

Datum: 28 november 2012

Opsteller: 10.2.e

Vorige bespreking: -

Akkoord secretaris:

## **C- 247.I.5 Resistentie van humaan pathogene schimmels door gebruik van gewasbeschermingsmiddelen**

### **Achtergrond**

Bij patiënten met een verzwakte afweer kan de schimmel *Aspergillus fumigatus* levensbedreigende infecties veroorzaken. Deze infecties worden nu veelal behandeld met medicijnen die azolen bevatten. Ook in de landbouw en industrie worden azolen vaak gebruikt als schimmeldodende middelen (fungiciden).

Microbiologen van het UMC St Radboud hebben recentelijk vastgesteld dat er sinds 1998 bij de *Aspergillus* schimmel resistentie tegen azolen is ontstaan.

### **Onderzoek**

De literatuur over een mogelijke link tussen resistentie van de schimmel *Aspergillus fumigatus* tegen medicijnen die azolen bevatten en het gebruik van triazole-bevattende gewasbeschermingsmiddelen komt voornamelijk van de groep van art. 10.2.e pers gegevens aan de Radboud Universiteit.

Triazolen zijn een klasse van stoffen die zeer breed gebruikt worden in zowel gewasbeschermingsmiddelen, biocides, klinische en veterinaire toepassing. In de klinische toepassing worden ze onder andere gebruikt voor het bestrijden en voorkomen van de schimmel *Aspergillus fumigatus*. Deze *A. fumigatus* kan resistentie ontwikkelen tegen de medische gebruikte triazolen. In een patiënten-onderzoek dat vanaf juni 2007 tot januari 2009 plaatsvond in Nederland werd de frequentie van het voorkomen van deze resistentie onderzocht. In totaal werden 2062 isolaten van 1385 patiënten gescreend. De prevalentie van itraconazole-resistentie was 5.3% (van der Linden et al. 2011). 64% van de patiënten met een resistente *A. fumigatus* bleken nooit eerder behandeld te zijn met azolen. De meerderheid van die *A. fumigatus* resistente isolaten (90%) hadden een punt mutatie in codon 98 in combinatie met insertie van een tandem repeat in de promotor regio van het cyp51A gen (TR<sub>34</sub>/L98H mutatie).

In een studie van dezelfde vakgroep (Snelders et al., 2012) is gekeken naar de relatie tussen het gebruik van azolen in gewasbeschermingsmiddelen en resistentie in *A. fumigatus*. Er werd hierbij gebruikt gemaakt van 31 verschillende werkzame stoffen (zowel triazolen als overige azolen) die door het Ctgb tussen 1970 en 2005 toegestaan waren voor gebruik als gewasbeschermingsmiddel. In de studie is gekeken naar de gevoeligheid voor deze stoffen van klinische isolaten van *A. fumigatus* (wildtype en TR<sub>34</sub>/L98H) en *A. fumigatus* isolaten uit het milieu (wildtype en TR<sub>34</sub>/L98H).

Van de 31 stoffen waren er vijf triazolen fungicides die in hun structuurformule in hoge mate overeenkomen met de medische triazolen. Deze vijf fungicides waren wel werkzaam in de wildtypes, maar vertoonden geen activiteit tegen de TR<sub>34</sub>/L98H mutanten. In het onderzoek is ook gekeken of de medische triazole itraconazole en de vijf structuur-overeenkomende triazolen in staat zijn om de TR<sub>34</sub>/L98H mutatie te veroorzaken. Het inductie-experiment resulteerde in een resistent phenotype binnen 3 passages (in het artikel staat niet duidelijk aangegeven of dit voor alle geteste triazolen geldt). De TR<sub>34</sub>/L98H mutatie werd echter niet terug gevonden.

Er zijn dus enkele aanwijzingen uit *in vitro* studies dat bepaalde werkzame stoffen in gewasbeschermingsmiddelen, zoals de triazolen, in staat zouden kunnen zijn om kruis-resistentie te veroorzaken in *A. fumigatus*, een schadelijk micro-organisme voor de mens. Het is echter niet bewezen dat dit in de praktijk (*in vivo*) ook daadwerkelijk voorkomt. Ook zijn andere bronnen van azolen, bv gebruik in humaan klinische of veterinaire toepassingen of als biocide, niet meegenomen in het onderzoek van Snelders et al, 2012.

### **Opinie van EU Scientific Steering Committee**

De EU Scientific Steering Committee (SSC) heeft in 2002 een opinie uitgebracht over de "azole antimycotic resistance". De SSC kreeg de volgende 2 vragen voorgelegd van de EU Commissie:

- *Is it true that resistance of pathogenic fungi against antimycotic drugs poses an increasing problem and concern in human medicine?*
- *If so, is it likely that the development of resistance is related to the use of azole fungicides in crop protection or might other uses of these substances, e.g. as biocides, be a more plausible reason for the observation? Which options can the Scientific Committee identify to manage this resistance?*

De SSC concludeerde o.a.

*The cause of the resistance to treatment is not a simple issue. Based on "in vitro" data azole antifungals do not necessarily achieve fungicidal levels at doses normally given in clinical practice and successful treatment additionally relies to an important extent on the patient's ability to mount an immune response. As a result of improvements in medical treatment an increasing number of immune compromised patients have survived otherwise fatal diseases, and have required treatment for severe fungal infections. These have not been easily treated with azole fungicides.*

*The relationship between in vitro and in vivo antimicrobial activity is not as direct for antimycotics as it is for bactericidal agents. It is difficult to determine, therefore, whether the increased prevalence of resistance to treatment with antimycotics has been due predominantly to increasing resistance of pathogenic fungi or to failure of the patient's immune competence. An equivalent increase in the prevalence of resistance to treatment has, however, not been seen in otherwise healthy patients (not immune compromised) who also suffer severe fungal infections. An important component to resistance to treatment must therefore be treatment failure as opposed to changes in primary or secondary fungal resistance.*

...

*Having examined the scientific evidence regarding the use of azole antimycotics in agriculture, the SSC do not consider that the increased resistance to treatment of fungal infections with azole antimycotics is related to the use of azole fungicides in agriculture. Although resistance to azole antimycotics has been observed amongst plant specific pathogens this problem has been limited in extent and largely contained as a result of the introduction of appropriate control measures.*

Het mogelijke verband tussen de resistentie in *A. fumigates* en het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen wordt volgens de SSC ook niet gevonden als we een vergelijking maken met de situatie in de VS. In de EU wordt geschat dat meer dan de helft van de totale hectares aan granen en druiven jaarlijks behandeld worden met azole fungiciden. Dit is een veel hoger gebruik dan in de VS, waar maar in 5% van het totaal behandeld wordt. Ondanks het grote verschil in de mate van azole fungicide gebruik is er geen verschil gevonden in de prevalentie van resistentie voor azole behandeling in de mens (Scientific Steering Committee 2002).

### **Nemen wij het mee in de beoordeling en zo niet missen we dan wat? Komt dit doordat er geen toetsingskader is?**

Op dit moment wordt er in de beoordeling voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen niet specifiek gekeken naar de ontwikkelen van resistentie in humaan pathogenen. De mogelijke ontwikkeling van resistentie tegen doelorganismen (plaagorganismen) door het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen wordt wel meegenomen. Een van de data vereisten voor werkzame stoffen onder Verordening 544/2011 is "3.6 - Informatie over de (mogelijke) ontwikkeling van resistentie en passende beheersstrategieën", waarin staat dat, waar beschikbaar, gegevens verstrekt moeten over het mogelijk ontstaan van resistentie of kruisresistentie. Daarnaast is een van de data vereisten voor middelen onder Verordening 545/2011 "6.3 – Gegevens over de (mogelijke) ontwikkeling van resistentie", waarin staat dat laboratoriumgegevens en, indien beschikbaar, veldinformatie moeten worden verstrekt betreffende de (mogelijke) ontwikkeling van resistentie of kruisresistentie tegen de werkzame stof(fen) of tegen verwante stoffen bij populaties van doelorganismen. Indien er aanwijzingen bestaan dat bij commercieel gebruik waarschijnlijk resistentie zal worden ontwikkeld, moet een beheersstrategie worden vastgesteld om de ontwikkeling van (kruis)resistentie bij doelsoorten tot een minimum te beperken. Tevens moet er een waarschuwing op het etiket worden gezet. De hoeveelheid toepassingen kan mogelijk worden beperkt. Binnen Europa loopt nog de discussie om deze vereisten verdere invulling te geven.

### **Wat kunnen wij signaleren naar Den Haag?**

In een recent onderzoek (Snelder et al., 2012) zijn er (*in vitro*) aanwijzingen voor een mogelijke relatie tussen het gebruik van triazolen als gewasbeschermingsmiddelen en de prevalentie van resistentie van *Aspergillus fumigates* tegen medische triazolen. In de studie wordt echter geen directe link aangetoond. Er is heel specifiek gekeken naar gewasbeschermingsmiddelen, en andere bronnen van azolen zijn buiten beschouwing gelaten. Hoewel er in de Ctgb-beoordeling voor toelating van gewasbeschermingsmiddelen niet specifiek gekeken wordt naar de ontwikkeling van resistentie in humaan pathogenen, wordt het ontstaan van resistentie in het milieu wel beoordeeld. Onder de huidige Verordening 1107/2009 zijn er datavereisten voor zowel de werkzame stof en het middel wat betreft de mogelijke ontwikkeling van resistentie van de doelorganismen. Wanneer er een indicatie is dat een middel resistentie kan veroorzaken moeten er beheersstrategieën toegepast worden. Door het toepassen van deze strategieën wordt zeer waarschijnlijk ook het ontstaan van resistentie in de humane geneeskunde beperkt, mocht er een directe link zijn.

### **Moet er regelgeving komen of niet?**

Op het moment bestaat er geen regelgeving omtrent het ontwikkelen van resistentie in humaan pathogenen, zoals *A. fumigates* door het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen. Wel bestaat er regelgeving omtrent het ontstaan van resistentie van doelorganismen door het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen.

Op basis van de screening van beschikbare literatuur is het Ctgb van mening dat er geen reden is tot directe aanpassing van de beoordelingsmethode of tot intrekking van de triazole middelen. Het is wel belangrijk dat dit onderwerp verder wordt onderzocht door bijvoorbeeld het RIVM, aangezien de specifieke kennis m.b.t. resistentie tegen humane medicijnen bij het Ctgb beperkt is.

**Referenties:**

van der Linden, J.W.M, Snelders, E. Kampinga, G.A. Rijnders, B.J.A. Mattsson, E. Debets-Ossenkopp, Y.J. Kuijpers, E.J. Van Tiel, F.H. Melchers, W.J.G. Verweij, P.E. Clinical implications of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, the Netherlands, 2007-2009. Emerging Infectious Diseases 2011; 17 (10): 1846-1854

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3311118/>

Snelders, E. Camps, S.M.T. Karawajczyk, A.K. Schafternaar, G. Kema, G.H.J. van der LEE, H.A. Klaassen, C.H. Melchers, W.J.G. Verweij, P.E. Triazole fungicides can induce cross-resistance to medical triazole in *Aspergillus fumigatus* PLoS ONE 2012; 7 (3): 1-11

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0031801>

Scientific Steering Committee, Opinion on azole antimyotic resistance. Adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 27