

Wählt man nun an Stelle der genannten Kulturmedien das KIRCHNER¹- oder das DUBOS-Milieu², die neben einfachen definierten Bestandteilen noch Serum respektive «Tween 80» enthalten, und prüft unter diesen Bedingungen verschiedene als wirksam bekannte Hemmstoffe, so erfährt die Wertigkeitsskala dieser Inhibitoren beträchtliche Änderungen (Tabelle I). Während das Hemmvermögen einzelner weniger Stoffe in allen Kulturmedien in denselben Größenordnungen liegt, so sind bei den meisten andern die zur Wirksamkeit notwendigen Grenzkonzentrationen sehr viel höher, wenn in KIRCHNER- oder DUBOS-Medium getestet wird. Wir werden a. a. O. ausführlicher auf diese Verhältnisse eingehen und erwähnen hier lediglich die wichtigsten Punkte unserer Versuchsergebnisse.

Tabelle I

Die Abhängigkeit des Hemmvermögens verschiedener Substanzen auf Tuberkelbazillen vom Kulturmedium

Substanz	Kleinste eben noch hemmende Konzentration* in Nährmilieu nach		
	LOCKEMANN	KIRCHNER	DUBOS
β -Naphthylamin ³	1:400 000	1:1 000	>1:1 000
p-Phenetidin ³	1:800 000	>1:1 000	1:1 000
p-Aminodiphenylmethan ⁴	1:800 000	1:1 000	>1:1 000
Promin ⁵	1:5000	1:2–4 000	1:1 000
Sulfathiazol	1:25 000	1:1 000	1:4 000
Chaulmoogra-säureester (Moogrol)	1:50 000	1:1 000	1:1 000
Streptomycin	1:600 000	1:100 000	1:500 000

* in Mol/l

Es hat sich folgendes gezeigt:

1. Serum und «Tween 80» reduzieren die Hemmkraft zahlreicher Stoffe in ähnlichem Umfange.

2. Diese antagonistische Beeinflussung ist sowohl bei Serum wie bei «Tween 80» an bestimmte Konzentrationen dieser Antagonisten gebunden.

3. Dieser Antagonismus ist auch auf festen Agar-nährboden, sofern sie Serum oder «Tween 80» enthalten, zu beobachten.

4. Der antagonistische Effekt von «Tween 80» kann durch geeignete Verdünnung dieses «detergent» von dessen Diffusionswirkung auf die Tuberkelbazillen⁶ getrennt werden.

5. In Serum- und «Tween 80»-freien Medien liegt die Hemmkraft der geprüften Inhibitoren bei Tiefen- und Oberflächenwachstum in derselben Größenordnung⁷.

¹ O. KIRCHNER, Zbl. Bakt. I Orig. 124, 403 (1932).

² R. J. DUBOS und B. D. DAVIS, J. exp. Med. 83, 409 (1946).

³ H. BLOCH, H. LEHR und H. ERLÉNMEYER, Helv. chim. acta 28, 1406 (1945).

⁴ H. BLOCH, G. BRUBACHER, H. ERLÉNMEYER und E. SUTER, Helv. chim. acta (im Druck).

⁵ M. I. SMITH, E. W. EMMART und B. B. WESTFALL, J. Pharmacol. 74, 42 (1942).

⁶ R. J. DUBOS, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 58, 361 (1945).

⁷ Diese Feststellung gilt nur bei Beimpfung mit relativ großen Inocula. Beimpft man dagegen mit sehr wenig Bakterien, so erweist sich die Tiefenkultur als empfindlicher für die Wirkung verschiedener Hemmstoffe⁸.

⁸ W. F. DREA, J. Bact. 48, 547 (1944).

Die Bedeutung dieser Befunde für die *in vitro*-Auswertung tuberkulostatischer Substanzen liegt auf der Hand, besonders wenn man berücksichtigt (siehe Tabelle I), daß zwei im Tierversuch wirksame Präparate, Promin und Streptomycin, im Gegensatz zu vielen andern durch Serum und «Tween 80» nur unwesentlich enthemmt werden.

Wir behalten uns die Diskussion dieses Phänomens für die erwähnte ausführliche Mitteilung vor; ebenso wird dort über Versuche zu einer experimentellen Deutung dieses Antagonismus berichtet werden.

HUBERT BLOCH, H. ERLÉNMEYER und EM. SUTER

Hygienisches Institut und Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel¹, den 15. März 1947.

Summary

The addition of serum or «Tween 80» to a synthetic culture medium for tubercle bacilli considerably reduces the inhibitory effect of various substances with the exception of streptomycin and promin, whose effect is less weakened, and which retain their tuberculostatic action to a considerable degree. The antagonistic effect of «Tween 80» is still recognizable in small dilutions where its diffusion effect can no longer be observed.

¹ Die Arbeit wurde durch einen Arbeitsbeschaffungskredit des Bundes ermöglicht, für dessen Gewährung wir auch an dieser Stelle danken.

Sur le mécanisme de l'oligurie du Chien brûlé

Nous avons constaté précédemment que, chez le Chien endormi au chloralose et recevant du liquide physiologique en infusion i. v. constante, la brûlure cutanée détermine une chute de la diurèse aqueuse¹. Nous avons montré ensuite que lorsque deux Chiens sont mis en circulation croisée carotidojugulaire, carotido-carotidienne ou jugulo-jugulaire, la brûlure de l'un des animaux provoque une baisse de la diurèse de l'autre, dans les mêmes conditions d'hydratation continue². Ces dernières expériences semblaient indiquer la production, chez l'animal brûlé, d'une substance anti-diurétique véhiculée par le sang. On sait que l'oligurie après brûlure étendue ou shock traumatique a été attribuée à des lésions hypothalamiques³, à l'hémolyse⁴, à une substance vasoconstrictrice, chimiquement indéterminée, ayant pour effet de réduire le débit sanguin du rein⁵. D'autre part, OLSON et NECHELES⁶ ont montré que chez l'animal brûlé, l'injection de plasma ou d'une solution de gélatine a peu d'effet sur la restauration de la diurèse. Par contre, suivant ces mêmes auteurs, une solution isotonique de sulfate sodique est active chez le brûlé et cela bien plus que du NaCl à 2%, la solution de Tyrode, le liquide physiologique contenant 0,87% de NaHCO₃, etc.

¹ G. BARAC, C. r. Soc. Biol. 140, 580 (1946).

² G. BARAC, C. r. Soc. Biol. (sous presse).

³ L. CHRISTOPHE, La Mort des Brûlés, 94 pages. Masson & Cie., Editeurs, Paris 1939.

⁴ R. J. BING, Bull. Johns Hopkins Hosp. 74, 161 (1944).

⁵ A. C. CORCORAN, R. D. TAYLOR, I. H. PAGE, Ann. Surg. 118, 871 (1943).

⁶ W. H. OLSON et H. NECHELES, J. lab. a. clin. Med. 30, 371 (1945).

Aussi, avant d'admettre l'apparition réelle d'une substance antidiurétique chez nos Chiens brûlés et poursuivre nos recherches vers sa mise en évidence plus certaine et éventuellement son identification, diverses objections, formulées par nous-même, devaient être écartées expérimentalement. Le but de cette note est de répondre par des faits à ces objections.

Première objection. La chute de la diurèse est due à l'hypoprotéinémie résultant, d'une part, de l'hydratation elle-même et, d'autre part, de l'extravasation d'une fraction importante des protéines plasmatiques, causée par la brûlure.

L'expérience ci-dessous répond à cette objection. Un Chien de 10,5 kg endormi au chloralose comme d'habitude, reçoit, en i. v., pendant toute la durée de l'expérience, du plasma frais de Chien, dilué au tiers, au moyen de liquide physiologique. Les prélèvements d'urine, la mesure de la pression artérielle et la brûlure, sont effectués comme dans nos expériences précédentes. Des prélèvements de sang artériel sont faits au cours de l'expérience et l'on dose, dans les sérums correspondants, l'azote total et l'azote non protéique, au microkjeldahl.

Résultats: Chien 10,5 kg. Brûlure 17 h 04 à 17 h 06. Surface brûlée 26 · 32 cm.

Heure	16,24	16,36	16,48	17,00	17,12	17,24	17,36
Press. art.	17,00	17,00	17,50	17,50	17,00	18,00	18,50
Urine cm ³ /h	14,50	16,50	13,00	30,00	7,50	10,00	5,00
N. prot.				6,95			7,20

Dans cette expérience, la diurèse tombe, 30 min après la brûlure, à 16%, alors que la protéinémie reste pratiquement inchangée.

Deuxième objection. La chute de la diurèse est due à une augmentation notable de la viscosité sanguine.

Semblable objection pouvait paraître, a priori, non fondée, puisque dans nos expériences antérieures, le Chien dont on suivait la diurèse, «le Chien des reins», recevait toujours du liquide physiologique en i. v. Cependant, comme l'hydratation instituée pouvait être insuffisante, il y avait lieu de soumettre ce deuxième facteur possible de l'oligurie, à la vérification expérimentale.

Les résultats, ci-dessous, répondent à cette deuxième objection. La marche générale de l'expérience est la même que précédemment, cependant qu'au lieu de plasma on infuse en i. v. du liquide physiologique. De plus, une carotide est dénudée ligaturée à son extrémité céphalique. On prélève, à différentes reprises, 10 cm³ de sang carotidien, citraté au dixième, dont on mesure la viscosité, à l'aide d'une pipette de 5 cm³, à double trait, effilée en capillaire, à son extrémité inférieure. La vitesse d'écoulement libre du sang est chronométrée, l'extrémité inférieure de la pipette plongeant dans de l'eau. Tous les sangs dont on détermine ainsi la viscosité sont à la même température. D'autre part, de petites prises de sang carotidien, de l'ordre de 0,3 à 0,4 cm³, sans anticoagulant, permettent de mesurer, au moyen de la technique de VAN-SLYKE et collaborateurs¹, les variations de la densité sanguine, au cours même de l'expérience.

¹ R. A. PHILLIPS, D. D. VAN SLYKE, V. P. DOLE, K. EMERSON, P. HAMILTON et R. ARCHBALD, Bull. U. S. Army Department, Dec. No. 71 (1943).

Résultats: Chien 13 kg. Brûlure 11 h 12 à 11 h 13. Surface brûlée 24 · 29 cm.

Heure	10,45	10,53	10,56	10,59	11,05	11,07
Press. art.	17,00					16,75
Urine cm ³ /h	24,00		65,00			67,63
Viscosité				71''		
Densité		1049			1048	

Heure	11,22	11,24	11,37	11,52	12,00	12,07
Press. art.	17,75		18,00	17,45		18,25
Urine cm ³ /h	19,20		12,00	14,80		11,60
Viscosité					72''	
Densité		1048				

Heure	12,10	12,37	12,52	12,56	13,12	13,15
Press. art.		17,45	18,00		18,50	
Urine cm ³ /h		5,20	4,00		3,3	
Viscosité				63''		57''
Densité	1047	1046			1046	

Dans cette expérience, la diurèse est tombée de 67,63 cm³/h à 3,3 cm³/h alors que la viscosité et la densité du sang, non seulement n'ont pas augmenté après la brûlure, mais, au contraire, diminué.

Troisième objection. La chute de la diurèse est due à une diminution importante de la masse plasmatique intravasculaire.

L'hydratation continue du Chien des reins et les résultats ci-dessus, faisaient prévoir une réponse négative. Il nous a toutefois paru qu'un contrôle expérimental s'imposait car:

1° dans les brûlures étendues de l'Homme, avant tout traitement, la masse plasmatique peut diminuer de 50% en deux heures¹;

2° l'hydratation instituée dans nos expériences pouvait s'avérer insuffisante au maintien d'un volume plasmatique normal.

La mesure du volume plasmatique, chez le brûlé, au moyen de colorants ou de protéines radioactives, n'est pas possible, car, ainsi que l'ont montré COPE et MOORE², la perméabilité capillaire de la région brûlée augmente considérablement vis-à-vis de ces substances. Cependant, comme, suivant ces mêmes auteurs, cette altération de la perméabilité capillaire est limitée à la seule région brûlée, nous avons pensé que l'expérience, utilisant la circulation croisée, nous permettrait de résoudre la question, en procédant comme suit: Chez un Chien endormi au chloralose, on mesure le volume plasmatique, en utilisant la technique décrite dans la note précédente. L'animal est ensuite hydraté comme d'habitude et mis en circulation croisée carotido-carotidienne avec un autre, lequel est brûlé, quelque temps après. Lorsque la diurèse du premier «le Chien des reins» a notablement diminué, on interrompt la circulation croisée et restaure, comme précédemment, celle du Chien dont on suit l'excrétion urinaire. On mesure alors à nouveau le volume plasmatique de ce Chien. Citons, à titre d'exemple, une expérience réalisée suivant le plan ci-dessus.

¹ L. COLEBROOK, T. GIBSON, J. P. TODD, A. M. CLARK, A. BROWN, A. B. ANDERSON et E. SEMESNOFF, Studies of Burns and Scalds (Reports of the Burns Unit, Royal Infirmary, Glasgow 1942-43), 210 pages. His Majesty's Stationary Office. London 1945.

² O. COPE et F. D. MOORE, J. clin. Invest. 23, 241 (1944).

Résultats: Chien à brûler 19,4 kg. Chien des reins 8,7 kg. Brûlure 12 h 24 à 12 h 27. La circulation croisée fonctionne de 11 h 47 à 13 h 24. Surface brûlée 40 · 25 cm.

Heure	12,00	12,12	12,24	12,36
Press. art.	14,50	14,50	16,00	15,75
Urine cm³/h	20,00	43,25	55,00	96,25

Heure	12,48	13,00	13,12	13,24
Press. art.	17,00	17,25	17,00	18,00
Urine cm³/h	85,00	38,00	27,00	14,00

Chien des reins { Volume plasmatique initial 537 cm³.
Volume plasmatique final 500 cm³.

En fin d'expérience, le plasma contient 250 mg Hb. %. Dans cette expérience, 57 minutes après la fin de la brûlure, la diurèse du Chien des reins, c'est-à-dire, celle du Chien ayant reçu du sang de l'animal brûlé, mais non brûlé lui-même, est passée de 55 cm³/h à 14 cm³/h, alors que le volume plasmatique est resté pratiquement le même, la variation constatée, inférieure à 7 %, étant dans les limites d'erreurs de la méthode utilisée.

Conclusions. La chute de la diurèse survenant après la brûlure cutanée du Chien hydraté n'est due ni à l'hypoprotéinémie, ni à l'augmentation de viscosité ou densité sanguines, ni à une réduction appréciable du volume plasmatique. Les expériences décrites dans cette note ne contredisent pas l'hypothèse suivant laquelle, la brûlure cutanée fait apparaître dans le sang une substance, antidiurétique vis-à-vis des reins *in situ*.

Nous poursuivons nos recherches dans ce domaine.

G. BARAC

Institut de clinique et de policlinique médicales, Université de Liège, le 4 janvier 1947.

Zusammenfassung

Die an chloralisierten, fortlaufend infundierten Hunden eintretende Verminderung der Diurese nach Hautverbrennung ist weder auf eine Hypoproteinämie noch auf eine Erhöhung der Plasmaviskosität und auch nicht auf eine Reduzierung des Plasmavolumens zurückzuführen. Die mitgeteilten Versuche stützen vielmehr die Auffassung, daß durch Verbrennung ein antidiuretischer Stoff entsteht.

Enniatin, ein neues, gegen Mykobakterien wirksames Antibiotikum¹

Verschiedene Fusarien besitzen die Fähigkeit, andere Pilze² oder Bakterien³ antibiotisch zu hemmen. Bisher wurden aus dieser Imperfektengattung als chemisch

reine Antibiotika aber erst das Javanicin (C₁₅H₁₄O₆) und das nahe verwandte Oxyjavanicin (C₁₅H₁₄O₇) isoliert, zwei Pigmente, die im Kulturfiltrat von *Fusarium javanicum* Koorders vorkommen¹.

Im Rahmen einer Untersuchung über antibiotische Pilze verschiedener Herkunft ist es uns gelungen, aus einem *Fusarium* ein Antibiotikum zu isolieren, das sich durch seine chemischen und biologischen Eigenschaften von allen bisher beschriebenen Antibiotika unterscheidet. Wir ordnen das produktive *Fusarium*, Stamm ETH. 1523/8, nach WOLLENWEBER und REINKING² bei *Section Elegans* Wr., *Subsection Orthocera* Wr. ein, wo es am besten zu der Beschreibung von *Fusarium orthoceras* App. et Wr. paßt. Andererseits weicht es in gewissen morphologischen Merkmalen so stark vom Typus ab, daß wir es als neue Varietät betrachten und nach der Herkunft des Pilzes (Remüs, Bezirk En, Unterengadin) *F. orthoceras* var. *enniatinum*³ nennen. Das im folgenden beschriebene Antibiotikum bezeichnen wir als Enniatin.

Enniatin ist in Wasser praktisch unlöslich. Es wird im Myzel des Pilzes angereichert und nur in Spuren an die Nährlösung abgegeben. Zur Gewinnung aktiven Myzels eignen sich verschiedene flüssige Medien; am besten bewährte sich bisher eine synthetische Nährlösung nach RICHARD mit folgender Zusammensetzung: Glukose 50 g; NH₄NO₃ 10 g; KH₂PO₄ 5 g; MgSO₄ · 7 H₂O 2,5 g; FeCl₃ · 6 H₂O 0,02 g; destilliertes Wasser ad 1 l. In Oberflächenkultur bei 27–30° C liefert *Fusarium* ETH. 1523/8 nach 16–18 Tagen eine Myzelaktivität von durchschnittlich 1000 Verdünnungseinheiten pro cm³ Nährlösung gegen *Mycobacterium paratuberculosis* ETH. 2001⁴. Ungefähr dieselben Aktivitätswerte lassen sich bei submerser Kultur in Schüttelkolben schon nach 4–5 Tagen erzielen.

Aus dem Ätherextrakt des Myzels wird das Enniatin als farblose, kristalline Substanz vom Smp. 121–122° C gewonnen. Es besitzt eine optische Aktivität von [α]_D²⁰ – 92° (C = ca. 1 % in Chloroform). Das Molekulargewicht (kryoskopisch in Benzol) beträgt 443 ± 13; die Analyse entspricht der Formel C₂₄H₄₂O₈N₂ (Mol.-Gew. 454,6). Enniatin wird alkalisch sehr rasch, sauer nur langsam deaktiviert.

Die Wirksamkeit von reinem Enniatin gegenüber verschiedenen Bakterien ist in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I

	Verdünnungseinheiten pro g
<i>Mycobact. paratuberculosis</i> ETH. 2001	1 200 000
<i>Mycobact. phlei</i> ATCC. 354	310 000
<i>Mycobact. tuberculosis</i> (human.)⁵ . .	100–500 000
<i>Bacillus subtilis</i> ETH. 2016	320 000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC. 6538-P	160 000
<i>Bacterium coli</i> ETH. 2018	<1000

¹ Ausgeführt mit einem Beitrag aus den Arbeitsbeschaffungskrediten des Eidg. Militärdepartements.
² C. L. PORTER, Am. J. Bot. 11, 168 (1924). – H. R. ROSEN und L. SHAW, J. Agr. Res. 39, 41 (1929). – R. WEINDLING, Phytopath. 24, 1141 (1934). – E. T. EDWARDS, J. Austral. Inst. Agr. Sci. 6, 91 (1940). – R. J. LEDINGHAM, Sci. Agr. 22, 688 (1942).
³ H. W. WILKINS und C. G. M. HARRIS, Brit. J. exper. Path. 24, 141 (1943). – S. A. WAKSMAN und E. HORNING, Mycologia 35, 47 (1943). – J. VONKENNEL, J. KIMMIG und A. LEMBKE, Klin. Wschr. 22, 321 (1943). – C. W. CARPENTER, Hawaii Plant Rec. 49, 41 (1945). – S. A. WAKSMAN, Microbial Antagonism and Antibiotic Substances. New York (1945), S. 264.

¹ H. R. V. ARNSTEIN, A. H. COOK und M. S. LACEY, Nature 157, 333 (1946).
² H. W. WOLLENWEBER und O. A. REINKING, Die Fusarien. Berlin 1935.
³ Die Diagnose des Pilzes wird später publiziert.
⁴ Isolierung aus Ratte, erhalten von Prof. Dr. P. HAUDUROY, Lausanne. Die Einsaat beim Verdünnungsreihentest in Nährbouillon beträgt etwa 5 · 10⁴ Keime pro cm³.
⁵ Ausgeführt in den Forschungslaboratorien der Ciba AG., Basel (Prof. Dr. R. MEIER).