

The Rise of *Tropheryma whipplei*: a 12-Year Retrospective Study of PCR Diagnoses in Our Reference Center

Sophie Edouard, Florence Fenollar, Didier Raoult

J Clin Microbiol 2012; 50:3917-3920.

Einleitung

Der Morbus Whipple (MW) ist eine seltene systemische Infektionskrankheit verursacht durch den Actinomyzeten *Tropheryma whipplei*. Der klassische Morbus Whipple wird diagnostiziert mit charakteristischen PAS-positiven Makrophagen in der Duodenalbiopsie. Die typischen klinischen Manifestationen umfassen Gelenksbeschwerden, Gewichtsverlust, Malabsorption und chronische Diarrhoe. Zusätzlich können ZNS, Herz, Lunge, Auge und Haut beim klassischen MW betroffen sein. Lokalisierte Infektionen ohne Dünndarmbeteiligung sind ebenfalls bekannt und verursachen ZNS-Infektion, Pneumonie, Endokarditis, Uveitis und Spondylodiszitis. Zusätzlich kann *T. whipplei* auch Gastroenteritis bei Kindern verursachen. Asymptomatisches Trägertum mit Nachweis von *T. whipplei*-DNA aus Stuhl- und Speichelproben ist gut bekannt. *T.w.*-DNA findet sich in 1-11% von Stuhlproben der erwachsenen Bevölkerung in Europa.

1992 wurde der Erreger des MW mit Hilfe der eubakteriellen PCR molekular identifiziert; im Jahr 2000 wurde *T. whipplei* erstmals kultiviert und anschliessend das ganze Genom sequenziert. Dies führte zur Entwicklung neuartiger, sensitiver real-time PCR zum Nachweis von *T. whipplei* DNA. Ziel der Studie ist die retrospektive Analyse des Einsatzes der PCR im Referenzlabor zur Diagnose des MW in Marseille.

Material und Methoden

Klinische Proben wurden von Januar 2000 bis Dezember 2011 aus Frankreich und anderen Ländern untersucht.

Verwendete PCR Methoden:

Von Januar 2000 bis Oktober 2001: konventionelle PCR

Von November 2001 bis Dezember 2011: real-time PCR auf LightCycler Gerät (Roche Diagnostics)

Von Januar bis Dezember 2011: real-time PCR auf CFX96 Gerät (Bio-Rad).

Die DNA wurde mit dem QIAamp DNA Kit extrahiert.

Es wurden mit der PCR immer 2 verschiedene Targets des *T. whipplei* Genoms nachgewiesen: 16S-23S intergenic spacer oder Teil des *rpoB* Gens oder spezifische Mehrfachsequenzen.

Definition einer positiven Falles: Nachweis von 2 positiven PCR Befunden in Tests, die 2 DNA Targets detektieren. Ein Teil des humanen Actin-Gens wurde als Extraktionskontrolle eingesetzt.

Zur statistischen Auswertung wurde der Student T-Test, der X^2 -Test oder der Pearson Korrelationstest verwendet.

Resultate

Insgesamt wurden von 2000 bis 2011 27 923 Proben von 15 473 Patienten untersucht; davon waren 1241 (4.44%) der Proben von 717 (4.63%) der Patienten *T. whipplei*-DNA positiv.

Der durchschnittliche Prozentsatz positiver Proben pro Jahr (Patienten) betrug 4.09% (4.16%). 38.7% der Proben stammten aus der Region Marseille, 58.4% aus dem restlichen Frankreich und 2.9% aus dem Ausland. Die Art der Proben hat sich während diesen Jahren aufgrund der neuen Erkenntnisse über den Erreger und entsprechender Diagnostikrichtlinien ständig verbreitert (Stuhl

und Speichelproben, resp. Hautproben, siehe Tabelle 1). Am häufigsten wurde Blut (21%), Stuhl (19%), Speichel (15%), Lymphknoten (9%) und Duodenalbiopsien (8%) untersucht. Hautbiopsien (15.4%) und Stuhlproben (10.1%) gefolgt von Duodenalbiopsien (7.2%) waren am häufigsten PCR positiv.

Diskussion

Die Autoren schlagen einen Algorithmus zur Diagnose des MW vor (siehe Abbildung 1). Weitere Labormethoden zusätzlich zur real-time PCR, die bei diesem Ablauf verwendet werden: Western Blot zur Unterscheidung von asymptomatischem Trägertum/MW, PAS Färbung und Immunohistochemie bei Duodenalbiopsien, sowie Histologie bei Proben mit Verdacht auf eine lokale Infektion wie z.B. Herzklappen, Gelenksbiopsien, Liquor und Lymphknoten.

Die diagnostische real-time PCR mit Nachweis von 2 verschiedenen DNA-Targets mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen und Kontrollen wird seit Jahren routinemässig durchgeführt und erlaubt den Nachweis von T.w. DNA aus nicht invasiven Materialien wie Speichel und Stuhl.

Obwohl die Anzahl der diagnostizierten MW Fälle signifikant anstiegen, blieb der Anteil positiver Diagnosen verglichen mit der Anzahl Proben, resp. Patienten gleich. Die Entwicklung verbesserter Nachweismethoden (wie z.B. *T. whipplei*-spezifische real-time PCR) hat in den letzten Jahren beträchtlich zu neuen Erkenntnissen über die Erkrankung und den Erreger und entsprechend zu einer verlässlicheren Diagnose geführt.

Bemerkungen

- Eindrückliche Zunahme (30x) der Anzahl untersuchter Proben und verschiedenster Probenarten in diesem Referenzzentrum
- Neuartige Methoden zur Unterscheidung Trägertum / Klassischer MW: PCR von Hautstanz-Probe und Western-Blot nur auf limitierter Datenbasis.