

R 2547 E

mykosen

Herausgeber und Schriftleiter: Hans Götz, Essen, Heinz Grimmer, Wiesbaden
Detlev Hantschke, Essen, Wolf Meinhof, München, Hans Rieth, Hamburg



11/1970

1. November

Aus der Universitäts-Hautklinik Sofia
(Direktor: Prof. Dr. K. BALABANOV)

Vergleichende Untersuchungen über die Resistenz der Dermatophyten gegen antimykotische Antibiotika

V. A. BALABANOFF und P. USUNOV

Herrn Prof. Dr. K. Balabanov zum 65. Geburtstag

Die Überprüfung antimykotischer Antibiotika und Antiseptika gegen Dermatophyten ist Gegenstand zahlreicher Veröffentlichungen in Zusammenhang mit der Einführung neuer therapeutischer Präparate gegen verschiedene Mykosen.

Vergleichende experimentelle Untersuchungen der Resistenz der Dermatophyten gegen die pilzhemmende Wirkung von antimykotischen Substanzen in bezug auf ihre biologische Differenzierung und ihre phylogenetische Gradierung, Objekt unserer Untersuchungen, sind, soweit wir wissen, noch nicht durchgeführt.

Material und Methodik

Es wurde die antimykotische Wirkung von Griseofulvin und von zwei antimykotischen Substanzen A und B von Aktinomyzeten (GUSCHTEROV und Mitarb., 13) auf Dermatophyten untersucht. Als Teststämme dienten 30 Dermatophyten verschiedener Species: *K. ajelloi* 2, *T. terrestre* 2, *T. mentagrophytes* 3, *T. tonsurans* 1, *T. rubrum* 4, *T. (A.) quinckeanum* 2, *T. verrucosum* 2, *T. (A.) gallinae* 1, *A. schönleinii* 2, *T. (E.) interdigitale* 3, *E. floccosum* 2, *T. violaceum* 2, *M. ferrugineum* 1, *M. canis* 1 und *M. gypseum* 2.

Als Nährböden dienten 2 % Dextroseagar und 2 % Dextrosebouillon nach SABOURAUD mit verschiedenen Konzentrationen der Antimykotika als Nährbodenzusatz. Die Verdünnungen wurden folgendermaßen hergestellt:

Griseofulvin: 10 mg Griseofulvin fine particle BP 63 VEB Arzneimittelwerk Dresden, DDR, wurden in 10 ccm Aceton gelöst. Dann wurden bestimmte Mengen von dieser Standardlösung, — 5 ccm, 2,5 ccm, 0,6 ccm, 0,3 ccm, 0,1 ccm, 0,07 ccm, 0,04 ccm, 0,02 ccm und 0,01 ccm — als Nährbodenzusatz in 100 ml Erlennmeyerkölbchen mit 2 % verflüssigtem und auf 56° C abgekühltem Dextroseagar nach SABOURAUD eingefüllt. Nach energischem Schütteln wurde der flüssige Agar, mit den verschiedenen Konzentrationen des Antimykotikums, steril in Reagenzgläser gegossen, schräggelegt und erstarren lassen. Die Beimpfung erfolgte mit sehr kleinen annähernd gleichen Partikeln von den Kulturen der verschiedenen Dermatophyten, die bei 25° C kultiviert wurden. Ablesungen wurden am 5., 10. und 15. Tag vorgenommen bei entsprechender Kontrolle ohne Antimykotikumzusatz.

Dieselbe Methode wurde bei den aktinomyzetischen Antimykotika A und B angewandt. In diesem Fall aber lagen die Konzentrationen höher — von 800 γ /ml bis 10 γ /ml —, entsprechend ihrer schwächeren antimykotischen Wirkung. Für jedes Antimykotikum wurden je zwei Prüfungen durchgeführt.

Ergebnisse

Es wurde eine sehr unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen Dermatophytenarten gegenüber den geprüften antimykotischen Substanzen festgestellt. Es muß betont werden, daß die verschiedenen Stämme gleicher Art in einer zweiten Versuchsserie keine großen Abweichungen ihres Verhaltens gegen ein bestimmtes Antimykotikum zeigten.

Die Resultate unserer Untersuchungen geben uns die Möglichkeit, die Dermatophytenarten in einige Gruppen einzuordnen und zwar je nach dem Resistenzgrad gegen die Wirkung der Antimykotika (Tab. 1 und 2). Am wenigsten wurden die primitiven, saprophytischen oder Bodendermatophyten gehemmt — *K. ajelloi*, *T. terrestre* — und die

Tabelle 1: Vergleich der Hemmwirkung von Griseofulvin im Verdünnungstest gegen verschiedene Dermatophytenarten (2% Dextrose-Agar nach SABOURAUD)

Dermatophytenart	Anzahl der Stämme	Griseofulvin-Konzentration in Microgr/ml											
		Kontrolle	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,4	0,2	0,1
Trichophyton terrestre	2	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Keratinomyces ajelloi	2	++++	+++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Trichophyton mentagrophytes	3	++++	+	+	+	+	+	+	++	+++	+++	++++	++++
Trichophyton quinckeanum	2	++++	+	+	+	+	+	■	++	+++	+++	++++	++++
Trichophyton interdigitale	3	++++	—	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	++++
Trichophyton tonsurans	1	++++	—	—	—	+	++	++	+++	+++	++++	++++	++++
Trichophyton rubrum	4	++++	—	—	—	—	++	++	+++	+++	++++	++++	++++
Trichophyton violaceum	2	++	—	—	—	—	—	+	++	++	++	++	++
Epidermophyton floccosum	2	++++	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	++++
Microsporium ferrugineum	1	++++	—	—	—	—	—	—	+	++	++	+++	+++
Achorion schönleinii	2	+++	—	—	+	+	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Trichophyton gallinae	1	+++	—	—	+	++	++	++	++	++	++	++	++
Trichophyton verrucosum	2	+++	—	—	—	+	+	+	+	++	++	++	++

Bedeutung der Zeichen

++++ : ungehemmtes Wachstum wie in der Kontrolle

+++ : wenig gehemmtes Wachstum

++ : stark gehemmtes Wachstum

+ : spärliches Wachstum

— : kein Wachstum

Tabelle 2: Vergleich der Hemmwirkung des aktinomyzeten Antimykotikum „A“ im Verdünnungstest gegen verschiedene Dermatophytenarten (2% Dextrose-Agar nach SABOURAUD)

Dermatophytenart	Kontrolle	Konzentration des aktinomyzeten Antimykotikum A γ /ml												
		780	660	520	440	390	330	275	220	130	88	65	39	13
Trichophyton terrestric	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Keratinomyces ajelloi	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Microsporum canis	++++	+++	++	+	+	+	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Trichophyton interdigitale	++++	+++	++	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++
Microsporum gypseum	++++	--	-	+	+	+	++	++	++	++	+++	++++	++++	++++
Trichophyton mentagrophytes	++++	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++	++	+++	+++
Trichophyton rubrum	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++
Achorion schönleinii	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++
Trichophyton gallinae	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++
Trichophyton verrucosum	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++

Anmerkung

Das Wachstum bei den in den Kästchen stehenden Verdünnungen zeigen die Abbildungen 1—4

Übergangsform in Richtung zum Parasitismus — *M. gypseum* (Abb. 1). Verhältnismäßig schwach gehemmt wurden die zooanthropophilen Mehrwirtsarten *T. mentagrophytes* (Abb. 2) und *T. (A.) quinckeanum* gegen *Griseofulvin* und *M. canis* und *T. (E.) interdigitale* gegen *Antimykotikum A*. Höher empfindlich in der Empfindlichkeits-Skala waren dagegen die pathogenen, zoophilen und anthropophilen Arten *T. rubrum* (Abb. 3), *T. ton-*

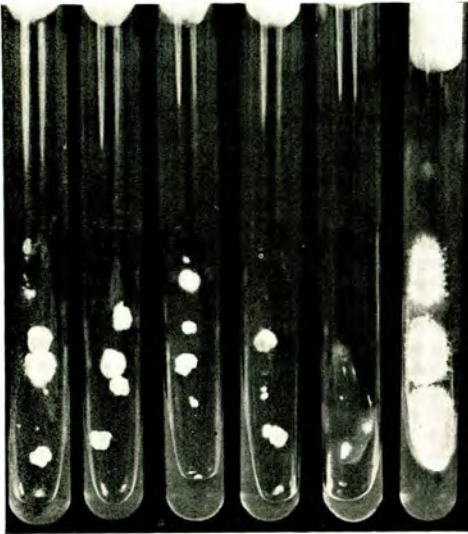


Abb. 1: Resistenzgrad von *Microsporium gypseum* gegen aktinomyzetisches Antimykotikum A in Konzentrationen γ /ml: 39, 88, 220, 390 und 660, rechts — Kontrolle

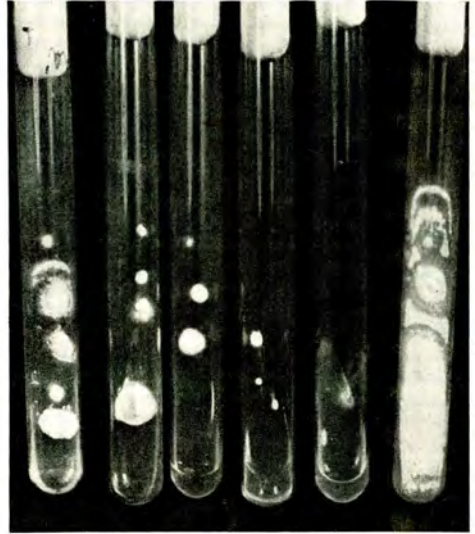


Abb. 2: Resistenzgrad von *Trichophyton mentagrophytes* gegen aktinomyzetisches Antimykotikum A in Konzentrationen γ /ml: 39, 88, 220, 390 und 660, rechts — Kontrolle

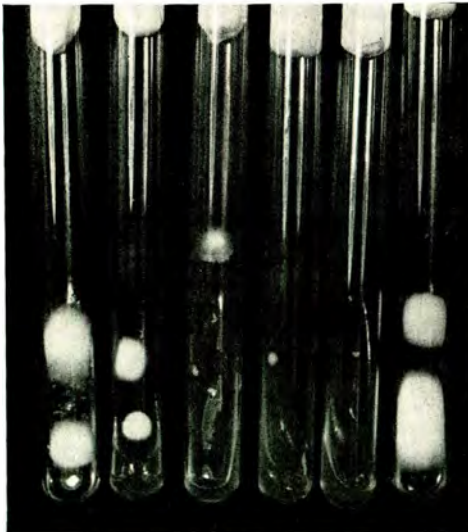


Abb. 3: Empfindlichkeitsgrad von *Trichophyton rubrum* gegen aktinomyzetisches Antimykotikum A in Konzentrationen γ /ml: 13, 39, 88, 220 und 275, rechts — Kontrolle

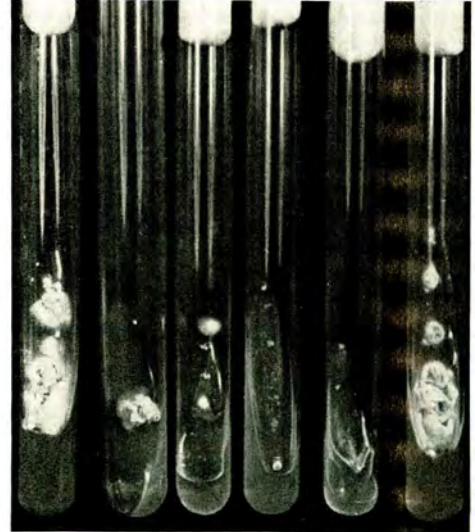


Abb. 4: Empfindlichkeitsgrad von *Achorion schönleinii* gegen aktinomyzetisches Antimykotikum A in Konzentrationen γ /ml: 13, 39, 65, 88 und 130, rechts — Kontrolle

surans, *T. (A.) gallinae*, *T. violaceum* und *A. schönleinii* (Abb. 4). Eine noch höhere Empfindlichkeit haben *E. floccosum* und *M. ferrugineum* gezeigt. *A. schönleinii* und *T. verrucosum* wiesen eine verhältnismäßig höhere Resistenz, im Gegensatz zu ihrer höheren biologischen Differenzierung, gegen Griseofulvin auf. *A. schönleinii* wurde sogar in Konzentrationen von 0,2 mgr/ml bis 0,78 mgr/ml stimuliert!

Die von uns beobachteten makro- und mikromorphologischen Veränderungen der Kulturen, die die geprüften Antimykotika hervorgerufen haben, werden in einer anderen Arbeit veröffentlicht. Diese Veränderungen haben auch eine phylogenetische Bedeutung.

Aus unseren Untersuchungen ist ersichtlich, daß die Resistenz der verschiedenen Dermatophytenarten gegen Antimykotika — Griseofulvin, Aktinomyzetenantimykotika A und B — von dem Niveau der biologischen Differenzierung abhängig ist. Bemerkenswert weniger empfindlich und resistent sind die primitivsten Bodendermatophyten, gefolgt von den Übergangsformen zwischen den Boden- und echten, pathogenen Dermatophyten — *T. mentagrophytes* und *M. canis* —, die eine reichere Morphologie, ein schnelles Wachstum und eine große Vitalität besitzen. Weniger resistent, also empfindlicher sind dagegen die höher differenzierten, pathogenen Arten, die sich im Laufe der Evolution an einen Wirt mehr angepaßt haben: *T. rubrum*, *E. floccosum*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *M. ferrugineum* usw. Es ist interessant und wichtig zu betonen, daß wir diese Gesetzmäßigkeit auch in den Untersuchungen von zahlreichen anderen Autoren über die Wirkung von antimykotischen Substanzen gegen Dermatophyten gefunden haben:

aus *Schimmelpilzen* — Griseofulvin (RIETH, 27; GRIN, NADAŽDIN und OŽEGOVIĆ, 14; KAROLEVA, 19; ALTERAŞ und EVOLCEANU, 2; KNOTH, KNOTH-BORN und RANFT, 20; JUNG und GERHARD, 18; SCHICK und ZACHARIEV, 30), Trichothezin und Levorin (KAROLEVA, 19), Penicillin und Rafanin (DOZA, 10), Zefaloridin (LOSTIA und PINETTI).

aus *Actinomyzeten* — Etruscomycin (BIGGIO und LOSTIA, 8), Desertomycin (RIETH, 28; BRAUN und STROHBACH, 9), Azalomycin (ABOU-GABAL und RIETH, 1).

aus *Antiseptika* usw. — Cu, Co und Zn (GÖTZ und ARONIS, 12), Xeroform (ITO und RIETH, 17), CO₂ (WILLIAMS, 34), Phenol, Sublimat und H₂O₂-Lösung (SCHÖNBORN und LUDEWIG, 31, 32).

aus *biologischen Produkten* — Hyaluronidase (PINETTI und BIGGIO, 24), Blutserum (GRIN und OŽEGOVIĆ, 15; PINETTI, BIGGIO und FERRARI, 25), Staphylotoxin (PINETTI und CONTINI, 26), Actol, Afungin, Teer-Sulfoderm (SCHÖNBORN und LUDEWIG, 31).

K. ajelloi ist resistenter im Vergleich zu anderen pathogenen Dermatophytenarten gegen die zerstörende Wirkung von *Diploscapter coronata* (HEJTMÁNKOVÁ-UHROVÁ und HANELOVÁ, 16). Nach GÖTZ (11), haben sich die sporenen Dermatophytenarten als resistenter gegen Antimykotika erwiesen.

Diese Resultate entsprechen vollständig der von uns formulierten Regel, ausgehend von unseren experimentellen antibiotischen Untersuchungen (6), und den Literaturangaben, daß „die Resistenz der Dermatophyten gegen Antimykotika umgekehrt proportional dem Grad ihrer biologischen Differenzierung ist“ (BALABANOFF, 4). Die primitiven Arten sind viel resistenter, die höher differenzierten pathogenen Arten dagegen sind empfindlicher. Darum, im allgemeinbiologischen Aspekt, halten die pathogenen Arten, unter Naturbedingungen im Boden, dem antagonistischen Einfluß der dort vorhandenen keratophilinen und anderen Mikroflora schwer stand und sind dort nicht zu finden. Die echten Bodendermatophyten sind dagegen widerstandsfähiger gegenüber ungünstigen Bedingungen und dem gesamten Komplex von Faktoren des äußeren Milieus (4, 7).

Unsere gegenwärtigen vergleichenden Untersuchungen über die antimykotische Resistenz der Dermatophytenarten in einem verschiedenem Grad der parasitären Adaptation unterstützen vollständig diese Auffassungen.

Die antagonistischen Eigenschaften der Dermatophyten sind von Bedeutung für ihre Artcharakteristik im evolutiven Aspekt, für ihre Variabilität und für den Prozeß ihrer parasitären Adaptation.

Zusammenfassung

Es wurde die Resistenz gegen Griseofulvin und gegen zwei antimykotische Substanzen aus Aktinomyzeten — A und B — bei 15 Dermatophytenarten (30 Stämme) untersucht. Bemerkenswert weniger empfindlich und resistent haben sich die primitivsten, saprophytischen Bodendermatophyten — *T. terrestre* und *K. ajelloi* — gezeigt, gefolgt von Übergangsformen zwischen den Boden- und echten, pathogenen Dermatophyten, denn zooanthropophilen *T. mentagrophytes*, *M. canis* und *T. (A.) quinckeanum*. Viel empfindlicher sind dagegen die höher differenzierten zoophilen und anthropophilen Dermatophyten, die sich an einen bestimmten Wirt enger angepaßt haben — *T. rubrum*, *E. floccosum*, *T. (A.) gallinae*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. verrucosum*, *A. schönleinii* und *M. ferrugineum*. Die Resistenz der Dermatophyten gegen Antimykotika ist also umkehrt proportional dem Grad ihrer parasitären Adaptation (1960). Die Untersuchungen zahlreicher Autoren über antimykotische Substanzen aus Schimmelpilzen, Aktinomyzeten, Antiseptika und biologischen Produkten stimmen mit diesen Resultaten überein.

Literatur

1. ABOU-GABAL, M. und H. RIETH: *Mykosen* 8, 597 (1968).
2. ALTERAŞ, I. und R. EVOLCEANU: *Mycopathol. (Den Haag)* 37, 109 (1969).
3. BALABANOFF, V. A.: *Zbl. Bakter. I Orig.* 165, 251 (1956).
4. BALABANOFF, V. A.: *Zbl. Bakter. I Orig.* 179, 241 (1960/1958)).
5. BALABANOFF, V. A.: *Mykosen* 6, 38 (1963).
6. BALABANOFF, V. A., NIKOLOV, N. und W. NAUMOFF: *II Congr. Mikrobiol. bulg. Acad. sci.* 20—22 Nov. 220 (1969).
7. BALABANOFF, V. A. und P. USUNOV: *Mykosen* 13, 145 (1970).
8. BIGGIO, P. und A. LOSTIA: *Rass. Med. Sarda* 6, 585 (1962).
9. BRAUN, W. und M. STROHBACH: *Mykosen* 10, 479 (1967).
10. DOSA, A.: *Derm. Wschr.* 125, 337 (1952).
11. GÖTZ, H.: *Handbuch Haut- u. Geschl.krkh., Ergänzungsband IV/3*, 28 (1962).
12. GÖTZ, H. und E. ARONIS: *Hautarzt* 13, 104 (1962).
13. GUTSCHEROV, L. K. und Mitarb.: *II Congr. Mikrobiol. bulg. Acad. sci.* 20—22 Nov. 230 (1969).
14. GRIN, E. I., M. NADAŽDIN und L. OŽEGOVIĆ: *Mycopathol. (Den Haag)* 30, 31 (1966).
15. GRIN, E. I. und L. OŽEGOVIĆ: *Naučno Drustvo BiH* 23, 115 (1964).
16. HEJTMÁNKOVÁ-UHROVÁ und A. HANELOVÁ: *Mykosen* 5, 91 (1962).
17. ITO, K. und H. RIETH: *Bull. Pharm. Research Inst.* 32, 28 (1961).
18. JUNG, H.-D. und H. GERHARDT: *Derm. Wschr.* 38, 310 (1963).
19. KAROLEVA, V. P.: *Antibiotiki* 1, 69 (1964).
20. KNOTH, W., KNOTH-BORN, R. C. und H. RANFT: in „Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen“, Herausg. Springer-Verlag, Götz, H. und H. RIETH, 14 (1962).
21. LOSTIA, A. und P. PINETTI: *Rass. Med. Sarda* 6 bis, 615 (1965).
22. PINETTI, P. und P. BIGGIO: *Rass. Med. Sarda* 6, 679 (1965).
23. PINETTI, P. und P. BIGGIO: *Rass. Med. Sarda* 6 bis, 875 (1967).
24. PINETTI, P. und P. BIGGIO: *Minerva Dermatol.* 40, 490 (1965).
25. PINETTI, P., BIGGIO, P. und L. FERRARI: *Rass. Med. Sarda* 2, 193 (1963).
26. PINETTI, P. und D. CONTINI: *Rass. Med. Sarda* 60, 257 (1958).
27. RIETH, H.: *Bull. Pharm. Research Inst.* 29, 16 (1960).
28. RIETH, H.: in „Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen“, Herausg. Springer-Verlag, Götz, H. und H. RIETH, 18 (1962).
29. SCHALLER, K. F., SCHUBACH, G. und H. RIETH: *Mykosen* 11, 419 (1968).
30. SCHICK, G. und Z. ZACHARIEV: *Derm. Venerol. Sofia* 4, 237 (1967).
31. SCHÖNBORN, CHR. und L. LUDEWIG: *Derm. Wschr.* 152, 1105 (1966).
32. SCHÖNBORN, CHR. und L. LUDEWIG: *Mykosen* 11, 77 (1968).
33. URABE, H. und T. NAGASHIMA: *Derm. Intern.* 8, 36 (1969).
34. WILLIAMS (1938): in GÖTZ, H. *Handbuch der Haut- u. Geschl.krkh., Erg.Bd. IV/3*, 28 (1962).

Anschr. d. Verf.: Univ.-Hautklinik Sofia, Bulgarien