoff für kosmetische Mittel zugelassen, er darf aber auch zu anderen Zwecken in höheren Konzentrationen eingesetzt werden, wenn der entsprechende Zweck deklariert wird.

Für Ketoconazol hat die Europäische Kommission eine Höchstkonzentration von 2 % in kosmetischen Mitteln (ausgenommen Mundpflegemittel) vorgeschlagen. Die Bewertung der toxikologischen Daten zu Ketoconazol durch den Wissenschaftlichen Ausschuss "Kosmetische Mittel und für den Verbraucher bestimmte Non-Food-Erzeugnisse" ergab, dass eine Konzentration von 2 % in kosmetischen Mitteln als gesundheitlich unbedenklich anzusehen ist [SCCNFP 1999a]. Der Ausschuss äußerte jedoch Bedenken im Hinblick auf die Verwendung eines Arzneimittel-Wirkstoffes in kosmetischen Mitteln sowie mögliche Auswirkungen auf die Umwelt (endokrine Effekte), obgleich dies nicht Gegenstand des Auftrages war [SCCNFP 1999b]. Diese Aspekte müssten durch die zuständigen Wissenschaftlichen Ausschüsse geprüft werden.

Zum Einsatz von Azol-Derivaten in kosmetischen Mitteln liegt auch eine Stellungnahme der norwegischen Lebensmittelbehörde vor, in der auf eine mögliche Resistenzentwicklung bei potentiell humanpathogenen Pilzen hingewiesen wird. Diese Stellungnahme wurde sowohl in der EU als auch in der 61. Sitzung der Kommission für kosmetische Mittel des BgVV am 30.11.2000 diskutiert; für eine fundierte Bewertung dieser Problematik wurden jedoch weitere Untersuchungen für notwendig erachtet.

VI. Resistenz gegen Azol-Antimykotika in der Humanmedizin

Der Nachweis einer im letzten Jahrzehnt zunehmenden Azol-Resistenz unter Mykoseerregern beim Menschen löste die Diskussion darüber aus, ob dies in Zusammenhang mit dem Ausbringen von Azolen in der Landwirtschaft zu sehen sei.

Drei Hypothesen werden diskutiert:

1. Induktion einer Azol-Resistenz der Pilzflora des Menschen durch Azol-Rückstände auf damit behandelten Pflanzen, die als "low dose" (Niedrig- oder Unterdosierung) in die Nahrungskette des Menschen gelangen. Diese Resistenzentwicklung würde in erster Linie *Candida albicans* betreffen, die ihren primären Standort beim Menschen selbst hat.

2. Selektion Azol-resistenter Pilze in der Landwirtschaft (Obst, Gemüse, Agrarprodukten) die über direkten oder indirekten Kontakt zum Menschen gelangen.

Für diese These könnte der vereinzelte Nachweis Azol-resistenter Pilze als Infektionserreger bei Menschen sprechen, die nachweislich bislang niemals mit Azolen behandelt wurden, so z.B. die Isolierung eines Fluconazol-resistenten *Cryptococcus neoformans* Stammes [Orni-Wasserlauf 1999]. Die perfekte Form dieser Hefe kommt auf Getreide vor.

3. In der Landwirtschaft gehaltene Tiere als mögliche Streuquelle resistenter Pilze.

Landwirtschaftliche Nutztiere könnten noch wesentlich unmittelbarer als der Mensch auf o.g. Weise resistente Pilze aquiriert haben und diese Organismen könnten wiederum in die Nahrungskette des Menschen gelangen oder durch direkten Kontakt übertragen werden. Pilzinfektionen bei Wiederkäuern sind ein bekanntes Problem, so die Aspergillose im Gastrointestinaltrakt von Kühen, die *Candida* bedingte Mastitis u.a. Die Rinderflechte durch *Trichophyton verrucosum* ist eine klassische zoophile Mykose beim Menschen.

Mit der Einführung von Azolen zur Therapie von Pilzinfektionen beim Menschen sind Resistenzen, so gegenüber Miconazol, bekannt geworden [Holt 1978]. Seit der Einführung von Fluconazol, einem Triazol aus der Gruppe der Azol-Antimykotika, ist eine deutliche Zunahme von Pilzen aus menschlichen Untersuchungsmaterial zu beobachten, die eine eingeschränkte Empfindlichkeit bis hin zur kompletten Resistenz gegenüber Azolen zeigen. Ein Anstieg der Resistenz bei Hefen ist in zahlreichen Untersuchungen belegt, so wurden in z.B. einer Studie bei Patienten mit AIDS in 33% Fluconazol-resistente *C. albicans* in der Mundhöhle nachgewiesen [Law et al. 1994], in einer anderen bei oraler Candidose in der Hälfte der Isolate [Tumbarello 1996], wobei die *Candida*-Isolate zu 38% eine Kreuzresistenz gegenüber anderen Azolen aufwiesen. Eben-

falls belegbar ist eine Verschiebung des Keimspektrums zu weniger Azol-empfindlichen *Candida*-Arten. So hat der Nachweis von *C. glabrata* und *C. krusei* deutlich zugenommen. Letztere weist eine intrinsische Fluconazol-Resistenz auf.

Zunächst erscheint ein Zusammenhang mit dem Azol-Einsatz in der Landwirtschaft und der Zunahme Azol-resistenter Isolate als Infektionserreger des Menschen unwahrscheinlich: die klinisch manifeste Azol-Resistenz, die durch In-vitro-Daten belegbar ist, betrifft am häufigsten Mykosen durch die Hefe *Candida albicans*, die ihren primären Standort beim Menschen selbst und nicht auf Feldfrüchten hat. Resistente Stämme entwickeln sich häufig bei Patienten, die zur Behandlung und dann zur Rezidivprophylaxe von Candidosen über Wochen und Monate niedrig dosiert Fluconazol einnahmen, so bei AIDS. Auch die Verschiebung zu Pilzarten mit eingeschränkter Azol-Empfindlichkeit ist in erster Linie bei Personen unter Azol-Therapie zu beobachten. Dieser Umstand veranlasste Kritiker von Prof. Hof, Universität Mannheim, zu der Meinung, dass das Problem der Azol-Resistenz unter Mykoseerregern iatrogener Natur sei und nicht in ursächlichem Zusammenhang mit dem Azol-Einsatz in der Landwirtschaft zu werten sei.

Dass die Problematik differenzierter zu betrachten ist als vordergründig erkennbar, soll folgendes verdeutlichen:

Auch bei Patienten, die nicht HIV-infiziert sind und niemals mit Azol-Antimykotika behandelt wurden, konnten Azol-resistente *Candida albicans*-Isolate nachgewiesen werden [Goff 1995]. Ätiologisch ist eine nosokomiale Verbreitung resistenter *C. albicans*-Stämme naheliegend, die zunächst als Besiedlung klinisch inapparent ist, oder aber eine Resistenzentwicklung von *C. albicans* u.a. als Kommensale, z.B. in der Mundhöhle oder im Magendarmtrakt, durch wiederholte Exposition niedrig dosierter Azole in der Nahrung.

Weltweit ist während der letzten zwei Jahrzehnte eine Zunahme schwerer behandlungspflichtiger Pilzinfektionen zu beobachten. So ergab eine Auswertung autoptisch gesicherter Pilzinfektionen in Deutschland, dass der relative Anteil invasiver Aspergillosen von 17% auf 60% in den Jahren 1978 bis 1992 zunahm [Groll 1994].

Mit der Zunahme lebensbedrohlicher Hyphomykosen bei abwehrgeschwächten Patienten wächst auch die Zahl durch bislang zu wenig beachtete, Antimykotika-resistente Erreger, für deren Verbreitung bislang keine plausible Erklärung gefunden wurde. Alarmierend in Europa ist die Zunahme von *Scedosporium*-Infektionen, Fusariosen, Mykosen durch *Cunninghamella* spp. und andere Zygomyceten und Dematiaceae. Deutlich wird, dass diese Organismen auf Pflanzen und im Erdboden zu finden sind, wo sie exponiert sind gegenüber Azolen. *Fusarium*-Arten als potentielle Mykotoxinbildner gelten im Pflanzenschutz als Argument für den Einsatz von Antimykotika. *Fusarium*-Isolate von Mykosen beim Menschen zeigen, dass diese Stämme i.d.R. resistent sind gegenüber den meisten Azolen. Pilze der Gattung *Pseudallescheria* bzw. *Scedosporium* sind in Gewässern zu finden, dort also, wohin auch Rückstände der Antimykotika im Pflanzenschutz abfließen.

Resistenzen gegen Azole, zu denen die älteren Imidazole (Ketoconazol, Miconazol) und die neueren Triazole (Fluconazol, Itraconazol und Voriconazol) gehören, sind gegen die Lanosterol-Demethylase bei der Ergosterol-Biosynthese gerichtet. Folgende Ursachen einer Resistenz von Pilzen gegenüber Azolen sind beschrieben [nach: White et al. 1998]:

Veränderungen

- der Zellwand, die den Import des Antimykotikums behindern
- bei der intrazellulären Verstoffwechslung der Substanz
- beim Target-Enzym
- bei anderen Enzymen der Ergosterol-Biosynthese
- bei den Efflux-Pumpen.

Das Gen, welches die Lanosterol-Demethylase, den Hauptangriffsort der Azole, codiert, ist das *ERG11* Gen. Inzwischen sind sieben verschiedene Punktmutationen im *ERG11* Gen, die zu einer Azol-Resistenz von Pilzen führen können, bekannt. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, daß die Efflux-Pumpen, codiert durch die Gene *CDR1* und *MDR1*, bei resistenten Stämmen überexprimiert sind. Das *MDR1* Gen scheint für Fluconazol spezifisch zu sein, während die *CDR*-Gene bei Resistenzen gegen viele Azol-Antimykotika und damit auch bei Kreuzresistenzen gegen Azole von Bedeutung sind.

Das Arsenal in der Humanmedizin verwendeter wirksamer Medikamente gegen Pilzinfektionen ist äußerst begrenzt, wobei die Wirkstoffgruppe der Azole eine herausragende Stellung einnimmt. Azol- bzw. Triazol-Antimykotika sind relativ nebenwirkungsarm und werden sehr effektiv bei den meisten Hefepilz-Infektionen der Gattung *Candida* und begrenzt auch bei Schimmelpilzinfektionen eingesetzt. Die Humanmedizin ist darauf angewiesen, diese Substanzen therapeutisch einsetzen zu können, da manche Infektionserreger Resistenzen gegenüber Amphotericin B und Flucytosin aufweisen, jedoch - noch - empfindlich für Azole sind.

Die Zunahme Azol-resistenter Pilze als Infektionserreger beim Menschen auf den breiten und unkontrollierten Einsatz von Azolen in der Landwirtschaft zurückzuführen, ist bislang nicht belegbar. Dennoch sollte eine Resistenzentwicklung bei saprophytären und phytopathogenen Pilzen und eine Selektion von resistenten Pilzen als Folge eines Azol-Einsatzes in der Landwirtschaft in Betracht gezogen werden. Da das Spektrum dieser Organismen auch zahlreiche opportunistische humanpathogene Krankheitserreger, insbesondere Schimmelpilze der Gattungen *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* der Gruppe der Dematiaceae u.a. einschließt, bestehen aus Sicht des Mediziners erhebliche Bedenken beim Einsatz von Azolen im Pflanzenschutz. Es besteht erheblicher Bedarf an Daten über die Empfindlichkeit von humanpathogenen Pilzen im Pflanzenschutz aktuell und von "historischen" Isolaten, ebensowenig ist die Frage nach der Primär-Resistenz oder erworbenen Resistenz bei vielen Organismen geklärt.

Eine Beeinflussung im Sinne einer Resistenzentwicklung durch Azole in der Landwirtschaft erscheint bei Hyphomyzeten wahrscheinlicher als bei *Candida albicans*, deren Empfindlichkeit mit Sicherheit maßgeblich von der Azol-Therapie in der Humanmedizin abhängt, abgesehen von unkontrollierbarem Einsatz von Azolen in Kosmetika. Infektionen durch Hyphomyzeten, Kryptokokken u.a. sind zwar insgesamt seltener als *Candida*-Infektionen, sie sind jedoch lebensbedrohlich für in der Regel schwerst immunsupprimierte Patienten. Ein letaler Verlauf infolge einer Mykose durch Erreger mit induzierter Azol-Resistenz wäre nicht zu tolerieren.

Aus infektionsepidemiologischer Sicht und unter Aspekten der Gesundheitsvorsorge ist es als problematisch anzusehen, wenn antimykotisch wirksame Substanzen, die auch zur Behandlung von Pilzinfektionen des Menschen benötigt werden, im Pflanzenschutz eingesetzt werden. Es besteht Forschungsbedarf, um das Gefährdungspotential einer möglichen Resistenzentwicklung besser einschätzen und daraus zukünftige Konsequenzen ableiten zu können.

VII. Zusammenfassung, Schlußfolgerung

Azol-Derivate werden in der Landwirtschaft vor allem zur Bekämpfung von Pilzkrankungen im Getreide- sowie im Obst- und Weinbau eingesetzt und zählen zu einer der wichtigsten Wirkstoffgruppen im Pflanzenschutz. Azole sind aber auch bei der Behandlung von systemischen Pilzinfektionen des Menschen von besonderer Bedeutung, da diese Wirkstoffe im Vergleich zu anderen Verbindungen gut verträglich und daher häufig die einzige therapeutische Alternative sind.

In Anbetracht dieser Situation haben Mediziner der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft in jüngster Zeit Bedenken gegen den Einsatz von Azol-haltigen Pflanzenschutzmitteln erhoben. Es wurde die Vermutung geäußert, die wiederholte flächenmäßige Anwendung dieser

Stoffe bewirke eine Selektion resistenter, potenziell humanpathogener Pilze in der Umwelt, die dann auf den Menschen übergehen und zu lebensbedrohlichen systemischen Infektionen führen könnten, oder durch Azol-Rückstände in der Nahrung könne eine Azol-Resistenz bei der Pilzflora von Mensch und Tier induziert werden. Für die Behandlung dieser Erkrankungen blieben dann im wesentlichen nur noch Polyen-Antimykotika (Amphotericin B) und Flucytosin, die entweder vergleichsweise toxisch oder nur eingeschränkt wirksam seien.

Ob zwischen der Azol-Anwendung im Pflanzenschutz und dem zunehmend beobachteten Vorkommen von resistenten Pilzen beim Menschen ein Zusammenhang besteht, ist bislang jedoch offen, da es keine entsprechenden Untersuchungen, sondern nur Vermutungen bzw. Hypothesen gibt. Die vorliegenden Berichte über Azol-Resistenzen bei *Candida* spp. stammen überwiegend von abwehrgeschwächten Patienten (HIV, Transplantation, Chemotherapie) aus dem klinischen Bereich, die teilweise prophylaktisch und über einen längeren Zeitraum mit Azolen behandelt worden sind. Nur zum Teil durch eine Azol-Vorbehandlung erklärbar ist die Verschiebung im Spektrum klinischer Hefe-Isolate zu resistenteren Hefen. Ätiologisch ungeklärt sind Schimmelpilze als Infektionserreger des Menschen, die eine deutlich eingeschränkte Empfindlichkeit gegen zahlreiche Antimykotika aufweisen bis hin zur kompletten Antimykotika-Resistenz, z.B. im Falle von *Scedosporium prolificans*.

Im Hinblick auf den vorbeugenden Gesundheits- und Verbraucherschutz sollten die möglichen Auswirkungen der Azol-Anwendung im Pflanzenschutz auf die Resistenzentwicklung potenziell humanpathogener Pilze durch umfassende Untersuchungen abgeklärt werden.

Für die folgenden drei Projekte wurden von seiten des BgVV bereits Vorschläge für entsprechende Forschungsvorhaben vorgelegt:

1. Resistenzentwicklung von potenziell humanpathogenen Pilzen in der Umwelt als Folge der Anwendung von Azol-Fungiziden im Pflanzenschutz
2. Erhebungen zur Azol-Resistenz von potenziell humanpathogenen Pilzen im ambulanten, stationären und intensivmedizinischen Klinikbereich und mögliche Veränderungen in der Azol-Sensitivität im Verlauf der Therapie
3. Rückstandssituation von Azol-Fungiziden in/auf pflanzlichen Lebensmitteln

Das RKI sieht aktuell die Notwendigkeit, nicht zuletzt mit molekularen Methoden und ausgedehnten In-vitro-Empfindlichkeitprüfungen Daten für eine wissenschaftlich fundierte Diskussion zu erheben. Dabei sollten u.a. folgende Aspekte bearbeitet werden:

1. Vergleich des Resistenzmusters und ggf. weiterer Pathogenitätsfaktoren klinischer Isolate mit solchen aus dem landwirtschaftlichen Bereich der gleichen Spezies (ggf. getrennt nach ökologischer und nicht-ökologischer Landwirtschaft)
2. Typisierung von Isolaten potentiell humanpathogener Pilzarten aus der Vor-Azol-Ära (Zugriff auf Stammsammlungen) mit aktuellen Isolaten
3. Klärung der Frage, ob Resistenzen gegenüber landwirtschaftlich eingesetzten Azolen zu Kreuzresistenzen gegenüber Azolen in der Humanmedizin führen können.

Referenzen

- BBA (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft) (2001): Verzeichnis zugelassener Pflanzenschutzmittel, 2001. Braunschweig.
- Brent, K.J., and D.W. Hollomon (1998): Fungicide resistance: The assessment of risk. FRAC Monograph No. 2, GCPF, Brussels.
- Ellis, D., D. Marriott, R.A. Hajjeh; D. Warnock, W. Meyer, and R. Barton (2000): Epidemiology: surveillance of fungal infections. *Med. Myc.*, 38:173-182.

- Goff, D.A., S.L. Koletar, W.J. Buesching, J. Barnishan, and R.J. Fass (1995): Isolation of fluconazole-resistant *Candida albicans* from human immunodeficiency virus-negative patients never treated with azole. *Clin. Infect. Dis.*, 20:77-83.
- Groll, A, P. Shal, C. Mentzel, and M. Schneider (1994): Changing pattern of invasive mycoses at autopsy (abstract J 109). In: Program and abstracts of the 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Orlando, Florida). Washington, DC. Am. Soc. Microb.
- Holt, R.J., and A. Azmi (1978): Miconazole resistant *Candida*. *Lancet*, 1:50-51.
- IVA (Industrieverband Agrar e.V.) (2000): Gefährden Azol-Fungizide die Wirksamkeit von Antimykotika in der Medizin? Expertengespräch am 21. November 2000, Frankfurt/Main.
- Orni-Wasserlauf, R., E. Izhakov, Y. Siegman-Igra, E. Bash, I. Polacheck, and M. Giladi (1999): Fluconazole-Resistant *Cryptococcus neoformans* Isolated from an Immunocompetent Patient without Prior Exposure to Fluconazole. *Clin. Inf. Dis.*, 29:1592-1593.
- Perfect, J.R., and W.A. Schell (1996): The new fungal opportunists are coming. *Clin. Inf. Dis.*, 22:S122-3.
- Rote Liste (2001): Arzneimittelverzeichnis für Deutschland (einschließlich EU-Zulassungen und bestimmter Medizinprodukte), 2001. Rote Liste Service GmbH (Hrsg.), Frankfurt.
- Schmidt, H.H. (2000): Ergebnisse der Wirkstoffmeldungen für Pflanzenschutzmittel nach § 19 des Pflanzenschutzgesetzes für das Jahr 1998 im Vergleich zu den Jahren 1996 und 1997. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 52:81-91.
- SCCNFP (Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers) (1999a): Opinion concerning ketoconazole adopted by the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers during the plenary of 23 June 1999.
- SCCNFP (Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers) (1999b): Minutes of the 8th Plenary Meeting of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products, Brussels, 23 June 1999.
- Tumbarello, M., G. Caldarola, E. Tacconelli, G. Morace, B. Posterarao, R. Cauda, and L. Ortona (1996): Analysis of the risk factors associated with the emergence of azole resistant oral candidosis in the course of HIV infection. *J. Antimicrobiol Chemoth.*, 38:691-699.
- White, T.C., K.A. Marr, and R.A. Bowden (1998): Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. 11:382-402.