

hij was ook nooit ziek geweest. Bij de moeder van den patiënt werden geen groote lever of milt gevonden, terwijl de resistentie der erythrocyten volkomen normaal was. In de familie der moeder kwamen geen bepaalde ziekten voor. Ook in de familie van den vader, die zich persoonlijk aan het lichamelijk onderzoek onttrok, werden geen aanknopingspunten voor haemolytischen icterus ontdekt. Bij de andere broers en zusters van den patiënt of zijn en hun kinderen werden evenmin verschijnselen van haemolytischen

| Pat. no. | Geslacht | Leef-tijd | Ongekleurd droog praeparaat |     |     |     |             | Suspensie praeparaat |     |     |     |             | Diag. ovalo-cytose |
|----------|----------|-----------|-----------------------------|-----|-----|-----|-------------|----------------------|-----|-----|-----|-------------|--------------------|
|          |          |           | I                           | II  | III | IV  | ovalocytose | I                    | II  | III | IV  | ovalocytose |                    |
| I        | +        | 78 jaar   | 0%                          | 35% | 44% | 21% | +++         | 0%                   | 8%  | 61% | 31% | +++         | +++                |
| 3        |          | 74 jaar   | 7%                          | 15% | 64% | 14% | +++         | 1%                   | 7%  | 64% | 28% | +++         | +++                |
| 4        |          | 72 jaar   | 50%                         | 40% | 10% | 0%  | —           | 8%                   | 38% | 48% | 6%  | ++          | ++                 |
| 5        |          | 65 jaar   | 49%                         | 42% | 9%  | 0%  | —           | 31%                  | 47% | 18% | 4%  | —           | —                  |
| 6        |          | 60 jaar   | 50%                         | 38% | 12% | 0%  | —           | 1%                   | 35% | 60% | 4%  | ++          | ++                 |
| 7        |          | 49 jaar   | 42%                         | 38% | 20% | 0%  | +           | 8%                   | 58% | 32% | 2%  | +           | +                  |
| 8        |          | 47 jaar   | 1%                          | 34% | 53% | 12% | +++         | 1%                   | 5%  | 65% | 29% | +++         | +++                |
| 9        |          | 45 jaar   | 77%                         | 19% | 4%  | 0%  | —           | 40%                  | 42% | 18% | 0%  | —           | —                  |
| 10       |          | 42 jaar   | 43%                         | 40% | 17% | 0%  | —           | 19%                  | 63% | 18% | 0%  | —           | —                  |
| 11       |          | 38 jaar   | 8%                          | 26% | 54% | 12% | +++         | 20%                  | 50% | 28% | 2%  | +           | ++                 |
| 12       |          | 27 jaar   | 51%                         | 42% | 7%  | 0%  | —           | 26%                  | 52% | 21% | 1%  | —           | —                  |
| 15       |          | 14 jaar   | 60%                         | 36% | 4%  | 0%  | —           | 68%                  | 30% | 2%  | 0%  | —           | —                  |
| 16       |          | 12 jaar   | 27%                         | 56% | 16% | 1%  | —           | 18%                  | 57% | 24% | 1%  | —           | —                  |
| 18       |          | 4 jaar    | 66%                         | 30% | 4%  | 0%  | —           | 68%                  | 24% | 8%  | 0%  | —           | —                  |
| 19       | 20 jaar  | 8%        | 61%                         | 29% | 2%  | ++  | 22%         | 40%                  | 32% | 6%  | +   | +           |                    |
| 21       | 13 jaar  | 36%       | 37%                         | 25% | 2%  | ++  | 4%          | 50%                  | 42% | 4%  | ++  | ++          |                    |
| 22       | 12 jaar  | 57%       | 34%                         | 9%  | 0%  | —   | 32%         | 49%                  | 18% | 1%  | —   | —           |                    |
| 23       | 11 jaar  | 65%       | 27%                         | 8%  | 0%  | —   | 38%         | 41%                  | 19% | 2%  | —   | —           |                    |
| 24       | 9 jaar   | 27%       | 42%                         | 30% | 1%  | ++  | 10%         | 40%                  | 45% | 5%  | ++  | ++          |                    |
| 28       | 17 jaar  | 44%       | 47%                         | 9%  | 0%  | —   | 26%         | 50%                  | 23% | 1%  | —   | —           |                    |
| 29       | 16 jaar  | 50%       | 42%                         | 8%  | 0%  | —   | 23%         | 58%                  | 19% | 0%  | —   | —           |                    |

icterus gevonden. Bij zijn kinderen was de weerstand der erythrocyten was normaal.

De haemolytische icterus is een familiale hereditaire ziekte; de ovalocytose een dominant erfelijke mutatie. De afstamming der ovalocytose kon bij het onderzoek in deze familie worden opgespoord. Van den haemolytischen icterus bleek wel het familiale karakter; de heredititeit kon niet worden aangetoond.

Maart 1944

## DE ISOLEERING VAN EEN BACTERICIDE EN FUNGICIDE STOF UIT EEN PENSEELSCHIMMEL

DOOR DR. J. J. DUYVENÉ DE WIT, MEJ. DR. A. JAARVELD, PROF. DR. B. C. P. JANSEN, A. VAN LUYK, DR. R. LUYKEN, H. K. OOSTERHUIS EN J. R. WYBRANS JR.

*Uit de Research-Afdeling der N.V. Kon. Pharmaceutische Fabrieken V/H. BROCADES, STHEEMAN & PHARMACIA, ONDER LEIDING VAN DR. J. J. DUYVENÉ DE WIT, het Bacteriologisch Laboratorium van den Gemeentelijken Geneeskundigen en Gezondheidsdienst te Amsterdam, HOOFD: PROF. DR.*

*A. CH. RUYLS, het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn, DIRECTRICE: PROF. DR. J. WESTERDIJK, het Botanisch Laboratorium der Universiteit van Utrecht, DIRECTEUR: PROF. DR. V. J. KONINGSBERGER en het Nederlandsch Instituut voor Volksvoeding te Amsterdam,*

DIRECTEUR: PROF. DR. B. C. P. JANSEN

Het is bekend, dat de sinds 1935 ter bestrijding van infectieziekten gebruikte sulfonamides op principieel andere wijze werken dan de reeds lang bekende desinfectantia. De

sulfonamides remmen namelijk op specifieke wijze bepaalde fermenten die voor de stofwisseling van de pathogene micro-organismes noodig zijn.

Op gelijke wijze schijnen te werken bacterievergiften, die worden geproduceerd door micro-organismes en die vaak nog veel werkzamer zijn, dat wil zeggen in veel kleiner doses werken dan de sulfonamides.

Sinds enkele jaren worden vooral in Engeland en Amerika uitgebreide onderzoekingen verricht in Universiteits- en fabriekslaboratoria over afscheidingsproducten van den schimmel *Penicillium notatum* Westl., door FLEMING in 1929 penicilline genoemd, en andere door schimmels, gisten en andere micro-organismes geproduceerde stoffen, die door VONKENNEL worden samengevat onder den naam „mycoines”.

Ook hier te lande heeft één van ons (A. VAN LUYK) reeds in 1939 gewezen op het groote belang van stofwisselingsproducten van micro-organismes voor medische toepassing 1). VAN LUYK zag onder andere, dat de cultuurvloeistof van *Penicillium expansum* Luik (Thom) den groei van de huidschimmel *Trichophyton rosaceum* Sab sterk belemmerde. Op grond van een uitvoerig onderzoek van VAN LUYK naar de fungicide werkzaamheid van een groot aantal schimmels (t.o. van *Pythium mamillatum*) is nu de *Penicillium expansum* Westl. nader in studie genomen. Mej. JAARVELD heeft de cultuurvloeistof van *Penicillium expansum* uitvoerig onderzocht op bacteriostatische werking. Het bleek, dat deze oplossing reeds in groote verdunning in staat is den groei van allerlei pathogene bacteriën te remmen. Dit onderzoek zal later afzonderlijk gepubliceerd worden. Nu echter zij reeds opgemerkt, dat het ruwe praeparaat den groei remt van verschillende pathogene microorganismes. Onderzocht werden: *Staphylococcus aureus* (3 stammen) *Streptococcus haemolyticus* (4 stammen), *Pseudomonas aeruginosa* (3 stammen), *Proteus vulgaris* (2 stammen), *Escherichia coli* (5 stammen), *Eberthella typhosa* (7 stammen), *Shigella SONNEI* (6 stammen), *Shigella paradysenteriae* (5 stammen), *Salmonella SCHOTTMÜLLERI* (8 stammen), *Corynebacterium diphtheriae* (3 types), *Mycobacterium tuberculosis humanus* (3 stammen) en *bovinus* (4 stammen), *Trichophyton interdigitale*.

Zoo werd met het filtraat van een bepaalde cultuur *Eberthella typhosa* in een verdunning van 20 — 1000 maal geremd, afhankelijk van den stam. De inwerkingsduur bedroeg daarbij 24 uur. *Mycobacterium tuberculosis* werd door een ander ruw filtraat in een verdunning van 20—200 maal geremd (inwerkingsduur respectievelijk 24 en 48 uur).

Verder onderzoek heeft aan het licht gebracht, dat er in de cultuurvloeistof van *Penicillium expansum* tenminste 2, waarschijnlijk zelfs meer dan 2 bactericide stoffen zijn. Dit bleek door de werkzaamheid ten opzichte van twee verschillende micro-organismes quantitatief te bepalen, namelijk ten opzichte van *Pythium mamillatum* (den verwekker onder andere van de wortelbrandziekte van suikerbieten) en ten opzichte van *Staphylococcus aureus*. Door de cultuurvloeistof te fractionneeren konden namelijk fracties worden verkregen, die reeds bij groote verdunning den groei van *Pythium* remden, maar slechts weinig werkzaam waren ten opzichte van staphylococci, en daarnaast fracties, waar de anti-staphylococcuswerkzaamheid grooter was dan de groeibelemmering van *Pythium*. Dit fractionneeren geschiedde voornamelijk met behulp van de chromatografische methode.

Langs verschillende wegen zijn wij er nu in geslaagd uit de cultuurvloeistof een kristallijn materiaal te isoleren. Voor de bereiding ervan kan men bijvoorbeeld als volgt te werk gaan: 1 Liter van een oplossing volgens KNOP, bevattend 1000 mg  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  + 120 mg KCl + 250 mg  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{aq}$  + 250 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + spoortje  $\text{FeCl}_2$  waaraan is toegevoegd 30 g suiker en 1 g  $(\text{NH}_4)\text{NO}_3$  of  $(\text{NH}_4)\text{Cl}$ , wordt in een Erlenmeyerkolff van ongeveer 3 liter gesteriliseerd en na bekoelen tot ongeveer 24° C geënt met een weinig van een cultuur van *Penicillium expansum*. (In den laatsten tijd gebruiken we met goed gevolg open bakken van  $\text{V}_2\text{A}$ -staal van 0.25 m<sup>2</sup> oppervlakte zonder voorafgaande sterilisatie.) Na ongeveer 1½ week heeft zich op de oppervlakte van de vloeistof een samenhangend schimmeldek gevormd, terwijl de vloeistof daaronder oranje gekleurd wordt. Af en toe wordt een proefje van deze vloeistof onderzocht op zijn groeiremmende werking ten opzichte van *Pythium mamillatum* en van *Staphylococcus aureus*. Nadat de maximum productie bereikt is, wordt de vloeistof voorzichtig afgegoten, waarna het schimmeldek weer voor een volgende portie vloeistof van KNOP gebruikt kan worden.

1) A. VAN LUYK, *Vakblad voor Biologen*, 20, 177, 1939.

De vloeistof wordt dan op elders te beschrijven wijze geconcentreerd en gezuiverd en daarna geperforeerd met aether. Uit de zoo verkregen oplossing kristalliseert een stof uit, die na herhaaldelijk omkristalliseeren een constant smeltpunt had van  $108^{\circ}\text{C}$ , terwijl de empirische formule  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$  bleek te zijn. Over de bereiding en de chemie van deze stof, die we „expansine” genoemd hebben, zullen binnenkort elders uitvoerige gegevens gepubliceerd worden.

Dit expansine is goed oplosbaar in water, alcohol, aether, benzol en pyridine en eenigszins oplosbaar in vetten en oliën. Het oefent een sterk remmende werking uit op verschillende microorganismes; zoo wordt de groei van *Pythium mamillatum* reeds volkomen geremd in een verdunning van 1 op 600000; met *Staphylococcus aureus* is dit het geval in een verdunning van 1 : 100000. Ook de groei van *Escherichia coli* en van *Vibrio cholerae* wordt erdoor geremd en wel in een verdunning van 1 : 20000.

In tegenstelling tot het penicilline, dat geheel ongiftig schijnt te zijn, is expansine vrij giftig: een hoeveelheid van ongeveer 1 mg per dag wordt nog juist verdragen door een volwassen rat; toediening van enkele mg. hetzij per os, hetzij intraperitoneaal, werkt echter dodelijk. Het zal nu de vraag zijn, hoe de verhouding is van de werkzame ten opzichte van de toxische dosis.

Juni 1944

## CASUÏSTISCHE MEDEDEELINGEN

### STERIELE PYURIE

DOOR DR. JAC. J. DE JONG, ARTS TE LEIDEN

Onder steriele pyurie verstaat men een vooral bij jonge mannen voorkomende aandoening van het uropoëtische stelsel, waarbij infectie, met name tuberculose, en steenen kunnen worden uitgesloten, het urinesediment vele leucocyten, somtijds ook erythrocyten bevat en neosalvarsan zeer snel de afwijkingen in de urine doet verdwijnen.

Deze aandoening, door SÖDERLUND voor het eerst als zelfstandig ziektebeeld opgevat, is zeldzaam. Nadat in 1909 FALTIN een mededeeling had gedaan over pyurie zonder microorganismes, verschenen in het buitenland verschillende publicaties daarover, waarvan die van THOMAS MOORE 1) een der laatste was. Ook onze landgenooten HOUTAPPEL 2) en WEYTLANDT 3) leverden hun bijdragen tot dit vraagstuk.

Het ziektebeeld is gekenmerkt door een cystitis, die meestal van langen duur is en nooit gepaard gaat met hooge temperaturen. De algemeene toestand is goed. De urine bevat naast vele leucocyten meestal ook enkele erythrocyten en een spoor eiwit. Tot macroscopische haematurie komt het zelden. Bij cystoscopie vindt men een diffuus ontstoken blaasslijmvlies met fibrinebeslagen, bloedingen en soms necrotische plekken. De blaascapaciteit is verminderd. De nierfunctie is meestal goed, terwijl röntgenologisch een hypotonie van pyelum en ureteren kan worden gevonden zonder verdere afwijkingen. In gevallen, waar men wegens het vermoeden van tuberculose nephrectomie heeft gedaan, vond men microscopisch pyelitis en ureteritis follicularis bij intacte glomeruli en tubuli.

Afgezien van de waarneming van SCHAFFHAUSER, die uit de urine op „ROSENBouillon” niet-haemolytische streptococci kweekte, terwijl alle uitstrijkpraeparaten en alle andere cultures uit de urine negatief uitvielen en bij honden met deze kweek door inspuiting in het nierbekken het typische beeld, ook histologisch, van de steriele pyurie verwekte, staat de aetiologie der aandoening allerminst vast. RUNEBERG hield een staphylococcus voor de oorzaak, WILDBOLZ sprak van een ultravirus en COOK meende, dat de ziekte veroorzaakt werd door elders in het organisme gevormde toxines. Deze laatste opvatting wordt waarschijnlijk gemaakt, omdat in de meeste gevallen een slecht gebit, tonsillitis, otitis of cervicitis werden vastgesteld.

BRIGGS 4) beschreef een patiënt, die goed reageerde op neosalvarsan, doch een recidief

1) THOMAS MOORE, *British Med. Journal*, 1940.

2) H. C. E. M. HOUTAPPEL, *N. T. v. G.*, bl. 5706, 1938.

H. C. E. M. HOUTAPPEL, *N. T. v. G.*, bl. 19, 1940.

3) J. A. WEYTLANDT, *N. T. v. G.*, bl. 2298, 1939.

4) BRIGGS, *Journal of Urology*, bl. 230, 1935.