

mykosen

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



10/1970

1. Oktober

Aus der Hautklinik der Karl-Marx-Universität Leipzig, Bereich Medizin
(Direktor: Prof. Dr. H. BRAUN)

Untersuchungen über die Bedeutung von Griseofulvin- und Actidion-Resistenz als spezifisches Merkmal bei keratinophilen Pilzen

CHRISTINA SCHÖNBORN

Griseofulvin und Actidion (Cycloheximid) gehören zu den am längsten bekannten antifungisch wirksamen Antibiotika. Griseofulvin wurde bereits 1939 von OXFORD und Mitarb. aus *Penicillium urticae* (Syn. *P. griseo-fulvum*) isoliert und 1946 von BRIAN und Mitarb. als „curling factor“ in Kulturen von *Penicillium nigricans* (Syn. *P. janczewskii*) festgestellt. 1947 gelang GROVE u. MCGOWAN der Identitätsbeweis beider Hemmstoffe. Actidion fiel erstmals 1946 als Nebenprodukt des Streptomycins bei bestimmten Stämmen von *Streptomyces griseus* an (WHIFFEN und Mitarb.). Später ermittelte man auch *Streptomyces noursei* als Actidion-Produzenten (HAZEN u. BROWN).

Die genannten Antibiotika unterscheiden sich grundlegend in ihrem Wirkungsspektrum und damit auch in ihrer praktischen Anwendbarkeit. Während Griseofulvin bereits in geringsten Konzentrationen eine Wachstumshemmung bei Dermatophyten verursacht, Schimmelpilze und Hefen jedoch unbeeinflusst läßt, unterdrückt im Gegensatz dazu Actidion viele Schimmel- und Sproßpilze, ohne die Entwicklung der Hautpilze wesentlich zu beeinträchtigen. Diese Erkenntnis ist das Ergebnis zahlreicher in vitro-Untersuchungen (AYTOUN; BLANK u. ROTH; BRAUN u. STROHBACH; BRIAN und Mitarb.; DUONG-HONG-MO und Mitarb.; ESCHMANN; FUENTES und Mitarb.; GEMEINHARDT; GÖTZ; KIELSTEIN; KOCH u. KOCH; KNOTH und Mitarb.; RIETH 1962, 1966; SCHICK u. ZAHARIEV; THURNER 1964; VANBREUSEGHEM u. DE VROEY; VAUGHN u. HAMNER; WHIFFEN; u. a.).

Dank seinen günstigen pharmakologischen Eigenschaften erlangte Griseofulvin für die perorale Therapie der Dermatomykosen größte Bedeutung. Demgegenüber blieb der Einsatz von Actidion, abgesehen von vereinzelter klinischer Erprobung bei *Cryptococcus neoformans*-Infektionen, auf das Gebiet der Labortechnik beschränkt, wo es mit Vorteil zur Selektivzüchtung von Hautpilzen Verwendung findet.

LOEFFLER machte auf die Möglichkeit aufmerksam, die unterschiedliche Hemmkraft beider Antibiotika zur raschen Erkennung und Identifikation von Dermatophyten in vitro zu nutzen. Eine Überprüfung von 300 Pilzstämmen ergab, daß nur Hautpilze (mit Ausnahme von *Trich. terrestris* und *Keratinomyces ajelloi*) sowie einige *Chrysosporium*-Arten gleichzeitig griseofulvinempfindlich und actidionresistent sind. Dadurch lassen sich diese Mikroorganismen (als Pilze vom Dermatophyten-Typ zusammengefaßt) den anders reagierenden Myzeten vom *Gymnoascaceae*-, Schimmelpilz- und *Botrytis*-Typ gegenüberstellen.

Wir versuchten, einen Überblick über den Wert des empfohlenen Kombinationstestes für die Taxonomie und Klassifikation von keratinophilen Mikropilzen aus dem Verwandtschaftskreis der Dermatophyten zu gewinnen.

Eigene Untersuchungen

Zur Methodik

Die Mehrzahl der getesteten Pilze züchteten wir mittels Keratin-Köder (Mischung von Kinder- und Frauenhaar) aus etwa 400 Bodenproben, die von Juni 1966 bis September 1967 im Stadtgebiet Leipzigs und der näheren Umgebung gesammelt worden waren. In einigen wenigen Fällen handelte es sich um Isolate von verschiedenen hautgesunden Tieren.

Sobald die Pilzstämmen in Reinkultur vorlagen, wurden sie im Wuchstest (DITTMAR) bei Zimmertemperatur auf ihr Verhalten gegenüber Griseofulvin und Actidion geprüft. Als Nährmedium dienten je 15 ml Grützagar (40 g Malzpulver Fa. Liebe/Dresden; je 5 g NaCl, Mykopepton A und Glycerin; 20 g Agar; ad 1000 ml Leitungswasser; pH nach dem Autoklavieren 6,3) in Petrischalen von 8 cm ϕ . Durch Zugabe jeweils frisch hergestellter Antibiotika-Stammlösungen [Gricin® mikrofein (VEB Arzneimittelwerk Dresden), gelöst in Dimethylformamid; Actidione (Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan), gelöst in 96 %igem Äthylalkohol] wurden folgende Konzentrationsabstufungen vorgenommen:

Griseofulvin: 1, 5, 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$
 Actidion: 100, 300, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Jede Testreihe setzte sich aus der erforderlichen Anzahl griseofulvin- bzw. actidionhaltiger Platten und gemeinsamer hemmstofffreier Kontrollen zusammen. Um eine vergleichbare Kolonieentwicklung zu gewährleisten, wurden die Testplatten zentral mit einem Tröpfchen dichter Pilzsuspension in mindestens 2facher Parallele beimpft. Mit dem Zeitpunkt der Auswertung richteten wir uns nach dem Wachstum der antibiotikafreien Kontrollen. Je nach Pilzart konnten die abschließenden Koloniemessungen nach 2 bis 3 Wochen erfolgen.

Es wurde angestrebt, die verwendeten Testpilze auf Grund makromorphologischer, mikroskopischer und physiologischer Merkmale (einschließlich Vitaminabhängigkeit, Tierpathogenität, Pigmentation, Wachstum bei 37° C, Ausbildung einer perfekten Fruchtform, Fähigkeit zum Keratinabbau und zur Zelluloseverwertung) eindeutig zu differenzieren. Unter der Gesamtzahl von 182 Pilzstämmen befanden sich: *Anixiopsis stercoraria* (5), *Arthroderma curreyi* (2), *Arthroderma tuberculatum* (6), *Chrysosporium evolceanui* (37), *Chrysosporium keratinophilum* (17), *Chrysosporium pannorum* (3), *Chrysosporium tropicum* (vgl. SCHÖNBORN (1968) (2), *Ctenomyces serratus* (5), *Keratinomyces ajelloi* (42), *Microsporium fulvum* (25), *Microsporium gypseum* (20), *Pseudoarachniotus spec.* (2), *Sepedonium spec.* (1), *Trichophyton terrestre* (15).

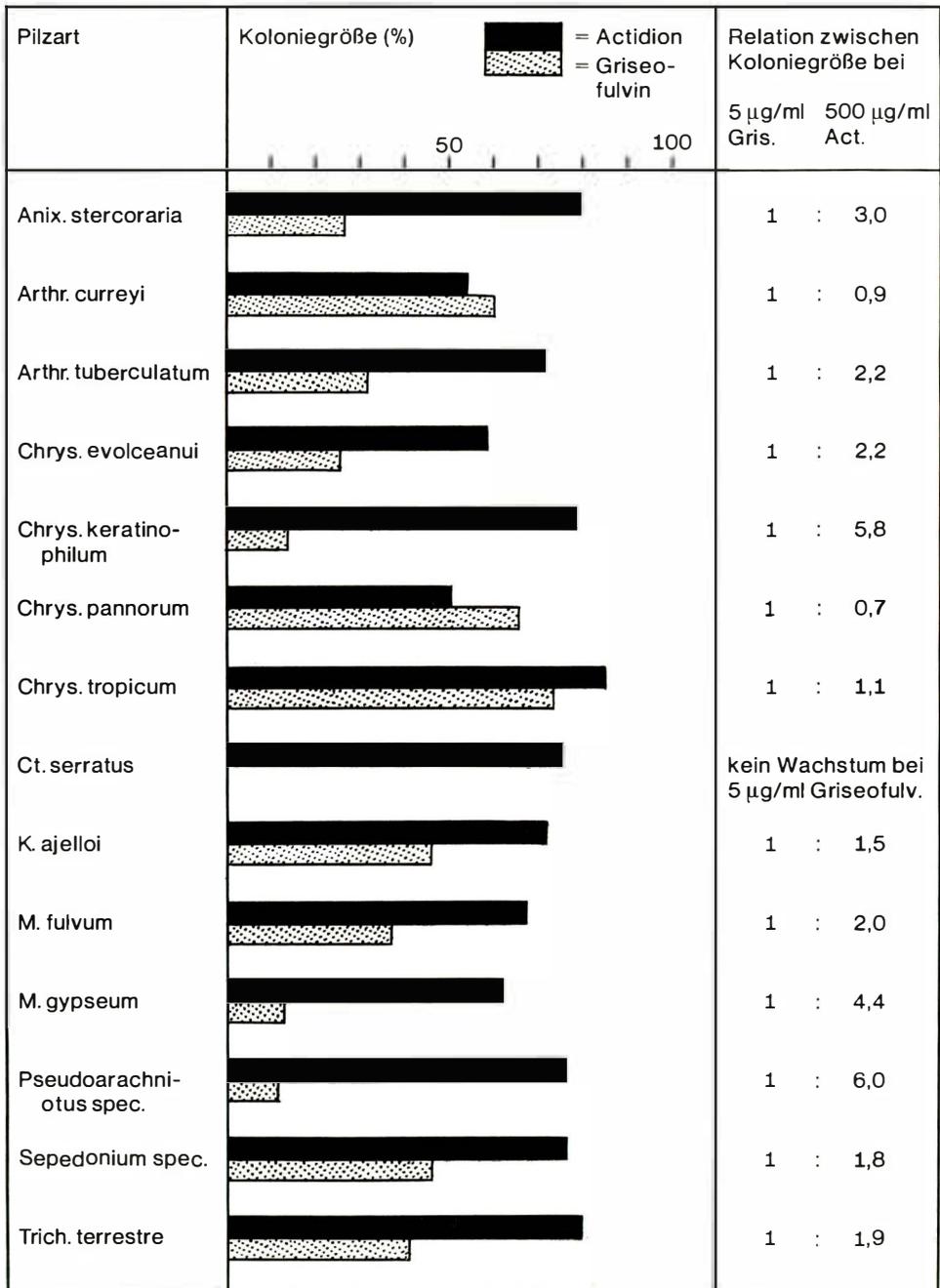
Ergebnisse

Die Testergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 und der Abbildung 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1: Minimale Hemmkonzentrationen

Pilzart	Gesamtzahl der Test-Stämme	Anzahl der Stämme mit Entwicklungsmöglichkeit bei								
		Actidionkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) von				Griseofulvinkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) von				
		100	300	500	1000	1	5	50	100	200
<i>Anix. stercoraria</i>	5	5	5	5	5	5	4	0	0	0
<i>Arthr. curreyi</i>	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0
<i>Arthr. tuberculatum</i>	6	6	6	6	6	6	6	1	0	0
<i>Chrys. evolceanui</i>	37	37	31	30	30	31	23	4	0	0
<i>Chrys. keratinophilum</i>	17	17	17	17	17	16	5	0	0	0
<i>Chrys. pannorum</i>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
<i>Chrys. tropicum</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Ct. serratus</i>	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0
<i>K. ajelloi</i>	42	42	42	42	42	42	42	38	32	25
<i>M. fulvum</i>	25	25	25	25	24	25	21	1	0	0
<i>M. gypseum</i>	20	20	20	20	18	20	9	0	0	0
<i>Pseudoarachniotus spec.</i>	2	2	2	2	2	2	1	0	0	0
<i>Sepedonium spec.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Trich. terrestre</i>	15	15	15	15	15	15	13	10	3	2

Abb. 1: Relatives Pilzwachstum unter Einfluß von 500 µg/ml Griseofulvin
(ungehemmte Vergleichskolonie = 100 %)



Fast alle Pilze tolerierten eine Actidion-Dosis bis zu 1000 µg/ml (Tab. 1). Lediglich unter 37 *Chrys. evolceanui*-Stämmen befanden sich 6, die bei 300 µg/ml gehemmt wurden und einer, der bei 500 µg/ml das Wachstum einstellte. 2 von 20 *M. gypseum*-Stämmen vermochten bei 1000 µg/ml nicht mehr zu wachsen, desgleichen eines von 25 *M. fulvum*-Isolaten.

Eine größere Schwankungsbreite der minimalen Hemmkonzentration zeigte sich hinsichtlich der Griseofulvinempfindlichkeit, und zwar nicht nur von Species zu Species, sondern auch unter artgleichen Pilzstämmen (Tab. 1). Völlig einheitlich reagierten nur die einzelnen Isolate von *Chrysosporium tropicum* und *Ctenomyces serratus*. Beide Mikroorganismen verkörperten gleichzeitig die entgegengesetzten Extreme: Während die beiden *Chrys. tropicum*-Stämme noch die Maximaldosis von 200 µg/ml tolerierten, stellten die 5 *Ct. serratus*-Stämme bei Griseofulvingaben von 5 µg/ml ihr Wachstum ein. Als Pilzarten mit relativ niedriger minimaler Hemmkonzentration imponierten außerdem *Chrys. keratinophilum*, *Anixiopsis stercoraria*, *Pseudoarachniotus spec.* und *Microsporium gypseum*. Durch hohe Resistenz fielen dagegen *Keratinomyces ajelloi*, *Trich. terrestre*, *Sepedonium spec.* und *Chrys. pannorum* auf.

Tabelle 2: Relatives Pilzwachstum unter Antibiotikaeinfluß

Pilzart	Anzahl der Test-Stämme	Wachstum in % der ungehemmten Kontrollkultur (= 100 %)								
		Actidionkonzentration in µg/ml				Griseofulvinkonzentration in µg/ml				
		100	300	500	1000	1	5	50	100	200
<i>Anix. stercoraria</i>	5	94,3	82,3	79,4	68,2	62,5	26,5	—	—	—
<i>Arthr. curreyi</i>	2	91,7	66,7	54,2	33,4	75,0	60,0	25,0	—	—
<i>Arthr. tuberculatum</i>	6	91,9	79,2	70,7	49,8	67,4	32,1	1,9	—	—
<i>Chrys. evolceanui</i>	37	86,2	65,6	57,9	41,8	59,4	26,4	2,3	—	—
<i>Chrys. keratinophilum</i>	17	88,8	91,4	78,6	70,4	40,1	13,5	—	—	—
<i>Chrys. pannorum</i>	3	66,6	41,7	50,0	50,0	81,7	66,6	58,3	25,0	8,3
<i>Chrys. tropicum</i>	2	95,0	91,8	83,3	68,5	100,0	75,0	41,7	41,7	33,4
<i>Ct. serratus</i>	5	96,6	81,7	76,1	59,6	55,1	—	—	—	—
<i>K. ajelloi</i>	42	94,5	83,7	69,9	51,0	83,4	45,4	30,4	19,7	13,0
<i>M. fulvum</i>	25	90,6	82,4	68,2	44,9	76,9	34,4	0,7	—	—
<i>M. gypseum</i>	20	86,2	76,9	62,3	46,1	55,2	14,1	—	—	—
<i>Pseudoarachniotus spec.</i>	2	100,0	75,0	75,0	25,0	75,0	12,5	—	—	—
<i>Sepedonium spec.</i>	1	75,0	75,0	75,0	57,5	+	42,8	42,8	57,2	14,3
<i>Trich. terrestre</i>	15	93,1	88,7	77,8	52,9	75,9	40,9	23,3	6,7	4,2

+ = nicht auswertbar

Ein realeres Bild vom Einfluß der Antibiotika auf die Testpilze vermittelt Tabelle 2 mit den relativen Größen der Pilzkolonien (ungehemmte Kontrolle = 100 %). In die Tabelle gingen die von sämtlichen Stämmen einer Species gewonnenen Mittelwerte ein. Man erkennt, daß sowohl Actidion als auch Griseofulvin mit steigenden Dosen eine kontinuierliche Verringerung der Pilzentwicklung bewirkte. Während z. B. Actidionkonzentrationen von 500 µg/ml noch 50,0 bis 83,3 % des Normalwachstums ermöglichten, blieb bei

1000 µg/ml die Koloniegröße der meisten Testpilze unter 50 % der der Kontrollen. Griseofulvin führte bereits in Konzentrationen von 1 µg/ml zu einem Wachstumsrückgang bis zu 40,1 % (*Chrys. keratinophilum*). Die bei extrem hohen Dosen (200 µg/ml) zwar noch entwicklungsfähigen Pilze (*Trich. terrestre*, *Keratinomyces ajelloi*, *Chrys. tropicum*, *Sepedonium spec.*, *Chrys. pannorum*) erreichten lediglich 4,2 bis 33,4 % der entsprechenden Kontrollkulturen.

Zur Prüfung von Korrelationen zwischen Actidion- und Griseofulvinempfindlichkeit wurde das Pilzwachstum bei Einwirkung von 500 µg/ml Actidion und 5 µg/ml Griseofulvin verglichen (Abb. 1). Typische Dermatophyten antworten im allgemeinen auf diese Antibiotikakonzentrationen mit einer unbedeutenden (Actidion) bzw. einer starken (Griseofulvin) Hemmung. Um die Beziehungen zwischen Actidion- und Griseofulvinwirkung zahlenmäßig vergleichbar zu gestalten, setzten wir die durchschnittliche Koloniegröße der artgleichen Pilzstämmen — gemessen bei 500 µg/ml Actidion und 5 µg/ml Griseofulvin — zueinander ins Verhältnis (Kolonieausmaß unter Griseofulvineinfluß = 1). Die größte Diskrepanz fiel bei *Ctenomyces serratus* auf, einem Pilz, der sich gleichermaßen als äußerst griseofulvinempfindlich und actidionresistent erwies. Bemerkenswert hohe Verhältniszahlen beobachteten wir auch bei *Pseudoarachniotus* (6,0), *Chrys. keratinophilum* (5,8), *M. gypseum* (4,4), *Anix. stercoraria* (3,0) und *Chrys. evolceanui* (2,2). Werte kleiner als 1 ergaben sich bei *Arthroderma curreyi* und *Chrys. pannorum*. Dies besagt, daß hier Actidion etwas größere Hemmwirkung entfaltet als Griseofulvin.

Diskussion

Zur in vitro-Wirkung von Griseofulvin

Nach der von BROSSI und Mitarb. durchgeführten Griseofulvin-Totalsynthese eröffnete sich die Möglichkeit, natürliches und synthetisches Griseofulvin zu vergleichen und Abhängigkeiten zwischen chemischer Konstitution und antimyzetischer Aktivität aufzudecken (FREY und Mitarb.). Der eigentliche Wirkungsmechanismus blieb jedoch noch weitgehend unklar. Offenbar erfolgte der Angriff am Mikroorganismus durch Hemmung der Zellwandsynthese. Die größte Schädigung erleiden chitinbildende Pilze, an deren Zellwandaufbau Uridindiphosphatacetylglucosamin beteiligt ist. Dazu gehören auch die Gymnoascas einschließlich der kleinen Gruppe der sogenannten Dermatomyceten (KREISEL). Gegenüber Bakterien, Actinomyceten oder solchen Pilzen (z. B. Hefen), die ihre Zellwände vorwiegend aus Mannose anstelle von Aminozuckern aufbauen, ist Griseofulvin nicht oder sehr wenig aktiv und erweist sich somit als typisches Schmalspur-Antibiotikum (BECKER und Mitarb.; BLANK und ROTH; BRIAN und Mitarb.).

Obwohl im allgemeinen die charakteristische Hyphenschlängelung (Curling effect) als Anzeichen der Griseofulvin-Einwirkung gewertet wird und sich zum mikrobiologischen quantitativen Nachweis des Antibiotikums im Patientenserum eignet (KLEINE-NATROP und Mitarb.), spielen sich auch mikroskopisch sichtbare Veränderungen im Zellplasma ab. BEER und PRUNIÉRAS beobachteten z. B. unter Griseofulvineinfluß ein Sistieren der Plasmabewegung, und zwar nicht nur bei *Microsporium gypseum*, sondern auch bei dem Schimmelpilz *Penicillium glaucum*. Aus stoffwechselphysiologischen Untersuchungen an *M. canis* geht hervor, daß Griseofulvin hemmend in den Prozeß der oxydativen Phosphorylierung eingreift (BÖHME und ZIEGLER; ZIEGLER). Auch eine Störung der Nucleinsäuresynthese wird diskutiert (BECKER und Mitarb.; RIETH 1962).

Der Ausfall von in vitro-Resistenzprüfungen wird in hohem Maße von der angewandten Testmethodik bestimmt. Neben dem Nährmedium, der Beimpfungstechnik, der

Bebrütungstemperatur und der Kulturdauer der Pilze ist das Lösungsmittel nicht ohne Belang. Bei Verwendung von Dimethylformamid darf dessen Anteil am Nährmedium 1 % nicht überschreiten, wobei allerdings höchstens 200 µg/ml Griseofulvin gelöst im Nährboden zu halten sind. Vor Fehlschlüssen bei Anwendung höherer Dosen wird gewarnt, da dann mit Sicherheit ein Teil des Antibiotikums in Kristallform vorliegt (RIETH 1967). Bei Verimpfung größerer Myzelbröckchen, die keinen vollständigen Kontakt mit dem wirkstoffhaltigen Nährmedium aufweisen, entspricht die Koloniezunahme nicht den vorliegenden Griseofulvinkonzentrationen (DITTMAR 1964). Dadurch wird eine scheinbare Konzentrationsunabhängigkeit vorgetäuscht (KNOTH und Mitarb.). Nach DITTMAR sowie LENHART fallen milieubedingte Testfehler weitaus weniger ins Gewicht, wenn man als Bezugsgröße statt der minimalen Hemmkonzentration die 50 %ige Wachstumshemmung durch Griseofulvin wählt.

Frisch isolierte Pilzstämmen reagieren zumeist empfindlicher als ältere Subkulturen (GRIN und Mitarb.). Die „pseudoparasitische Phase“ der Dermatophyten zeichnet sich durch erhöhte Griseofulvinresistenz aus (RAUBITSCHKE und EVRON). Manche Dermatomyzeten sind in der Lage, sich nach und nach an erstaunlich hohe Griseofulvindosen anzupassen, z. B. *M. gypseum* und *Keratinomyces ajelloi* (AYTOUN und Mitarb.; ROBINSON und Mitarb.; ROSENTHAL und WISE; THURNER 1962), was offenbar auf Inaktivierung des Antibiotikums beruht. Jedenfalls zeigte sich *M. canis* befähigt, durch allmähliche Adaptation Griseofulvin langsam zu entgiften (BÖHME und ZIEGLER; ZIEGLER). Aus einer in vitro-Resistenz kann allerdings keine Therapieresistenz abgeleitet werden, zwischen beiden scheint keinerlei Relation zu bestehen (GRIN und Mitarb.; RIETH 1969 a, b). Auf die unterschiedliche Beeinflussbarkeit verschiedener Entwicklungsphasen des Pilzes wiesen MOREAU und REDDISH hin. Bei der Suche nach geeigneten Teststämmen zum Nachweis kleinster Griseofulvinmengen im Probandenserum erwiesen sich *Trich. rubrum*-Stämme als sehr empfindlich im Auskeimungsstadium, aber nur mittelmäßig sensibel während des weiteren Myzelwachstums (DITTMAR 1966). Selbst innerhalb einer Kolonie reagieren einzelne Hyphen verschieden. Fruktifizierende Myzelfäden von *Trich. mentagrophytes* blieben ohne Curling-Effekt, obwohl die gebildeten Sporen beim späteren Auskeimen typische griseofulvinbedingte Hemmungszeichen aufwiesen (RIETH 1969 a).

Die bei einzelnen Pilzen beobachtete Schwankungsbreite der Griseofulvinsensibilität liegt in erster Linie in der Uneinheitlichkeit der biologischen Testobjekte, der Störanfälligkeit der Testmethodik und der unterschiedlich gehandhabten Versuchsauswertung begründet. Als Grenzkonzentrationen der totalen Hemmung wurden beispielsweise folgende Griseofulvingaben ermittelt: 1—20 µg/ml bei *Trich. schönleinii* (VANBREUSEGHEM und DE VROEY); 20—200 µg/ml bei *Trich. rubrum*, 20—100 µg/ml bei *E. floccosum* (RIETH 1966); 3—15 µg/ml bei *Trich. rubrum*, 2,5—20 µg/ml bei *E. floccosum*, 10—20 µg/ml bei *M. canis* und *Chrys. keratinophilum* (KOCH und KOCH); 2—50 µg/ml bei *Chrys. keratinophilum*, 5—200 µg/ml bei *M. fulvum*, 5—100 µg/ml bei *M. gypseum*, 5—400 µg/ml bei *M. cookei* (SCHÖNBORN 1967, 1968).

Trotz dieser Variabilität zeichneten sich innerhalb von größeren Testreihen stets deutliche Sensibilitätsunterschiede zwischen einzelnen Pilzarten ab. Als besonders griseofulvinempfindlich gelten unter den Dermatophyten *M. audouinii*, *M. nanum*, *Trich. megninii* und *Trich. soudanense*. *Trich. mentagrophytes*-Stämme verhalten sich im allgemeinen resistenter als *Trich. rubrum*-Stämme (BLANK und ROTH; BLASCHKE-HELLMESSEN; DITTMAR 1966; DUONG-HONG-MO und HUYNH-NGOC-PHUONG; GÖTZ; KNOTH und Mitarb.; KOCH und KOCH; RIETH 1966, 1969 b; SCHICK und ZAHARIEV; VANBREUSEGHEM und DE VROEY; VERTOMMEN).

Für viele geophile Dermatophyten ist eine gesteigerte Griseofulvinresistenz eigentümlich (GENTLES; RDZANEK und WEYMAN-RZUCIDLO; SANDHU und RANDHAWA). Als besonders widerstandsfähig erwiesen sich *K. ajelloi* und *Trich. terrestre* (BLASCHKE-HELLMESSEN; GÖTZ; KOCH und KOCH; LOEFFLER 1966; RDZANEK und WEYMAN-RZUCIDLO; SCHICK und ZAHARIEV). Auch zur Totalhemmung von *M. gypseum* und *M. cookei* mußten relativ hohe Griseofulvindosen eingesetzt werden. *M. cookei* ist als griseofulvinresistenteste Microsporiumart anzusehen (ALTERAŞ und EVOLCEANU; BLASCHKE-HELLMESSEN; GÖTZ; KNOTH und Mitarb.; KOCH und KOCH; SCHICK und ZAHARIEV; SCHÖNBORN 1967). Weitere den Dermatophyten nahestehende keratinophile Bodenpilze wurden nur selten in entsprechende Testversuche einbezogen. Übereinstimmend hoben alle Untersucher die für Saprophyten ungewöhnliche und auffallende Griseofulvinsensibilität von *Chrys. keratinophilum*-Stämmen hervor (ALTERAŞ und EVOLCEANU; BÖHME und KOCH; KOCH und KOCH; SANDHU und RANDHAWA; SCHICK und ZAHARIEV; SCHÖNBORN 1968). Aus rumänischem Erdboden isolierte Stämme von *Chrys. indicum*, *Chrys. evolceanui*, *Trich. vanbreuseghemii*, *Trich. georgiae* und *Arthroderma multifidum* zeigten im Röhrchenverdünnungstest bei 32 µg/ml kein Wachstum mehr und rangierten damit zwischen *M. cookei* (Grenzkonzentration 64 µg/ml) auf der einen und *M. gypseum* (Grenzkonzentration 16 µg/ml) auf der anderen Seite (ALTERAŞ und EVOLCEANU). Nach Ergebnissen aus Loch- und Strichtest ordnete LOEFFLER (1966) *Chrys. pannorum*, *Anixiopsis stercoraria* und einige nicht näher gekennzeichnete Chrysosporien in die Gruppe der griseofulvinempfindlichen Pilze ein, *Shanorella*-, *Pseudoarachnietus*- und *Gymnoascus*-Stämme in die der resistenten.

Sieht man davon ab, daß einzelne Stämme von *Chrys. keratinophilum* und *Chrys. evolceanui* bereits von 1 µg/ml Griseofulvin total gehemmt wurden, erwies sich *Ctenomyces serratus* mit einer minimalen Hemmkonzentration von 5 µg/ml als empfindlichster Pilz unter unseren Bodenisolaten. Bei 50 µg/ml vermochten auch sämtliche Stämme von *Chrys. keratinophilum*, *M. gypseum*, *Pseudoarachnietus* und *Anixiopsis* nicht mehr zu wachsen. Für die Gesamtheit der Isolate von *Chrys. evolceanui*, *M. fulvum*, *Arthroderma tuberculatum* und *Arthroderma curreyi* stellten 100 µg/ml die Grenzkonzentration dar. Für etliche, wenn auch nicht für alle Stämme von *Trich. terrestre*, *Keratinomyces ajelloi*, *Chrys. tropicum*, *Chrys. pannorum* und *Sepedonium* boten sich noch Entwicklungschancen bei 200 µg/ml. Damit schließen sich unsere Testbefunde eng an diejenigen der vorgenannten Autoren an. Allerdings verhielten sich unsere *Chrys. pannorum*-Stämme — entgegen den von LOEFFLER (1966) gemachten Angaben — recht griseofulvinresistent und die beiden *Pseudoarachnietus*-Stämme relativ griseofulvinempfindlich.

Besondere Beachtung verdient die Bestätigung einer bereits früher (SCHÖNBORN 1967) getroffenen Feststellung: die gesteigerte Griseofulvinsensibilität von *M. gypseum*-Stämmen im Vergleich zu *M. fulvum*-Isolaten. Dieses unterschiedliche Reaktionsvermögen gibt einen Hinweis auf die Existenz zweier voneinander unabhängiger Pilzarten und unterstützt die auf Grund abweichender perfekter Stadien vorgenommene Abtrennung des *M. fulvum* von *M. gypseum* (STOCKDALE).

Zur in vitro-Wirkung von Actidion

Actidion, chemisch ein Glutarimid, ist trotz guter antimyzetischer Wirkung wegen seiner Toxizität für den Menschen nur bedingt klinisch anwendbar. Durch gezielte Experimente konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß das Antibiotikum die Proteinsynthese der Mikroorganismen auf der Stufe der Peptidknüpfung stört, so daß die Polypeptidketten an den Ribosomen fixiert bleiben. Möglicherweise wird auch die Nucleinsäuresynthese unabhängig von einer blockierten Proteinsynthese vermindert. Angriffspunkte des Cyclo-

heximids sind die 80 S-Ribosomen höherer Lebewesen, dagegen bleiben 70 S-Ribosomen-systeme wie die der Bakterien unbeeinflusst. Mit dieser spezifischen Wirksamkeit gegenüber einer bestimmten, durch ihre Sedimentationskonstante charakterisierten Ribosomen-klasse, kann das eigentümliche antimikrobielle Wirkungsspektrum des Antibiotikums in Zusammenhang gebracht werden (DROBNICA; PARTHER; WIDUCZYNSKI u. a.).

Viele Sproßpilze stellen bereits bei geringen Hemmstoffkonzentrationen ihr Wachstum ein: *Cryptococcus neoformans*, *Pichia membranaefaciens*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Sacch. pastorianus*, *Candida krusei*, *C. parapsilosis*, *Torulopsis glabrata*. Andere Sproßpilze sind dagegen äußerst widerstandsfähig: *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *Saccharomyces lactis*, *Kloeckera apiculata*. Auf diese Unterschiedlichkeit gründet sich der Vorschlag DROUHETS, die Actidionempfindlichkeit als Kriterium bei der Hefedifferenzierung heranzuziehen.

Im Gegensatz zu den als actidionresistent bekannten Dermatomyceten und anderen tier- und menschenpathogenen Erregern (*Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Sporotrichum schenckii*) werden viele Schimmelpilzarten und einige phytopathogene Pilze stark gehemmt. Es gibt jedoch auch Beobachtungen über völlig unbeeinflussbare Penicillien (KUEHN und ORR) und wenig beeinträchtigte *Scopulariopsis*-, *Cephalosporium*-, *Mucor*-, *Trichothecium roseum*-, *Chrysosporium pannorum*- und *Geotrichum candidum*-Stämme (ESCHEMANN; GEMEINHARDT; THURNER 1964).

Neben erfolgreicher Anwendung des Antibiotikums in der Forstwissenschaft zur Bekämpfung von Rostkrankheiten der Nadelgehölze fand Cycloheximid seinen festen Platz in der mikrobiologischen Laboratoriumstechnik. Hier dient es zur Ausschaltung einer unerwünschten Schimmelpilzflora in Bakterien-, Aktinomyceten- und Pilzkulturen (CORKE und CHASE; PHILLIPS und HANEL). Die Vorteile eines actidionhaltigen Selektivmediums bei der Anzüchtung von Dermatophyten aus klinischem Material wurden erstmals 1953 von GEORG demonstriert und seitdem vielfach bestätigt (ADAM und STEITZ 1958; FARROCHZAD; FEGELER; GÖTZ, HANTSCHKE und VALENTOVÁ; GÖTZ und HERTLEIN; HANTSCHKE; HAUFE; KACHNÍČ und KOVÁČ; LOEWENTHAL; VAN DE PUT und FALLAUX; ROSENTHAL und FURNARI; SHARVILL und TALBOT). Die ursprünglich empfohlene Konzentration von 100 µg/ml mußte im Interesse einer höheren Erfolgsquote auf 300 bis 500 µg/ml gesteigert werden; bei stark verunreinigtem Ausgangsmaterial arbeitet man sogar mit maximalen Actidiondosen von 750 µg/ml (KIELSTEIN). Möglicherweise kann die von ADAM und SCHWANKL im Laufe der letzten Jahre beobachtete Zunahme actidionunempfindlicher Schimmelpilzstämmen mit einer langsamen Adaptation an das Antibiotikum erklärt werden. Experimentell ließ sich eine induzierte Resistenz sowohl bei Hefen als auch bei *Fomes annosus*, einem Basidiomyceten, nachweisen (GUNDERSON; GUNDERSON und WADSTEIN; MONREAL). Dermatophyten tolerieren relativ hohe Actidionmengen (etwa 1000 µg/ml); trotzdem hat man auch bei diesen Mikroorganismen mit einer konzentrationsabhängigen Entwicklungshemmung zu rechnen (ADAM und STEITZ 1958; KIELSTEIN; THURNER 1964). Nach Untersuchungen von ESCHEMANN erreichten auf Grützzagar mit 500 µg/ml Cycloheximid *Trich. mentagrophytes* 64 bzw. 76 % der hemmstofffreien Vergleichskulturen, *Trich. rubrum* 80 %, *M. canis* 73 %, *E. floccosum* 97 % und *Trich. megninii* 54 %.

Erst der Einsatz von Actidion machte es möglich, epidemiologischen Problemen der Dermatomykologie gezielt nachzugehen. In verstärktem Maße gelang der kulturelle Dermatophytennachweis nicht nur bei Tieren und in deren Stallungen, in der menschlichen Fußbekleidung oder in Wasch- und Duschanlagen, sondern auch im Erdboden. Die Boden-dermatophyten und verwandte keratinophile Pilze wurden zum Gegenstand einer speziel-

len Forschungsrichtung. Trotzdem vermißt man, abgesehen von vereinzelt Hinweisen, eine systematische Prüfung dieser Mikroorganismen auf Cycloheximidempfindlichkeit.

KUEHN und ORR berichteten über Versuche, verschiedene Gymnoasceae aus gemischten Sporensuspensionen nach Actidioneinwirkung rückzuzüchten. Die geprüften Stämme der Gattungen Pseudoarachnietus, Eidamella, Myxotrichum, Gymnoascus und Shanorella wuchsen gut bei Actidionkonzentrationen von 1—6 mg/ml; Pseudoarachnietus hyalinosporus trug sogar 8—15 mg/ml im Nährboden. Zwischen Sporen (Asco-, Arthro- oder Aleuriosporen) und vegetativen Zellen ergaben sich keine nennenswerten Resistenzunterschiede. LOEFFLER (1966) zählt zur Gruppe der cycloheximidunempfindlichen Pilze neben Keratinomyces ajelloi und Trich. terrestre z. B. Pseudoarachnietus-, Gymnoascus-, Myxotrichum-, Sepedonium-, Anixiopsis-Stämme, Chrysosporium (Geomyces) pannorum und andere Chrysosporien. Gehemmt wurden dagegen Vertreter der Gymnoasceen-Gattungen Shanorella und Byssodhlamys. Mit 500 µg/ml Actidion und je einem Teststamm durchgeführte Resistenzprüfungen (ESCHEMANN) brachten folgende Wachstumsabweichungen von der jeweiligen Kontrollkolonie: M. gypseum 91 %, M. cookei 71 %, Trich. terrestre 81 %, K. ajelloi 93 %, Chrysosporium keratinophilum 91 %, Chrys. evolceanui 103 %, Chrys. pannorum 76 %. Nach eigenen, früher vorgenommenen Untersuchungen (SCHÖNBORN 1968) erreichten unter Einfluß von 600 µg/ml Actidion Chrys. keratinophilum zwischen 34,5 % und 88 % und Chrys. tropicum 62,7 % bzw. 96 % des Normalwachstums.

Für unsere Testpilze (mit Ausnahme von 7 Chrys. evolceanui-, 2 M. gypseum-Stämmen und 1 M. fulvum-Isolat) blieb eine Actidionkonzentration von 1000 µg/ml unterhalb der totalhemmenden Dosis (Tab. 1). Auf Grund der mittleren Wachstumsintensität erwiesen sich Chrys. keratinophilum (70,4 %) und Anixiopsis stercoraria (68,2 %) als relativ resistent, Pseudoarachnietus spec. (25 %) und Arthroderma curreyi (33,4 %) als relativ empfindlich (Tab. 2).

Zur Korrelation zwischen Griseofulvin- und Actidion-Wirkung

Bei bestimmten mykologischen Fragestellungen erwies sich eine kombinierte Anwendung von Actidion und Griseofulvin als vorteilhaft. ADAM und STEITZ (1960) benutzten einen cycloheximidhaltigen Nährboden, um im Lochtest die Griseofulvinempfindlichkeit von Dermatophyten-Primärkulturen festzustellen. In methodisch ähnlicher Weise überprüften GRIN und Mitarb. die Griseofulvinwirkung auf pilzkranken Haare, indem sie diese in Nährlösung mit Actidion- und Griseofulvin-Zusatz verimpften.

Während man bei diesen Untersuchungen allein die schimmelpilzfeindliche Aktivität des Actidions ausnutzen wollte, setzten BLANK und REBELL sowie MEINHOF und RIETH die unterschiedliche Hemmkraft der beiden Antibiotika für eine Erleichterung der klinischen Pilzdiagnostik ein. Die von BLANK und REBELL erarbeitete Methode sieht die Verimpfung des dermatophytenverdächtigen Untersuchungsmaterials auf je 2 Agarmedien vor, und zwar auf (actidionhaltigen) Mycoselagar sowie Mycoselagar mit 20 µg/ml Griseofulvin. Pilze, die lediglich auf Mycosel-Medium angehen, geben sich als Dermatophyten zu erkennen und rechtfertigen den therapeutischen Einsatz von Griseofulvin. Mit Hilfe dreier Nährböden (Griseofulvin-, Nystatin- und Actidion-Agar) gelang es MEINHOF und RIETH, die Erregerkeime rasch in 3 große Gruppen (Dermatophyten, Hefen, Schimmel) zu trennen, was wegen der unterschiedlichen medikamentösen Beeinflußbarkeit dieser Pilze von erheblicher praktischer Bedeutung ist.

Eine Erweiterung erfuhren diese Bestrebungen durch LOEFFLER (1966, 1969), der die Verteilung der Griseofulvin- und Actidion-Resistenz im System der Pilze unter besonderer Berücksichtigung von Dermatophyten und verwandter Formen näher untersuchte und sein Testverfahren für geeignet hielt, Hautpilze schnell zu erkennen. Zum Dermatophyten-Typ (griseofulvinempfindlich, actidionunempfindlich) rechnet der Autor alle Trichophyetae (außer *Trich. terrestre* und *K. ajelloi*) und einige *Chrysosporieae*. Weder durch Griseofulvin noch durch Actidion gehemmt werden die Vertreter des *Gymnoascaceae*-Typs. Dazu gehören die *Gymnoascaceen* mit Ausschluß von *Byssochlamys* und *Shanorella*, daneben auch *Chrysosporium*- und *Sepedonium*-Arten sowie einzelne Gattungen und Arten der *Eurotiaceae*. Der Schimmelpilz-Typ (Hemmung durch Actidion, aber nicht durch Griseofulvin) umfaßt die Mehrzahl aller Pilze aus der Gruppe der *Phycomyceten*, der *Eurotiaceae* und *Moniliaceae*. Der *Botrytis*-Typ (sowohl griseofulvin- als actidionempfindlich) beschränkt sich dagegen in der Hauptsache auf *Botrytis*-Arten.

Ein Blick auf **Abbildung 1** lehrt, daß wegen fließender Übergänge eine zwanglose Zuordnung unserer Testpilze zu einem der genannten Typen nicht einfach ist. Durch eindeutiges „dermatophytenspezifisches“ Verhalten zeichneten sich *Ctenomyces serratus*, *Pseudo-*

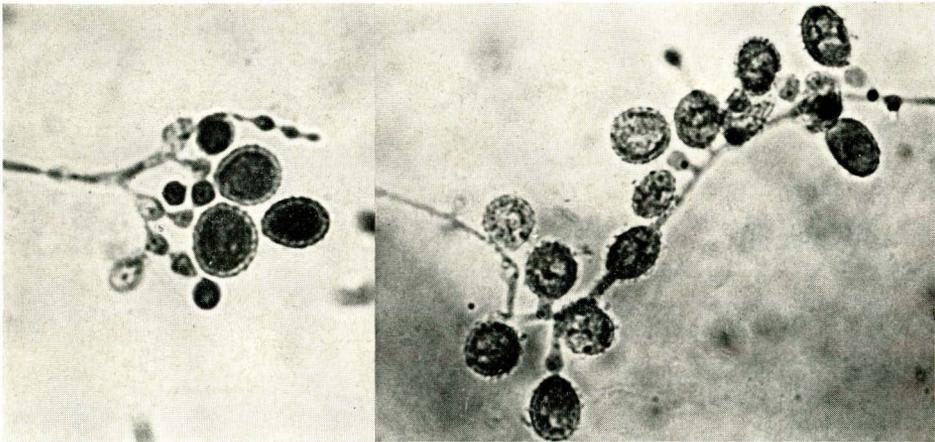


Abb. 2: *Ctenomyces serratus*-Mikrokultur. Imperfektes Aleuriosporen-Stadium.
Vergr. 760- bzw. 630fach

arachnoidus spec., *Chrys. keratinophilum*, *M. gypseum* und *Anixiopsis stercoraria* aus. Relativ gering bzw. gleichmäßig stark durch beide Hemmstoffe beeinflusst wurden *Arthroderma curreyi*, *Chrysosporium pannorum*, *Chrys. tropicum* und *Sepedonium* spec. Damit stehen unsere Testergebnisse bis auf Diskrepanzen hinsichtlich *Chrys. pannorum* und *Pseudoarachnoidus* mit denen LOEFFLERS in gutem Einklang.

Obwohl die Systematik noch immer bevorzugt mit morphologischen Merkmalen arbeitet, sucht man heute zusätzliche Informationen über Artcharakteristika zu gewinnen, vor allem aus dem Bereich der Biochemie und Ökologie (MÜLLER, SCHWINN). Dabei brauchen Kriterien, die bei einer bestimmten Organismengruppe sichere Unterscheidungsmerkmale darstellen, bei einer anderen keinerlei taxonomische Bedeutung zu besitzen.

Eine artspezifische Hemmstoffwirkung auf Mikroorganismen erkannte LEONIAN bereits 1934. Ihm diente die unterschiedliche Malachitgrün-Empfindlichkeit von *Phytophthora-*

Stämmen zur Artentrennung. Auch bei Streptomyceten ist die Antibiotikaresistenz von differentialdiagnostischem Interesse (WILLIAMS). Ohne Zweifel eignet sich der kombinierte Griseofulvin-Actidion-Test zur Erkennung und Auslese typischer hautpathogener Dermatophyten aus entsprechendem Untersuchungsmaterial. Die saprophytischen Bodendermatophyten und verwandten keratinolytisch aktiven Ascomyceten verhalten sich jedoch nicht einheitlich genug, um allein durch dieses einfache Verfahren hinreichend diagnostiziert zu werden. Dieses Urteil schließt natürlich nicht aus, daß in Einzelfällen die Reaktion eines Pilzstammes gegenüber beiden Antibiotika von taxonomischem Wert sein kann, zumal die Testergebnisse mitunter leichter zugänglich sind als morphologische Einzelheiten.

Durch weitgehende morphologische Ähnlichkeit zeichneten sich z. B. unsere Versuchspilze *Ctenomyces serratus*, *Arthroderma tuberculatum* und *Sepedonium spec. aus*, vor allem was das mikroskopische Bild der imperfekten Wuchsform anbetrifft. Sie entwickelten übereinstimmend gelb-braune, dichte, flache, pudrige oder samtige Kolonien mit runden, hyalinen, im Reifezustand rauhwandigen Aleuriosporen (Abb. 2 bis 4). Hier bietet

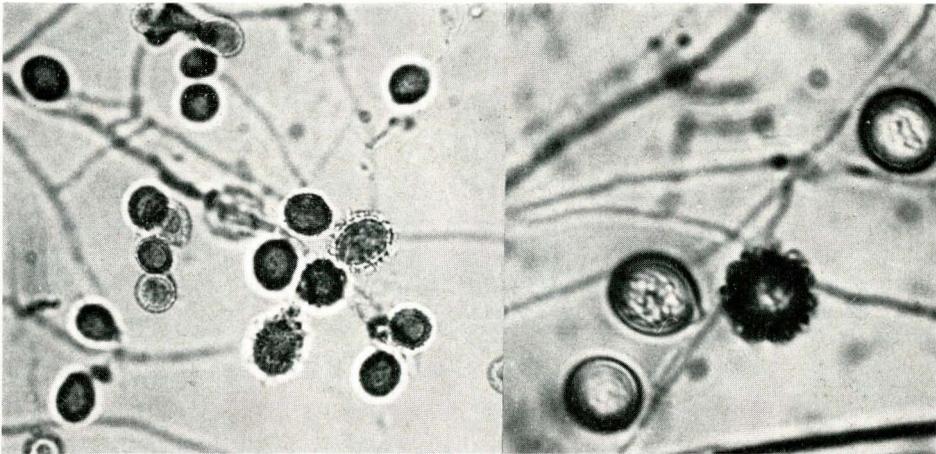


Abb. 3: Imperfekte Wuchsform von *Arthroderma tuberculatum*.
Vergr. 608- bzw. 950fach

sich die voneinander abweichende Antibiotika-Sensibilität als Unterscheidungsmerkmal an: *Ctenomyces serratus* wurde durch Griseofulvin in geringsten Konzentrationen gehemmt, verhielt sich gegenüber Actidion jedoch resistent. *Sepedonium* tolerierte beide Antibiotika in hohem Maße. Dagegen stellten *Arthroderma tuberculatum*-Stämme bei Griseofulvinmengen von maximal 50 µg/ml ihr Wachstum ein.

In einer ähnlichen Situation befindet man sich bei der systematischen Abgrenzung von *Chrysosporium*-Stämmen, die, morphologisch wenig charakteristisch, oft nur das imperfekte Stadium einer nicht gleichzeitig ausgebildeten perfekten Fruchtform bestimmter Gymnoasceen darstellen. Ganz typisch für *Chrysosporium keratinophilum* ist die für Bodenpilze unerwartet hohe Griseofulvinempfindlichkeit neben ausgeprägter Actidionresistenz. Wie aus einer früheren Mitteilung hervorgeht (SCHÖNBORN 1968), gelang uns die Abtrennung einer als *Chrys. tropicum* angesehenen Variante nicht zuletzt wegen der stark abweichenden Antibiotika-Empfindlichkeit jener Pilzstämme. Auffällig erscheint die Variabilität des Hemmeffektes bei *Chrys. evolceanui*-Isolaten (Tab. 1). Die totalhemmen-

den Konzentrationen schwankten bei Griseofulvin von 1–100 µg/ml, bei Actidion von 300 bis < 1000 µg/ml. Möglicherweise muß dies als Anzeichen für eine nicht exakte Identifizierung dieser systematisch schwer klassifizierbaren Mikroorganismen gewertet werden.

Auf die unterschiedliche Griseofulvinsensibilität bei *M. fulvum* und *M. gypseum* bei etwa gleichstarker Wachstumshemmung durch Actidion sowie die sich ergebenden taxonomischen Konsequenzen wurde bereits hingewiesen.

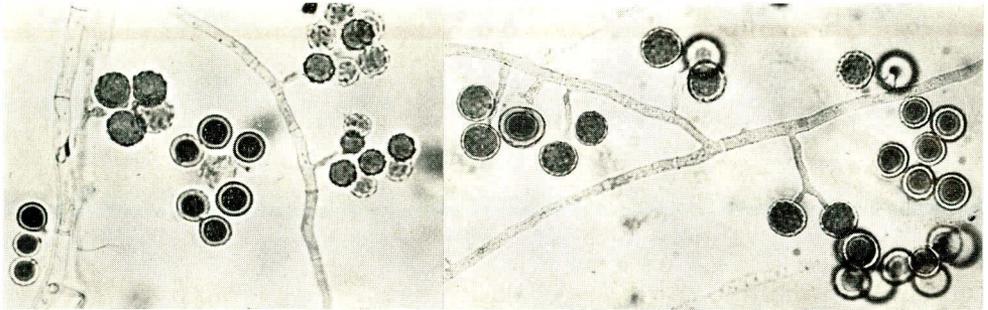


Abb. 4: Mikromorphologie eines Vertreters der Gattung *Sepedonium*.
Vergr. 300- bzw. 470fach

Wie die angeführten Beispiele beweisen, reagieren einige keratinabbauende saprophytische Mikropilze spezifisch auf Griseofulvin- und Actidion-Einwirkung. Die Ergebnisse des kombinierten Hemmstofftestes liefern in vielen Fällen wertvolle Informationen, die bei der Artdiagnostik Berücksichtigung finden sollten.

Zusammenfassung

Die Antibiotika Griseofulvin und Actidion unterscheiden sich grundlegend hinsichtlich ihres antifungischen Wirkungsspektrums: Griseofulvin verursacht bereits in geringsten Konzentrationen Hemmwirkungen bei Dermatophyten, läßt Schimmelpilze und Hefen jedoch unbeeinflusst. Andererseits unterdrückt Actidion viele Schimmel- und Sproßpilze ohne Störung des Hautpilzwachstums.

Nach LOEFFLER läßt sich die unterschiedliche Aktivität beider Hemmstoffe zur raschen Identifikation von Dermatophyten *in vitro* ausnutzen.

Um zu prüfen, inwieweit die Antibiotikaresistenz differentialdiagnostische Bedeutung bei Bodendermatophyten und verwandten keratinolytisch aktiven Ascomyceten besitzt, testeten wir insgesamt 182 aus dem Erdboden isolierte Pilzstämme: *Anixiopsis stercoraria*, *Arthroderma curreyi*, *A. tuberculatum*, *Chrysosporium evolceanui*, *Chrys. keratinophilum*, *Chrys. pannorum*, *Chrys. tropicum*, *Ctenomyces serratus*, *Keratinomyces ajelloi*, *Microsporum fulvum*, *M. gypseum*, *Pseudoarachniotus spec.*, *Sepedonium spec.*, und *Trichophyton terrestre*. Es stellte sich heraus, daß *Ctenomyces serratus*, *Pseudoarachniotus*, *Chrys. keratinophilum*, *M. gypseum* und *Anixiopsis stercoraria* „dermatophytenspezifisch“ reagierten, nicht jedoch *Arthroderma curreyi*, *Chrys. pannorum*, *Chrys. tropicum* und *Sepedonium*. Der kombinierte Griseofulvin-Actidion-Test erwies sich als vorteilhaft für die Klassifikation morphologisch ähnlicher Pilzarten, z. B. zur Trennung von *Ctenomyces serratus*, *Sepedonium* und *Arthroderma tuberculatum* oder von *Chrysosporium*-Stämmen. Beachtenswert erscheint die gesteigerte Griseofulvinsensibilität der getesteten *M. gypseum*-Stämme im Vergleich zu den *M. fulvum*-Isolaten.

Summary

The antibiotics griseofulvin and actidion differ fundamentally as regards their anti-fungal spectrum: griseofulvin has an inhibiting effect on dermatophytes even at very low dosage, but has no effect on molds and yeasts. Actidion, however, inhibits many molds and yeasts but does not interfere with the growth of dermatophytes.

According to Loeffler the different activity of these substances can be used for rapid identification of dermatophytes *in vitro*.

To determine in how far the resistance against antibiotics is of differential diagnostic value for soil dermatophytes and related keratinolytic ascomycetes a study was made of 182 fungus strains isolated from soil samples: *Anixiopsis stercoraria*, *Arthroderma curreyi*, *A. tuberculatum*, *Chrysosporium evolceanui*, *Chrys. keratinophilum*, *Chrys. pannorum*, *Chrys. tropicum*, *Ctenomyces serratus*, *Keratinomyces ajelloi*, *Microsporum fulvum*, *M. gypseum*, *Pseudoarachniotus spec.*, *Sepedonium spec.* and *Trichophyton terrestre*. It was found that *Ctenomyces serratus*, *Pseudoarachniotus*, *Chrys. keratinophilum*, *M. gypseum* and *Anixiopsis stercoraria* showed a "dermatophyte-specific" reaction. This was not the case for *Arthroderma curreyi*, *Chrys. pannorum*, *Chrys. tropicum* and *Sepedonium*. The combined griseofulvin-actidion test was found to offer advantages in classification of morphologically similar fungi, e. g. for differentiation between *Ctenomyces serratus*, *Sepedonium* and *Arthroderma tuberculatum*, or *Chrysosporium* strains. An interesting finding is the increased sensitivity to griseofulvin of the *M. gypseum* strains tested, in comparison with the *M. fulvum* strains isolated.

Resumen

Los antibióticos Griseofulvina y Actidiona se diferencian fundamentalmente en su espectro de acción antifúngica: la Griseofulvina inhibe en pequeñas concentraciones a los dermatofitos y no actúan sobre mohos y levaduras. Por el otro lado la Actidiona inhibe el crecimiento de mohos y levaduras sin interferir en el desarrollo de los dermatofitos.

Según Loeffler esta acción inhibitoria opuesta de ambos productos puede ser utilizada para una rápida identificación "in vitro" de dermatofitos.

Para investigar hasta donde la resistencia a estos antibióticos tiene valor para el diagnóstico diferencial de dermatofitos del suelo y ascomicetos queratinolíticos emparentados, hemos testado en total 182 cepas de hongos del suelo terrestre: *Anixiopsis stercoraria*, *Arthroderma curreyi*, *A. tuberculatum*, *Chrysosporium evolceanui*, *Chrys. keratinophilum*, *Chrys. pannorum*, *Chrys. tropicum*, *Ctenomyces serratus*, *Keratinomyces ajelloi*, *Microsporum fulvum*, *M. gypseum*, *Pseudoarachniotus spec.*, *Sepedonium spec.*, y *Trichophyton terrestre*. Resultó que *Ctenomyces serratus*, *Pseudoarachniotus*, *Chrys. keratinophilum*, *M. gypseum* y *Anixiopsis stercoraria* reaccionaban con "especificidad" de dermatofito y no lo hacían *Arthroderma curreyi*, *Chrys. pannorum*, *Chrys. tropicum* y *Sepedonium*. El test combinado de Griseofulvina y Actidiona mostró ser útil para la clasificación de especies de hongos morfológicamente semejantes, por ej. para la separación de *Ctenomyces serratus*, *Sepedonium*, *Arthroderma tuberculatum* o de cepas de *Ctenomyces*. Es de señalar la gran sensibilidad a la Griseofulvina de las cepas de *M. gypseum* testificados en comparación al *M. fulvum*.

Für gewissenhafte Unterstützung bei der Durchführung der Hemmstoffteste danke ich Fräulein ULRIKE KUNZE.

Literatur

ADAM, W. u. L. SCHWANKL: Zur Resistenz von Schimmelpilzen gegenüber Cycloheximid. In: GRIMMER, H. u. H. RIETH: Krankheiten durch Schimmelpilze bei Mensch und Tier. Springer-

Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 155—159 (1965).

ADAM, W. u. K. STEITZ: Zur Wirkung von Cycloheximid auf Pilzkulturen. Z. Haut- u. Geschl.krkh. 25 153—161 (1958).

- ADAM, W. u. K. STEITZ: Zur Testung von Dermatophyten auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Griseofulvin. *Ärztl. Forsch.* 14 144—147 (1960).
- ALTERAŞ, I. u. R. EVOLCEANU: Griseofulvin sensitivity of keratinophilic fungi from Romania. *Mycopathologia* 37 109—112 (1969).
- AYTOUN, R. S. C.: The effects of griseofulvin on certain phytopathogenic fungi. *Ann. Bot., N. S.* 20 297—305 (1956).
- AYTOUN, R. S. C., A. H. CAMPBELL, E. J. NAPIER u. D. A. L. SEILER: Mycological aspects of action of griseofulvin against dermatophytes. *Arch. Derm., Chic.* 81 650—656 (1960).
- BECKER, S. E., E. S. KULIK u. R. A. MAXIMOWA: Die Eigenschaften des antibiotischen Spektrums und der Wirkungsmechanismus einiger Antibiotika aus Pilzen. In: *Wirkungsmechanismen von Fungiziden und Antibiotika*. Akademie-Verlag, Berlin 115—119 (1967).
- BEER, P. u. M. PRUNIFRAS: La croissance de *M. gypseum* en présence de griséofulvine. *Étude mycologique*. *Bull. Soc. franç. Derm. Syph.* 70 38 (1963).
- BLANK, H. u. G. REBELL: Griseofulvin-containing medium for simplified diagnosis of dermatophytosis. *Arch. Derm., Chic.* 92 319—322 (1965).
- BLANK, H. u. F. J. ROTH jr.: The treatment of dermatomycoses with orally administered griseofulvin. *Arch. Derm., Chic.* 79 259—266 (1959).
- BLASCHKE-HELLMESSEN, R.: Über das Vorkommen von *Mikrosporium cookei* Ajello 1959 in Bodenproben Deutschlands. *Mykosen* 7 31—40 (1964).
- BÖHME, H. u. H. A. KOCH: Nachweis von *Chrysosporium keratinophilum* (FREY) CARMICHAEL, *Trichophyton evolceanii* RANDHAWA u. SANDHU und *Trichophyton indicum* RANDHAWA u. SANDHU in Bodenproben aus Deutschland. *Mykosen* 8 53—61 (1965).
- BÖHME, H. u. H. ZIEGLER: Untersuchungen über die Wirkung von Griseofulvin auf *Microsporium canis* (1. Mitt.). *Mykosen* 3 57—69 (1960).
- BRAUN, W. u. M. STROHBACH: Ein Vergleich zwischen Actidion- und Desertomycin-Zusatz zum Nährboden in der mykologischen Routine-Diagnostik. *mykosen* 10 479—486 (1967).
- BRIAN, P. W., P. J. CURTIS u. H. G. HEMMING: A substance causing abnormal development of fungal hyphae produced by *Penicillium Janczewskii* ZAL. I. Biological assay, production and isolation of "curling factor". *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 29 173—187 (1946).
- BROSSI, A., M. BAUMANN, M. GERECKE u. E. KYBURZ: Syntheseveruche in der Griseofulvin-Reihe. Vorläufige Mitteilung. Totalsynthese von Griseofulvin. *Helv. chim. Acta* 43 1444—1447 (1960).
- CORKE, C. T. u. F. E. CHASE: Selective enumeration of Actinomycetes in the presence of large numbers of fungi. *Canad. J. Microbiol.* 2 12—16 (1956).
- DITTMAR, W.: Experimentelle Grundlagen zur mikrobiologischen Griseofulvin-Bestimmung im Serum. I. Mitt.: Mycelwachstum auf festen Medien. *Mykosen* 7 15—30 (1964).
- DITTMAR, W.: Experimentelle Grundlagen zur mikrobiologischen Griseofulvinbestimmung im Serum. II. Mitt.: Ergänzungen und Alternativen zum Myzelwuchstest. *Mykosen* 9 104—126 (1966).
- DROBNICA, L.: Diskussionsbeitrag in: *Wirkungsmechanismen von Fungiziden und Antibiotika*. Akademie-Verlag Berlin 405—413 (1967).
- DROUHET, E.: Diskussionsbeitrag zu D. W. R. MACKENZIE: Laboratory investigations of *Candida infections*. *Symp. on Candida infections Edinburgh-London*, 26—43 (1966).
- DUONG-HONG-MO u. HUYNH-NGOC-PHUONG: Sensibilité à la griséofulvine de quelques dermatophytes isolés au Sud Viet-Nam. *Bull. Soc. Pathol. exot.* 59 794—796 (1966); ref.: *Abstr. Mycol.* 3 393 (1969).
- ESCHEMANN, B.: Vergleichende Untersuchungen mit Actidion und Desertomycin als Nährbodenzusatz im mykologischen Laboratorium. *Inaug.-Diss.* Leipzig (1967).
- FARROCHZAD, S.: Vergleichende mykologische Untersuchungen mit verschiedenen Nährböden unter besonderer Berücksichtigung des Cycloheximid-Antibiotika-Agar. *Inaug.-Diss.* Gießen (1959); ref.: *Derm. Wschr.* 148 553 (1963).
- FEGELER, F.: Cycloheximid-(Actidion)-Agar, ein Fortschritt in der Züchtung von Dermatophyten. *Dermatologica*, Basel 113 65—70 (1956).
- FREY, J. R., A. BROSSI, H. GELEICK u. H. J. SCHOLER: Stereospezifität der Griseofulvinwirkung. In: H. RIETH u. H. GÖTZ: *Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen*. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 10—13 (1962).
- FUENTES, C. A., F. TRESPALACIOS, G. F. BAQUERO u. R. ABOULAFIA: Effect of actidione on mold contaminants and on human pathogens. *Mycologia* 44 170—175 (1952).
- GEMEINHARDT, H.: Zur Frage der selektiven Anzüchtung von Dermatophyten durch Desertomycin. *Derm. Wschr.* 147 756—761 (1965).
- GENTLES, J. C.: Pharmakologische und biologische Aspekte des Griseofulvins. *Derm. Wschr.* 142 1190—1191 (1960).
- GEORG, L. K.: Use of cycloheximide medium for isolation of dermatophytes from clinical materials. *Arch. Derm., Chic.* 67 355—361 (1953).

- GÖTZ, H.: Experimentelle und klinische Beobachtungen bei der Behandlung der Tinea manuum, pedum, corporis et unguium mit Griseofulvin. *Hautarzt* 10 539—547 (1959).
- GÖTZ, H., D. HANTSCHKE u. M. VALENTOVÁ: Vergleich der Wirksamkeit von Colistin, Novobiocin und Actidion zu Desertomycin bei der Züchtung von Dermatophyten aus Nagel- und Hautmaterial nach dem Einbettungsverfahren. *mykosen* 12 17—22 (1969).
- GÖTZ, H. u. E. M. HERTLEIN: Förderung der Züchtung von Dermatophyten durch Cycloheximid-Kaliumtellurit-Selektivnährboden und Soforteinsaat des Untersuchungsmaterials. *Derm. Wschr.* 139 8—13 (1959).
- GRIN, E. J., M. NADAŽDIN u. L. OŽEGOVIĆ: Investigations of dermatophyte sensitivity to griseofulvin. *Acta dermat.-venereol.* 45 283—287 (1965).
- GRIN, E. J., M. NADAŽDIN u. L. OŽEGOVIĆ: Investigations on the adaptivity of dermatophytes to griseofulvin. *Mycopathologia* 30 31—40 (1966).
- GROVE, J. F. u. J. C. MCGOWAN: Identity of griseofulvin and "Curling factor". *Nature, Lond.* 160 574 (1947).
- GUNDERSEN, K.: Induced resistance in *Fomes annosus* to the antibiotic cycloheximide. *Acta hort. gotoburg.* 25 1—31 (1962); ref.: *Ber. wiss. Biol.* 201 39 (1964).
- GUNDERSEN, K. u. T. WADSTEIN: Morphological changes and resistance induced in *Saccharomyces pastorianus* by the antibiotic cycloheximide. *J. gen. Microbiol.* 28 325—332 (1962); ref.: *Ber. wiss. Biol.* 185 43 (1963).
- HANTSCHKE, D.: Ein Colistin-Novobiocin-Actidion-Agar als Anzüchtmedium für humanpathogene Pilze. *mykosen* 11 769—778 (1968).
- HAUPE, F.: Zur Verwendbarkeit von Cycloheximid als Nährbodenzusatz. *Mykosen* 4 126—127 (1961).
- HAZEN, E. L. u. R. BROWN: Two antifungal agents produced by a soil actinomycete. *Science* 112 423 (1950).
- KACHNIČ, M. u. P. KOVÁČ: Sechsjährige Erfahrungen mit Cycloheximid (Actidion) in der humanen mykologischen Diagnostik. *Mykosen* 8 168—176 (1965).
- KIELSTEIN, P.: Zur Anwendung verschiedener Pilzhemmungsmittel für die selektive kulturelle Isolierung von Trichophytonarten. *Mh. Vet. Med.* 18 111—115 (1963).
- KLEINE-NATROP, H. E., G. BÄRWALD u. C. SEEBACHER: Vergleichende Griseofulvin-Serumspiegelbestimmungen nach Verabreichung von „Griseofulvin AWD“ und „Gricin®“ unter Anwendung einer neuen biologischen Testmethode. *Dtsch. Ges.wesen* 20 1375—1383 (1965).
- KNOTH, W., R. C. KNOTH-BORN u. H. RANFT: Über die unterschiedliche Wirkung von Griseofulvin in vitro auf verschiedene Pilzarten. In: H. RIETH u. H. GÖTZ: Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 14—17 (1962).
- KOCH, H. A. u. Y. KOCH: Investigations on the antibiotic sensitivity of dermatophytes and keratinophilic fungi. II. Symp. Myc. Med. Posnaniae 6.—8. 10. 1967 S. 123.
- KREISEL, H.: Grundzüge eines natürlichen Systems der Pilze. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1969).
- KUEHN, H. H. u. G. F. ORR: Tolerance of certain fungi to actidione and its use in isolation of Gymnoascaceae. *Sabouraudia* 1 220—229 (1962).
- LENHART, K.: Determination of griseofulvin sensitivity by mycelial growth test. *mykosen* 11 195—204 (1968).
- LEONIAN, L. H.: Identification of *Phytophthora* species. *Agric. Exp. Sta., West. Virg. Univ., Bull.* 262 (1934); zit. bei SCHWINN.
- LOEFFLER, W.: Ein einfaches Verfahren zum Erkennen von Dermatophyten. 6. Tagung d. deutschsprachig. Myk. Ges., Wien (1966).
- LOEFFLER, W.: Dermatophyten und Dermatophytosen. Geschichtliches aus neuerer Sicht. *mykosen* 12 589—606 (1969).
- LOEWENTHAL, K.: Appraisal of Sabouraud's, cycloheximide and oxgall agars. *Arch. Derm., Chic.* 84 256—260 (1961).
- MEINHOF, W. u. H. RIETH: Differentialdiagnostische Bewertung von Pilzfäden in Haarfollikeln und Nägeln bei generalisierter Candidamykose. *Hautarzt* 13 111—117 (1962).
- MONREAL, K.: Die Wirkung von Actidion auf *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. *Angew. Bot.* 35 24—60 (1961); ref.: *Ber. wiss. Biol.* 168 117 (1962).
- MOREAU, C.: Technique simple de comparaison du pouvoir fongicide de diverses substances. *Rev. Mycol.* 24 59 (1959).
- MÜLLER, H. J.: Bedeutung und Aufgaben der Systematik in der modernen Biologie. Akademie-Verlag Berlin (1968).
- OXFORD, A. E., H. RAISTRICK u. P. SIMONART: Studies in the biochemistry of micro-organisms. Griseofulvin, C₁₇H₁₇O₆Cl, a metabolic product of *Penicillium griseo-fulvum* DIERCKX. *Biochem. J.* 33 240—248 (1939).
- PARTHIER, B.: Antibiotica, Molekularbiologische Wirkungsmechanismen. *Nova Acta Leopoldina N. F. Nr.* 188, Bd. 34, Barth Verlag Leipzig (1969).
- PHILLIPS, G. B. u. E. HANEL: Control of mold contaminants on solid media by the use of actidione. *J. Bact.* 60 104—105 (1950).

- PUT, K. VAN DE u. P. FALLAUX: Comparison of various culture media for dermatophytes. *Acta dermat.-venereol.* 45 163—166 (1965).
- RAUBITSCHKE, F. u. R. EVRON: Griseofulvin, its action on the saprophytic and pseudoparasitic life-phase of dermatophytes. *Bull. Res. coun. Israel*, D, 10 250—253 (1961); ref.: *Ber. wiss. Biol.* 177 86 (1962).
- RDZANEK, I. u. D. WEYMAN-RZUCIDLO: Studies on some biological properties on the keratinophilic fungi isolated from the soil. *Proc. Int. Symp. Med. Myc. Warszawa* 63—65 (1963).
- REDDISH, G. F.: Antiseptics, disinfectants, fungicides and chemical and physical sterilization. *Lead Febiger, Philad.* (1957).
- RIETH, H.: Die Antimykotika. In: *Handbuch d. Haut- u. Geschl.krkh., Erg.werk V/1* 1171 (1962).
- RIETH, H.: Resistenz-Tests mit Erregern von Fußmykosen. *Arch. klin. exp. Derm.* 227 614—617 (1966).
- RIETH, H.: Griseofulvinbedingte pathologische Wuchsformen von Dermatophyten. *mykosen* 10 281—282 (1967).
- RIETH, H.: Unterschiedliches Auftreten und Ausbleiben des griseofulvinbedingten Curling-Effektes bei vegetativem und fruktifizierendem Myzel von Trichophyton mentagrophytes. *mykosen* 12 385—386 (1969 a).
- RIETH, H.: Kritische Bemerkungen zur Frage der Griseofulvinempfindlichkeit der verschiedenen Mikrosporidien-Erreger und den daraus abgeleiteten therapeutischen Konsequenzen. *mykosen* 12 625—626 (1969 b).
- ROBINSON, R. C. V., T. N. FERCIOT u. N. M. ROBINSON: In vitro resistance studies with griseofulvin. *Arch. Derm., Chic.* 81 681—683 (1960).
- ROSENTHAL, S. A. u. D. FURNARI: The use of a cycloheximide-chloramphenicol medium in routine culture for fungi. *J. invest. Derm.* 28 367—371 (1957).
- ROSENTHAL, S. A. u. R. S. WISE: Studies concerning the development of resistance to griseofulvin by dermatophytes. *Arch. Derm., Chic.* 81 684—689 (1960).
- SANDHU, R. S. u. H. S. RANDHAWA: Action of griseofulvin on geophilic dermatophytes and related keratinophilic fungi. *Mycopathologia* 23 141 (1964).
- SCHICK, G. u. Z. ZAHARIEV: Die Wirkung von Griseofulvin auf *Microsporum cookei* und andere Dermatophyten und keratinophile Pilze in vitro. *Derm. Vener., Sofia* 6 237—244 (1967); ref.: *Zbl. Haut- u. Geschl.krkh.* 124 286 (1968).
- SCHÖNBORN, C.: Vergleichende Untersuchungen an geophilen *Microsporum*-Stämmen edaphischer, animaler und humaner Herkunft. *mykosen* 10 283—300, 425—440 (1967).
- SCHÖNBORN, C.: Zum Vorkommen von *Chryso sporium keratinophilum* (FREY) CARMICHAEL und einer thermophilen Variante im Erdboden und bei Tieren. *mykosen* 11 847—864 (1968).
- SCHWINN, F. J.: Zur Bedeutung morphologischer und physiologischer Artmerkmale und ihrer Variabilität für die Charakterisierung von Pilzen. *Internat. Symp. „Das Art- und Rassenproblem bei Pilzen“*, Wernigerode 77—95 (1967).
- SHARVILL, D. u. J. M. TALBOT: Cycloheximide in the isolation of dermatophytes. *Brit. J. Derm.* 66 214—217 (1954).
- STOCKDALE, P. M.: The *Microsporum gypseum* complex (*Nannizzia incurvata* STOCKD., N. *gypsea* (Nann.) comb. nov., N. *fulva* sp. nov.). *Sabouraudia* 3 114—126 (1963).
- TURNER, J.: In vitro-Studien über Griseofulvin. *Mykosen* 5 54—62 (1962).
- TURNER, J.: Veränderungen der Schimmelpilze durch Actidion (Cycloheximid). *Hautarzt* 15 599—601 (1964).
- VANBREUSEGHEM, R. u. C. DE VROEY: Sensibilité à la griséofulvine de quelques dermatophytes africains. *Ann. Soc. belge Méd. trop.* 46 465—470 (1966); ref.: *mykosen* 10 507 (1967).
- VAUGHN, J. R. u. C. L. HAMNER: Present status of cycloheximide (actidione) as a fungicide. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.* 54 435—437 (1949); zit. bei KUEHN u. ORR.
- VERTOMMEN, J.: Contribution à l'étude de la sensibilité des dermatophytes à la griséofulvine. *Arch. Belg. Derm.* 19 105 (1963).
- WHIFFEN, A. J.: The production, assay, and antibiotic activity of actidione, an antibiotic from *Streptomyces griseus*. *J. Bact.* 56 283—291 (1948).
- WHIFFEN, A. J., N. BOHONOS u. R. L. EMERSON: The production of an antifungal antibiotic by *Streptomyces griseus*. *J. Bact.* 52 610 (1946).
- WIDUCZYNSKI, I.: Effect of cycloheximide on RNA synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. Invest. Agropec., Ser. 2, Biol. Prod. veg.* 3 17—27 (1966); ref.: *Abstr. Mycol.* 1 608 (1967).
- WILLIAMS, S. T.: Sensitivity of *Streptomyces* to antibiotics as a taxonomic character. *J. gen. Microbiol.* 46 151—160 (1967).
- ZIEGLER, H.: Untersuchungen über die Wirkung von Griseofulvin auf *Microsporon canis*. *Mykosen* 4 19—29 (1961).

Anschrift der Verf.: Dr. CHRISTINA SCHÖNBORN, Hautklinik der Karl-Marx-Universität Leipzig, Mykologische Abteilung, 701 Leipzig, Liebigstraße 21