

## Histologischer Aufbau der „asteroid forms“ von *Coccidioides immitis*

G. BADER\*

Prosektur des Bezirkskrankenhauses Rostock-Südstadt (Chefarzt: Dr. med. habil. G. Bader)

Eingegangen am 26. September 1969

### *Histologic Structure of Asteroid Forms in Coccidioides Immitis*

**Summary.** Asteroid forms can be seen in spherules and free spores of *Coccidioides immitis*. This special perifungal substance has the same shape and similar histochemical properties like those of *Actinomycetaceae* and subcutaneous *Phycomycosis* (more see later: Bader *et al.*). Capsules of *Cryptococcus neoformans* and of spores of *Rhinosporidium seeberi* have a different histochemical composition. It is evident that asteroid bodies are the histologic structure of antigen-antibody reactions. The spore of *Coccidioides immitis* has the most antigenic property. When asteroid bodies are found the questions raised in the pathologic diagnose are: a) what species of fungi ? b) what is the immunoserologic situation of the patient ?

**Zusammenfassung.** Beschreibung der Morphogenese der „asteroid forms“ von *Coccidioides immitis*. Sie entstehen offenbar durch Antigen-Antikörperreaktionen, die besonders an reifenden Sporen ablaufen. Hinweise auf Gesichtspunkte der klinisch-pathologischen Diagnostik.

Der Formencyclus von *Coccidioides immitis* ist gut bekannt: Spore → Trophocyt → Spherule → Spore (s. unter anderem Fiese, 1958; Huntington u. Mitarb., 1967; Bader und Rohde, 1969). Auf die Entwicklung von „asteroid forms“ bei der Coccidioidomykose wird von verschiedenen Autoren aufmerksam gemacht (Fiese, 1958; Huntington, 1968; Winn, 1956 u.a.). Ihre Entstehung soll in der folgenden Untersuchung genauer verfolgt werden.

### Material und Methoden

Für histologische Untersuchungen stand formolfixiertes Material von 5 Fällen einer chronischen Coccidioidomykose zur Verfügung mit granulomatöser Pneumonie und Leptomeningitis. Ferner wurde ein Coccidioidom untersucht. Die folgenden Befunde ergaben sich nach Ausführung zahlreicher histologischer Färbemethoden und histochemischer Reaktionen, über deren Ergebnisse später berichtet wird (Bader, 1970).

### Ergebnisse

Nachdem die Gewebsformen von *Coccidioides immitis* das Stadium der Endospore und des Trophocyt durchlaufen haben, beginnen sich nach amitotischer Kernteilung (Baker u. Mitarb., 1943; Emmons, 1942, 1959; O'Hern und Henry, 1956) kleine Präsporen zu entwickeln. Ihr Protoplast unterscheidet sich färberisch nicht sichtbar vom Cytoplasma der frühen Spherule (Abb. 1a). Erst nachdem sich runde um 5 µm große Sporenformen mit lichtoptisch klar abgrenzbarer Zellwand ausgebildet haben und die Spherule einen Durchmesser von etwa 30—50 µm erreicht hat, taucht auf der Oberfläche der Zellwand zahlreicher Sporangien ein

\* Herrn Prof. Dr. med. habil. W. Sandritter gewidmet anlässlich seines Besuchs in Rostock im September 1969.

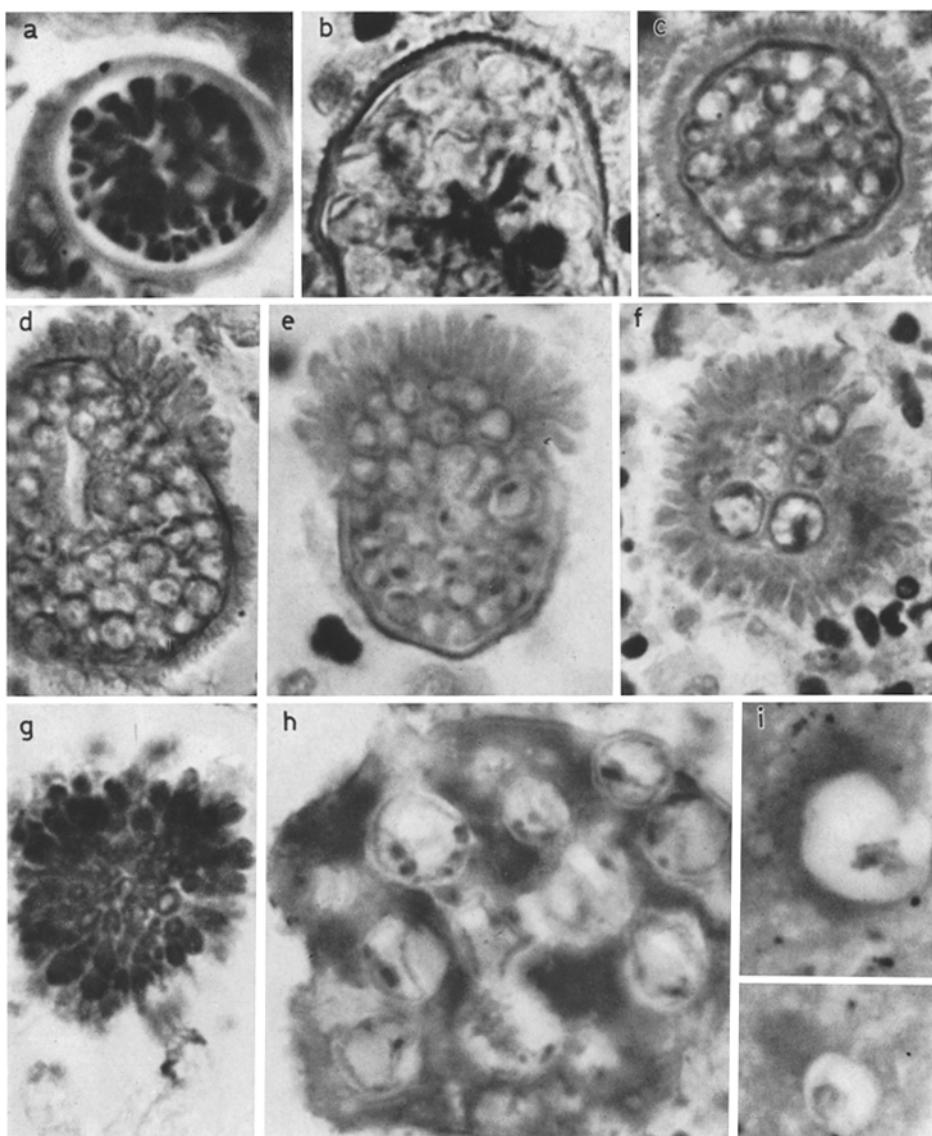


Abb. 1. a Junge Spherule in einer mehrkernigen Riesenzelle mit Präsporen. Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 1200fach. b Spherule mit größeren Sporen und Spiculabildung. Hale-Müller-Reaktion, Vergr. 1200fach. c Spherule mit einem deutlicheren Strahlenkranz. PAS-Hämatoxylin, Vergr. 800fach. d Reife Spherule mit kleinen Einrissen der Zellwand — hier recht kräftige „clubs“. PAS-Hämatoxylin, Vergr. 1200fach. e Spherule mit austretenden Sporen, die von einem breiten Strahlenkranz umgeben sind. PAS-Hämatoxylin, Vergr. 1200fach. f „Asteroid form“ mit emigrierten Sporen. Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 800fach. g Flachgeschnittener Strahlenkranz. Perameisensäure-Alzianblau, Vergr. 1200fach. h Junge Trophocytent mit einer homogenen eingedickten perifungalen Substanz. Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 1200fach. i Erreger in einem Coccidioidom mit verdichteter perifungaler Substanz. PAS, Vergr. 1200fach

zarter Strahlenkranz auf. Diese Spiculae, auch als „prickles“ (Fiese, 1958) bezeichnet, sind recht schmale, schlecht färbbare Gebilde von 1—3  $\mu\text{m}$  Länge — eine Verbindung mit dem Inneren der Spherule ist nicht zu sichern (Abb. 1 b). Die Spiculae werden zunehmend breiter und länger, sind aber nicht stets gleichförmig über die Oberfläche der Zellwand verteilt; oft findet man an ihrem Ansatz eine schlechter färbbare Zone (Abb. 1 c). Die kräftigsten 5 bis maximal 10  $\mu\text{m}$  langen „clubs“ entwickeln sich an der Rupturstelle des Sporangium (Abb. 1 d) und erreichen ihre optimale Größe in der Umgebung der Sporen (Abb. 1 e). „Asteroid bodies“ findet man noch häufig bei den ausgetretenen Sporen. In der Umgebung von jungen Trophozyten treten nicht selten ungeformte eingedickte perifungale Substanzen auf. Sie geben nicht mehr die entsprechenden histochemicalen Reaktionen der „clubs“ in den „asteroid forms“. Dennoch könnte es sich hier um Restmaterial eines Strahlenkranges handeln (Abb. 1 h). Verdichtungen des Exsudats mit besonderem färberischen Verhalten findet man auch in der Umgebung der Erreger im Coccidioidom (Abb. 1 i).

Hervorgehoben werden muß, daß „asteroid forms“ von *Coccidioides immitis* nur bei chronischen Infektionen sowohl in Granulomen als auch in käsigen Nekrosen anzutreffen sind, dabei aber keinen regelmäßigen Befund darstellen.

### Diskussion

„Asteroid forms“ sind bei verschiedenen Mikroorganismen bekannt, so bei *Actinomyces* und *Nocardia*, bei *Sporotrichum schenckii* und bei *Coccidioides immitis*. Es handelt sich dabei um eine besonders geformte perifungale Substanz nach Art eines Strahlenkranges. Die keulenförmigen Vorsprünge („clubs“) bestehen histochemisch aus einem Gemisch von reichlich (wirtseigenen) Eiweißkörpern und von deutlich PAS-positiven (wenigstens teilweise erregereigenen) Polysacchariden. Nur gelegentlich werden diese perifungalen Substanzen für eine einfache Exsudatablagerung gehalten (Grumbach, 1958; Peabody und Seabury, 1957; Symmers, 1966 u.a.). „Asteroid forms“ sprechen vielmehr zusammen mit der Beobachtung, daß sich beispielsweise *Actinomyces*-Drüsen nur unter Anwesenheit lebenden Gewebes (auch in Serum- und Blutkulturen) entwickeln können, für eine besondere Struktur im Ablauf von Antigen-Antikörperreaktionen (Bader, 1965; Bayne-Jones, 1925; Huntington, 1968; Moore, 1946; Simpson, 1947; Waksman, 1957; Wright, 1905). Für diese Deutung spricht, daß „asteroid forms“ nur bei chronischen Infektionen auftauchen. Tierexperimentell erscheinen sie zeitlich gemeinsam mit nachweisbaren Antikörpern. Auch unstrukturierte perifungale Substanzen können einen gleichartigen histochemicalen Aufbau haben, wobei in der Umgebung der Erreger subcutaner Phycomykosen eine Anreicherung von Human- $\gamma$ -globulinen festgestellt wurde (Bader und Grueber, 1970). Es ist aber fraglich, ob andere Exsudatverdichtungen um Erreger (beispielsweise im Coccidioidom — s. Abb. 1 i) ihre Entstehung ebenfalls derartigen Vorgängen verdanken.

Die Morphogenese der „asteroid forms“ spricht für die Annahme, daß die sich entwickelnden Sporen den stärksten antigenen Reiz ausüben. Diese Vermutung wird durch die Beobachtung von Friedman u. Mitarb., 1956; Kong und Levine, 1967 bestätigt, die in den Endosporen die virulenteste Gewebsform fanden. Kaplan, 1967. sah die stärkste Aufladung von fluoreszierenden Immunglobulinen im Gewebsmaterial an den Endosporen. In gleicher Weise spricht für diese Deutung

die bereits von Orphüls beschriebene Leukotaxis dieser Gewebsform. Für die klinisch-pathologische Diagnostik ist bemerkenswert, daß „asteroid forms“ offensichtlich eine chronische Infektion ausweisen. Auch hat diese Gewebsform Bedeutung für die histologische Artdiagnostik von Mykosen (weiteres s. Bader und Rohde, 1969).

Diese Arbeit verdankt ihr Entstehen der ehrenamtlichen Tätigkeit von Fr. G. Bader, med.-techn. Ass.

### Literatur

- Bader, G.: Die viszeralen Mykosen. Pathologie, Klinik und Therapie. Jena: VEB G. Fischer 1965.  
 — Histochemische Untersuchungen perifungaler Substanzen von Gewebsformen pathogener Pilzarten. (In Vorbereitung.)  
 — Grueber, H. L. E.: Histochemical studies of tissue form in subcutaneous phycomycosis. Path. Mikrobiol. (im Druck).  
 — Rohde, E.: Probleme der histologischen Artdiagnose sproßzellartiger Gewebsformen verschiedener pathogener Pilzarten. Zbl. allg. Path. path. Anat. (im Druck).  
 Bayne-Jones, S.: Club-formation by actinomycetes hominis in glucose broth with note on *B. actinomycetum comitans*. J. Bact. **10**, 569 (1925).  
 Emmons, C. W.: Fungus nuclei in the diagnosis of mycosis. Mycologia **51**, 227 (1959).  
 Fiese, M. J.: Coccidioidomycosis. Springfield/Jll.: Ch. C. Thomas 1958.  
 Friedman, L., Roessler, W. G., Berman, R. J., Grumbach, A.: The virulence and infectivity of 27 strains of *Coccidioides immitis*. Amer. J. Hyg. **64**, 198 (1956).  
 Grumbach, A.: Die Aktinomykose und Nocardiose. In: Die Infektionskrankheiten des Menschen. Stuttgart: G. Thieme 1958.  
 Huntington, R. W.: Persönl. Mitteil. 1968.  
 — Waldmann, W. J., Sargent, J. A., O'Connell, H., Wybel, R., Croll, D.: Pathologic and clinical observations on 142 cases of fatal coccidioidomycosis with necropsy. In: Coccidioidomycosis (ed. L. Ajello), Proc. 2. Coccidioidomycosis Symp. Phoenix/Ariz. Tucson/Ariz: University Press 1967.  
 Kaplan, W.: Application of the fluorescent antibody technique to the diagnosis and study of Coccidioidomycosis. In: Coccidioidomycosis (ed. L. Ajello), Proc. 2. Coccidioidomycosis Symp. Phoenix/Ariz. Tucson/Ariz.: University Press 1967.  
 Kong, Y. M., Levine, H. B.: Loss and recovery of virulence of arthrospores and spherule-endospores of *Coccidioides immitis* in live vaccines. In: Coccidioidomycosis (ed. L. Ajello), Proc. 2. Coccidioidomycosis Symp. Phoenix/Ariz. Tucson/Ariz.: University Press 1967.  
 Levine, H. B., Kong, Y. M., Smith, C. E.: Immunization of mice to *Coccidioides immitis*: dose, regimen and spherulation stage of killed spherule vaccines. J. Immunol. **94**, 132 (1965).  
 Moore, M.: Radiate formation on pathogenic fungi in human tissue. Arch. Path. **42**, 113 (1946).  
 O'Hern, E. M., Henry, B. S.: A cytological study of *Coccidioides immitis* by electron microscopy. J. Bact. **72**, 632 (1956).  
 Orphüls, W.: Coccidioidal granuloma. J. Amer. med. Ass. **45**, 1291 (1905).  
 Peabody, J. W., Seabury, J. H.: Actinomycosis and nocardiosis. J. chron. Dis. **5**, 374 (1957).  
 Simpson, F. W.: Sporotrichosis infection on mines of the Witwatersrand. A symposium (ed. Berman, C., J. W. Bowen, F. A. Brandt, R. Brown, M. A. F. Helm, F. W. Simpson and D. Weintraub). Cape Town (SAU): Cape Times Ltd. 1947.  
 Symmers, W. St. C.: Deep-seated fungal infections currently seen in the histopathologic service of a medical school laboratory in Britain. Amer. J. clin. Path. **46**, 514 (1966).  
 Waksman, S. A.: In Bergey's Manual for determinative bacteriology (ed. Breed, R. S., et al.), 7th ed. Baltimore: Williams Wilkins Co. 1957.  
 Winn, W. A.: Coccidioidomycosis. In: Diseases of the chest (ed. Hinslaw, H. C., and L. H. Garland), chap. 36. Philadelphia-London: Saunders 1956.  
 Wright, J. H.: The biology of the microorganisms of actinomycosis. J. med. Res. **13**, 349 (1905).

Dr. G. Bader  
 Prosektur des Bezirkskrankenhauses  
 X-25 Rostock-Südstadt