

CAT

Critically Appraised Topic

***Tropheryma whipplei*: literatuuroverzicht, epidemiologie en optimalisatie van diagnostische uitwerking van een zeldzame ziekteverwekker**

Author: Ann-Sophie Jacob

Supervisor: Dr. Lien Cattoir

Date: 20/06/2023

CLINICAL BOTTOM LINE

Aangezien de symptomen van de ziekte van Whipple vaak aspecifiek zijn en de ziekte zeldzaam is verloopt de diagnostiek vaak moeilijk. Op basis van de beschikbare literatuur werd een diagnostische flowchart opgesteld voor zowel de klassieke vorm van de ziekte als de chronisch gelokaliseerde vorm. Voor het diagnosticeren van de klassieke vorm van de ziekte dient er eerst een PCR-test te gebeuren op een faecesstaal. Indien dit resultaat negatief is, is het onwaarschijnlijk dat de patiënt zich presenteert met de klassieke vorm van de ziekte. Bij een positief resultaat moeten duodenumbiopsies genomen worden om de diagnose te bevestigen. Hierop gebeurt een PAS-kleuring en een PCR-test. Indien beide technieken positief zijn, is de diagnose van de ziekte van Whipple gesteld. Wanneer slechts één van beide technieken positief is, is er een tentatieve diagnose en kan de diagnostiek uitgevoerd worden op een nieuw staal. Indien beide technieken negatief zijn, is de diagnose onwaarschijnlijk. Bij de chronisch gelokaliseerde vorm van de ziekte dienen er idealiter stalen genomen te worden van de plaats die vermoedelijk geïnfecteerd is. Dit kunnen vochten en/of weefsels zijn. De verdere uitwerking van deze stalen gebeurt op dezelfde wijze als beschreven voor de duodenumbiopsies.

Een nieuw aanvraagformulier werd gecreëerd met als doel correcte informatie over het staaltype, vorige en/of bijkomende testresultaten en klinische gegevens te krijgen.

Zo kunnen wij als nationaal referentielaboratorium meer kennis vergaren omtrent de presentatie en diagnostiek van deze zeldzame bacteriële infectieziekte.

Verder werden de eigen data getoetst aan de literatuur.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

De ziekte van Whipple is een zeldzame ziekte die veroorzaakt wordt door een infectie met de bacterie *Tropheryma whipplei*. De literatuur omtrent de bacterie en de infectieziekte is beperkt en niet steeds eenduidig. De twee belangrijkste klinische presentaties van de ziekte van Whipple zijn de klassieke vorm en de chronisch gelokaliseerde vorm. De klassieke vorm van de ziekte komt het meest frequent voor. Het is een multisysteemaandoening gekarakteriseerd door artralgieën, gastro-intestinale ongemakken (diarree en buikpijn) en uitgesproken vermagering. In ernstigere gevallen van de klassieke vorm van ziekte van Whipple kunnen er ook neurologische klachten zijn. Bij de chronisch gelokaliseerde ziekte zijn de meest prominente symptomen van de klassieke ziekte (artralgieën en diarree) meestal afwezig, aangezien er geen systemische infectie is met *T. whipplei*. Endocarditis is de meest voorkomende gelokaliseerde infectie. De meeste patiënten presenteren zich met aspecifieke symptomen waardoor de diagnostiek vaak moeilijk en traag verloopt. Als nationaal referentielaboratorium (NRL) voor *T. whipplei* in België willen we een leidraad opstellen om de doorsturende laboratoria te ondersteunen bij het stellen van de diagnose: testbeleid, geschikte staaltypes, interpretatie van resultaten, etc. Om deze te kunnen opstellen wordt een algemeen overzicht gegeven van deze bacterie. Op basis van de literatuurstudie wordt ook het nieuwe aanvraagformulier voor het NRL opgesteld. Door het verzamelen van extra klinische informatie hopen we meer inzicht te krijgen in de ziekte en het diagnostisch proces verder te optimaliseren. Bijkomend worden de eigen data retrospectief verwerkt om een zicht te krijgen op de epidemiologie in België en de karakteristieken van de positieve patiënten. Beiden worden getoetst aan de literatuur.

QUESTION(S)

- 1) Wat is een goede diagnostische workflow voor het opsporen van de ziekte van Whipple?
- 2) Welke informatie moet het nieuwe aanvraagformulier voor *T. whipplei* bevatten?
- 3) Presentatie van de eigen epidemiologische data en karakteristieken van de patiënten, en toetsing aan de literatuur.

APPRAISAL

Literatuurstudie

Achtergrond

De ziekte van Whipple, voor het eerst beschreven door George Hoyt Whipple in 1907, is een multisystemische chronische infectieziekte.¹ De klinische presentatie van de eerste casus werd door hem beschreven als 'geleidelijk verlies van gewicht en kracht, ontlasting die voornamelijk bestaat uit neutraal vet en vetzuren, vage buikklachten en een eigenaardige multipale artritis'.² Aanvankelijk werd niet gedacht dat een micro-organisme de oorzaak was van de ziekte van de patiënt. Whipple beschouwde de waargenomen intestinale lipodystrofie als een gevolg van een verstoord vetmetabolisme.³ De ziekte werd in 1949 omgedoopt tot de 'ziekte van Whipple' nadat onderzoek aantoonde dat intestinale lipodystrofie eerder een complicatie is dan de oorzaak van de ziekte.⁴ In 1952 werd de eerste antibioticabehandeling voorgeschreven aan een patiënt met de ziekte. Aangezien deze succesvol was, werd verondersteld dat een bacterie de verwekker zou kunnen zijn.

De eerste beschrijving van dit micro-organisme was "zilverkleurig staafvormig" en het werd voor het eerst gezien in de vacuolen van macrofagen van getroffen patiënten.

Authors	Date	Advance	Ref.
Whipple	1907	First description of an unknown disease	[19]
Olivier-Pascual <i>et al.</i>	1947	First diagnosis before the death of a patient	[21]
Black-Schaffer	1949	Development of periodic acid-Schiff staining for diagnosis	[20]
Paulley	1952	First reported efficacy of antibiotic treatment	[32]
Chears and Ashworth, Yardley and Hendrix	1961	Detection of bacteria in macrophages from patients by electron microscopy	[34,35]
Wilson <i>et al.</i>	1991	Partial sequencing of the 16S rRNA of an unknown bacterium	[36]
Relman <i>et al.</i>	1992	Confirmation and extension of the 16S rRNA sequence	[37]
Rickman <i>et al.</i>	1995	First report of localized infection without histologic digestive involvement	[22]
Louis <i>et al.</i>	1996	Localized uveitis	[23]
Goldenberger <i>et al.</i>	1997	Certain localized encephalitis	[25]
		Localized endocarditis	[25]
Ehrbar <i>et al.</i>	1999	First detection in specimens from healthy individuals	[9]
Street <i>et al.</i>	1999	Duodenal biopsies and gastric fluids	[42]
		Saliva specimens	[42]
Raoult <i>et al.</i>	2000	First cultivation of the bacterium	[38]
La Scola <i>et al.</i>	2001	First phenotypic characterization and naming of the bacterium: <i>Tropheryma whipplei</i>	[39]
Maibach <i>et al.</i>	2002	Detection of healthy carriage in stool specimens	[11]
Bentley <i>et al.</i>	2003	Full sequencing of two genomes from two different strains of <i>T. whipplei</i>	[40]
Raoult <i>et al.</i>	2003		[41]
Raoult <i>et al.</i>	2010	First report of acute infections	[5]
Fenollar <i>et al.</i>	2010	Gastroenteritis	[4]
		Bacteremia	[4]

Keita AK, Raoult D, Fenollar F. *Tropheryma whipplei* as a commensal bacterium. *Future Microbiol* 2013; **8**: 57–71.

In 1991 konden specifieke 16S rRNA-segmenten met behulp van PCR geamplificeerd worden. Het is op dat moment dat de bacterie *Tropheryma whippelii* werd genoemd, waarbij het woord *trophe* Grieks is voor voeding en *eryma* voor barrière, aangezien de ziekte voor malabsorptie zorgt. In 2001 kreeg de bacterie de officiële naam *Tropheryma whipplei*.⁵⁻⁸

Bacteriologie

T. whipplei is een grampositieve, staafvormige bacterie behorend tot de familie van actinomyceten, die pas in 1997 voor het eerst in kweek gebracht kon worden.³ Tot dan was het moeilijk om karakteristieken van de ziekteverwekker in kaart te brengen. Aangezien de bacterie deficiënties heeft in de biosynthese van aminozuren is een levende eukaryote gastheercel of substitutie van deze aminozuren nodig om *T. whipplei* in cultuur te brengen.⁹ De eerste in vitro experimenten toonden een zeer lange verdubbelingstijd van ongeveer 18 dagen.^{8,10} Uit andere studies bleek dat de gemiddelde



Figure 1: Morphology of *Tropheryma whipplei* as visualised by electron microscopy

Electron microscopic view of *T whipplei*. The characteristic, rod-shaped (0.25 × 2 µm) organism is found typically in macrophages of the lamina propria of the small intestine. It can be observed in the extracellular space in florid disease or within cells in various stages of degradation. *T whipplei* shows a trilaminar plasma membrane, a surrounding homogeneous cell wall, and an outer trilaminar membrane-like structure (magnification ×20 000).

Marth T, Moos V, Müller C, Biagi F, Schneider T. *Tropheryma whipplei* infection and Whipple's disease. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: e13-22.

tijd om *T. whipplei* te kweken 30 dagen bedraagt, wat routinematige, kweek-gebaseerde detectiemethoden extreem bemoeilijkt. Een bijkomende belemmering van cultuur is dat er vaak overgroei is van andere darmbacteriën. Deze eigenschappen maken het praktisch onmogelijk om de aanwezigheid van *T. whipplei* in een patiëntenstaal louter met kweek vast te stellen. In fylogenetische studies werd gevonden dat de bacterie gram-positief is, maar met gramkleuring vaak als gram-variabel waargenomen wordt.⁵ Elektronenmicroscopie werd toegepast om aan te tonen hoe deze bacterie in het lichaam voorkomt. Er werd

gezien dat *T. whipplei* in twee verschillende vormen kan voorkomen: de eerste vorm is intracellulair, ingebed in de vacuolen van geïnfecteerde cellen en de tweede is een extracellulaire vorm waarbij de bacterie massieve aggregaten vormt in de extracellulaire matrix. Er wordt aangenomen dat deze laatste een slapende vorm is.⁵ Met behulp van moleculaire technieken zijn nu reeds meer dan 72 genotypes van deze bacterie geïdentificeerd, dewelke kunnen onderscheiden worden via sequencerig van vier hoogvariabele regio's in het genoom. De meest voorkomende types in Europa zijn type 1 en 3.^{3,11}

Klinisch beeld

De klinische presentatie van de ziekte van Whipple is niet eenduidig, een verscheidenheid aan symptomen wordt beschreven.

Er zijn vier gekende manifestaties van *T. whipplei*: (i) de klassieke ziekte van Whipple, (ii) de chronische gelokaliseerde infectie, (iii) acute infecties en (iv) dragerschap. Aangezien de ziekte van Whipple zeldzaam is, zijn er weinig studies die aangeven wat de verhouding van voorkomen is tussen de klassieke ziekte (i) en de chronisch gelokaliseerde infectie (ii). In een studie met 142 patiënten van het nationaal referentiecentrum van Frankrijk kwam de klassieke ziekte van Whipple voor bij ongeveer 85% en de gelokaliseerde ziekte bij ongeveer 15% van de patiënten.¹² De acute infecties (iii) zijn recent voor het eerst beschreven en er zijn nog te weinig data voorhanden om de incidentie hiervan te kunnen inschatten.

De klassieke ziekte (i) is een multisysteemaandoening gekarakteriseerd door artralgieën, gastro-intestinale ongemakken (diarree en buikpijn) en uitgesproken vermagering.¹ Aangezien deze symptomen aspecifiek zijn en ook kunnen passen bij talloze andere aandoeningen duurt het vaak lang voor de klassieke ziekte van Whipple gediagnosticeerd wordt.⁵

Gewrichtssymptomen treden vaak vroeg op in de ziekte en kunnen jaren voor de overige symptomen aanwezig zijn.^{13,14} Bij een eerste presentatie bij de arts is het dus mogelijk dat niet alle symptomen manifest aanwezig zijn.⁶ Gewrichtsklachten zoals artralgie en artritis worden gezien bij het merendeel van de patiënten (70-90%).^{10,15} De typische presentatie is een migrerende artralgie van de grote, perifere gewrichten (knie, enkel, pols). Dit heeft tot gevolg dat de ziekte van Whipple vaak eerst verkeerdelijk gediagnosticeerd wordt als een seronegatieve inflammatoire gewrichtsziekte zoals reumatoïde artritis. Dokter Whipple stelde ook vast dat de eerste symptomen van zijn patiënten 'artritis in verscheidene gewrichten' waren.^{5,6,15}

De gastro-intestinale symptomen treden vaak later op dan gewrichtsklachten maar zijn dan wel prominent. Zowel het duodenum, jejunum als ileum kunnen aangetast zijn alsook de maag, slokdarm en lever, maar dit is minder voorkomend. Intermittente diarree en een koliekachtige abdominale pijn komen respectievelijk voor bij 70-85% en 50-90% van de patiënten.^{10,15} Ook waterige diarree en steatorree kunnen voorkomen. Dit leidt tot malabsorptie en vermagering wat resulteert in vermoeidheid.^{5,6,15}

Andere symptomen zoals koorts, lymfadenopathieën en hyperpigmentatie werden gerapporteerd bij ongeveer 45% van de patiënten.^{10,15}

In ernstigere gevallen van de ziekte van Whipple kunnen er ook neurologische klachten zijn. Dit werd bij 10-40% van de patiënten met de klassieke ziekte gemeld. De incidentie van neuro-Whipple stijgt naargelang een patiënt langer geïnfecteerd is met de bacterie.¹⁶

De symptomen zijn afhankelijk van welk deel van het centraal zenuwstelsel wordt aangetast en kunnen variëren van abnormale bewegingen tot geheugenproblemen en coma. De aantasting van het centraal zenuwstelsel (CZS) kan ook asymptomatisch blijven.^{5,6}

Een tweede klinische presentatie is de gelokaliseerde, chronische infectie (ii). De meest prominente symptomen van de klassieke ziekte zoals artralgieën en diarree zijn hierbij meestal afwezig, aangezien er geen systemische infectie is met *T. whipplei*. Endocarditis is de meest voorkomende gelokaliseerde infectie. Het klinisch beeld past bij een subacute of chronische endocarditis, maar de culturen zullen uiteraard negatief blijven. Ook osteoarticulaire infecties en uveïtis zijn beschreven.⁵

Enkele acute infecties (iii) worden sinds kort gelinkt aan *T. whipplei*, waaronder gastro-enteritis, pneumonie of bacteriëmie.^{5,17-19} Er wordt aangenomen dat deze zelflimiterend zijn. Aangezien er over de acute infecties met hun verschillende presentaties slechts beperkte data voorhanden zijn, dient er verder onderzoek te gebeuren om de exacte rol van *T. whipplei* te bepalen.⁵

Incidentie

De ziekte van Whipple is een typisch Kaukasische ziekte die zeer zeldzaam is bij de autochtone Aziatische en Afrikaanse bevolking. Louter dragerschap van de bacterie is wel veelvoorkomend bij deze groepen.¹⁵ Initieel werd de prevalentie geschat op minder dan 1/1.000.000 mensen. Echter in 2015 rapporteerde een studie in Italië dat deze 3/1.000.000 personen zou zijn¹³ en een grote epidemiologische studie in de Verenigde Staten meldde dat de prevalentie nog hoger (10/1.000.000 personen) zou liggen.²⁰ Deze (ogenschijnlijke) toename is vermoedelijk te wijten aan de toenemende klinische kennis en vooruitgang in diagnostische technieken.³ De opmerking die bij de prevalentiestudies gemaakt dient te worden is dat er mogelijk een onderschatting is gezien de moeilijke diagnostiek en het feit dat sommige patiënten met de ziekte van Whipple foutief gediagnosticeerd worden met gastro-intestinale of reumatologische aandoeningen.

Meerdere recente studies hebben aangetoond dat de ziekte voornamelijk de mannelijke populatie treft^{16,21}, met een gemiddelde leeftijd bij diagnose van +/-50 jaar.^{16,21,22} Echter, een grote epidemiologische studie in de Verenigde Staten toonde een gelijke verdeling van de man-vrouw ratio bij de patiënten. Daarnaast werd de ziekte vooral vastgesteld bij patiënten ouder dan 50 jaar.²⁰

Dragerschap

Dragerschap van de bacterie werd voor het eerst beschreven door Dutly en Altwegg. Zij toonden aan dat *T. whipplei* met PCR gedetecteerd kan worden in maagvocht zonder dat de patiënten enig symptoom vertonen.¹⁵ Hoewel de incidentie van de ziekte van Whipple laag is, komt de bacterie wel wijdverspreid voor in de populatie.

Er wordt geschat dat in Europa 48% van de bevolking antistoffen heeft tegen de bacterie en de aanwezigheid van *T. whipplei* in stoelgang bij asymptomatische personen zou tussen de 1.5-11% liggen.^{23,24} Momenteel is geen verschil tussen mannen en vrouwen beschreven alsook geen verhoogd voorkomen bij een specifieke leeftijdscategorie. Dragerschap zou wel hoger zijn in specifieke populaties zoals rioolwerkers en daklozen. Zo kon een positief faecesstaal gevonden worden bij tot 25% van de rioolwerkers.²⁵ Ook bij landbouwers en andere mensen met frequente blootstelling aan de bodem of dieren was er een hogere prevalentie.²¹ Een andere studie toonde aan dat dragerschap in het speeksel van rioolwerkers tussen 0.2-2% lag en 3.7% bedroeg bij daklozen, en dat wanneer speekselstalen positief testten, faecesstalen normaliter ook positief waren.⁵

Sommige klonen van de bacterie circuleren in specifieke gemeenschappen, wat mens-op-mens overdracht suggereert. Familieleden van patiënten met de ziekte van Whipple hebben meer kans om drager te zijn van deze bacterie. Het is echter niet duidelijk of dit dragerschap gerelateerd is aan de overdracht van mens-op-mens of aan een gemeenschappelijke besmettingsbron. In een studie bij de familieleden van patiënten was respectievelijk 8 en 31% van de speeksel- en faecesstalen positief.^{5,23} Een andere studie analyseerde de stalen van familieleden van patiënten met bevestigd chronisch *T. whipplei* dragerschap. Hierbij werd evenzeer een hogere prevalentie gezien bij de familieleden: 8 op 10 personen met nauw contact met de chronische dragers waren zelf ook drager van de bacterie.²³ De vergelijkbare prevalentie van dit dragerschap bij genetisch en niet-genetisch verbonden gezinsleden doet vermoeden dat er geen genetische susceptibiliteit bestaat voor het krijgen van deze bacterie. De hypothese dat de mens het enige reservoir van de bacterie zou zijn wordt gesterkt door studies waarbij er geen *T. whipplei* werd gedetecteerd in de omgeving (stof) en in bepaalde dieren (vlooien, teken, apen).^{10,26} Zoals reeds beschreven wordt er wel een hogere prevalentie gevonden bij landbouwers en personen met blootstelling aan dieren. Een verklaring hiervoor ontbreekt momenteel en verder onderzoek naar dragerschap bij dieren zou helderheid kunnen brengen. Deze bacterie wordt wel massaal gevonden in riool- en afvalwater.^{27,28} Hieruit zou afgeleid kunnen worden dat de bacterie kan overleven in de omgeving waarbij de mens het reservoir kan zijn, maar ook ratten en andere dieren die in riolen aanwezig zijn komen in contact met dit water. Ook dit is een mogelijke dierlijke bron die verder onderzocht dient te worden.

Omwille van het voorkomen van asymptomatisch dragerschap van de bacterie moeten de resultaten van niet-invasieve stalen steeds met voorzichtigheid geïnterpreteerd worden en dient er verdere diagnostiek te gebeuren wanneer deze positief zijn.^{5,15}

Pathogenese

T. whipplei wordt opgenomen door macrofagen van de darmmucosa. In deze macrofagen kan de bacterie zich vermenigvuldigen. De ziekte van Whipple is uiterst zeldzaam, maar toch wordt *T. whipplei* beschouwd als een bacterie die sterk vertegenwoordigd is in de menselijke darmen. Zoals reeds aangehaald ontwikkelt slechts een klein percentage van de dragers ook effectief de ziekte van Whipple en de meeste personen vertonen asymptomatisch dragerschap. Dit is echter moeilijk eenduidig vast te stellen aangezien gastro-enteritis vaak geen uitgebreide diagnostiek vereist en zelflimiterend kan zijn. De diagnose van een (acute) Whipple-infectie kan dus over het hoofd gezien worden.⁵ Verder kan deze bacil ook op andere plaatsen in het lichaam voorkomen en ziekte veroorzaken, onder meer in lever, hart, longen en hersenen. Deze sites vertonen een gebrek aan inflammatoire respons bij het binnendringen van de bacterie.⁶ Vermoedelijk resulteert dit uit het feit dat de bacterie een dysregulatie van de mucosale T-helper cellen kan veroorzaken.^{3,29} In tegenstelling tot het dragerschap, dat niet gerelateerd zou zijn aan genetische voorbeschiktheid, wordt er geopperd dat er een specifieke genetische predispositie zou bestaan voor het ontwikkelen van de ziekte van Whipple. De oorsprong zou liggen in de HLA-genen (allelen DRB1*13 en DQB1*06) die interfereren met de presentatie van antigenen³⁰ of in een polymorfisme van andere genen zoals IL16. Een studie die de verhoogde vatbaarheid voor *T. whipplei* wou koppelen aan een specifiek polymorfisme in cytokine genen slaagde hier niet in, niettegenstaande dit in andere studies wel gesuggereerd werd. Dit is mogelijk te verklaren door de zeer complexe cytokinesystemen.²⁹ Verder zou ook immuunsuppressie een rol kunnen spelen in het ontwikkelen van de ziekte.

Antistoffen

Na het eerste contact met *T. whipplei*, vermoedelijk vanuit de omgeving of door mens-op-mens overdracht, ontwikkelen de meeste dragers een protectieve immuunrespons door de productie van specifieke antistoffen. Dit voorkomt dat de bacterie zich verder in het lichaam kan verspreiden of dit kan zelfs voor een volledige eliminatie van de bacterie uit het lichaam zorgen. Ondanks deze immuunreactie kan het dragerschap meerdere jaren aanhouden zonder ontwikkelen van een infectie.⁵ Studies die de serologie van patiënten met de ziekte van Whipple onderzochten toonden aan dat de klassieke humorale immuunrespons (IgG) hoger is bij asymptomatische dragers dan bij patiënten met de klassieke ziekte van Whipple. Dit paradoxaal resultaat kan het gevolg zijn van het inefficiënt klaren van de bacterie door patiënten, zoals hierboven beschreven.^{31,32} De rol van IgA antistoffen is nog onduidelijk. Een studie toonde aan dat patiënten hogere titers IgA antistoffen hadden dan asymptomatische dragers³², maar dit kon niet bevestigd worden in een andere studie die antistoffen bij patiënten met de klassieke ziekte van Whipple onderzocht.

Bijkomend onderzoek dient duidelijkheid te brengen over de rol van antistoffen in de ziekte van Whipple en of deze al dan niet bruikbaar kunnen zijn om te differentiëren tussen asymptomatisch dragerschap en infectie.

Diagnose

Klassieke ziekte van Whipple

Zoals reeds aangehaald zijn de symptomen van de klassieke vorm van de ziekte van Whipple vaak niet specifiek, kan er een lange periode zitten tussen deze eerste aspecifieke symptomen (artralgieën, gastro-intestinale ongemakken etc.) en het volledige ziektebeeld, en is het een zeldzame ziekte.¹⁶ Dit maakt het moeilijk voor artsen om de ziekte te diagnosticeren, waardoor dit vaak pas laattijdig gebeurt. De ziekte van Whipple zou bij deze aspecifieke symptomen dus steeds mee in de differentiaal diagnose genomen moeten worden, zeker wanneer intermitterende gewrichtspijn aanwezig is. Daarnaast bemoeilijkt het bestaan van asymptomatisch dragerschap de interpretatie van de resultaten zoals al eerder aangehaald werd.

De diagnose van de ziekte kan gesteld worden door het aantonen van de bacterie in verscheidene staaltypes. De staaltypes die het vaakst vermeld worden om de klassieke ziekte van Whipple vast te stellen zijn niet-invasieve stalen zoals faeces en speeksel, en duodenumbiopten. Deze kunnen geanalyseerd worden met PCR of PAS-kleuring. Dit zijn de routinemethoden om de kiem te detecteren, dewelke gecombineerd kunnen worden wanneer het weefsels of steriele vochten betreft. Dit zorgt voor een hogere specificiteit. Om reeds eerder vernoemde redenen wordt er niet systematisch geprobeerd om de bacterie te isoleren uit cultuur. Verder zou ook gastroscopie kunnen bijdragen aan de diagnose, aangezien het uitzicht van de duodenummucosa een richtinggevend macroscopisch beeld kan tonen.

PAS-kleuring

Intracellulaire bacteriën kunnen gevisualiseerd worden met een Perjoodzuur-Schiff (PAS) kleuring. Dit is een kleuring die gebruikt wordt in combinatie met diastase, een enzym dat glycogeen afbreekt. De individuele staafvormige bacteriën zullen zichtbaar worden in het cytoplasma van macrofagen en rood aankleuren.^{5,10} Ook andere bacteriën, mycobacteriën en fungi kunnen laesies met PAS-positieve macrofagen veroorzaken waarbij er nog bijkomende kleuringen moeten gebeuren om deze kiemen te differentiëren, zoals een Ziehl-Neelsen kleuring of gram-kleuring.^{10,33}

PCR

Vermits in het begin van 1990 de moleculaire analyse van het 16s rRNA mogelijk werd, kon de Whipple bacil gedetecteerd worden door PCR.^{10,33,34} Er zijn verschillende targets die gebruikt kunnen worden voor PCR. De eerste PCR's gebruikten het rRNA gen van de bacterie, waarbij veel vals positieve resultaten werden gezien.

De hypothese is dat ditzelfde rRNA gen bij andere kiemen voorkomt. Primers specifiek voor het 16S-23S ribosomale DNA ITS-gen en voor het 650 basenparen fragment van het rpoB gen zouden veel specifiek zijn.³⁵ Het nationaal referentiecentrum van Frankrijk vergeleek hun conventionele PCR zoals hierboven beschreven met een tweede, nieuwe PCR. Deze nieuwe ‘repeat’ PCR heeft als target 164 basenparen die zeven keer herhaald worden in het genoom van *T. whipplei*. Uit deze vergelijking bleek dat deze nieuwe ‘repeat’ PCR nog gevoeliger was de reguliere PCR.³⁶

De targets die gebruikt worden in ons ziekenhuis zijn een niet-coderende *repeat* en het 16S rRNA. De niet-coderende *repeat* komt zeven keer voor in het genoom van *Tropheryma whipplei* zoals hierboven beschreven, resulteert in een amplicon van 118 basenparen en is zeer specifiek voor deze bacterie. Andere *Tropheryma* species kunnen hier niet mee opgepikt worden, waardoor er gekozen werd voor de 16S sequentie als tweede target. Hierbij werd wel gezocht in die gebieden waar het verschil met de genetisch meest verwante organismen het grootst is. Dit bleken de eerste 104 basenparen van het 16S te zijn.

Staaltypes

Nagenoeg alle staaltes kunnen gebruikt worden om PCR op uit te voeren (biopsies, speeksel, faeces, vochten etc.). Het staaltype heeft een grote invloed op de performantie van de diagnostiek. Eén van de eerste studies die de PCR-methode gebruikte voor de detectie van *T. Whipplei* toonde aan dat biopsies van het jejunum veel gevoeliger zijn dan deze van het rectum voor het aantonen van de klassieke ziekte van Whipple.³⁴ Aangezien het vaak ingrijpend is om meteen invasieve stalen af te nemen, wordt er in de literatuur voorgesteld om eerst te testen op niet-invasieve stalen zoals speeksel en stoelgang. De bacteriële load zou veel hoger zijn bij patiënten met de ziekte van Whipple dan bij mensen die louter drager zijn van de bacterie. In een studie van het Franse referentiecentrum werd gezien dat de diagnose van de ziekte van Whipple zeker overwogen moet worden wanneer speeksel of stoelgang positief test. Speeksel lijkt hier echter wel slechts een beperkte meerwaarde te hebben aangezien faeces bij 92% van de patiënten reeds positief was. Dit testbeleid geldt louter voor de klassieke ziekte van Whipple. Omgekeerd lijkt een klassieke presentatie van Whipple onwaarschijnlijk als zowel speeksel als stoelgang negatief testen. Slechts 6% van de patiënten zou niet opgepikt worden wanneer beide staaltes getest worden.³⁷

Table 3. Data for saliva and stool specimens obtained from patients with classic Whipple disease (WD), patients with localized infection due to *Tropheryma whipplei*, and patients who received an excluded diagnosis of WD.

Clinical context	Specimen type, no. of positive specimens/no. of tested specimens (%)		
	Saliva	Stool	Saliva or stool
Classic WD	22/34 (65)	23/25 (92)	30/32 (94)
Localized infection	4/11 (36)	7/11 (64)	7/12 (58)
Endocarditis	1/4 (25)	1/3 (33)	1/4 (25)
Neurologic infection	1/2 (50)	2/3 (67)	2/3 (67)
Uveitis	1/2 (50)	2/2 (100)	2/2 (100)
Adenopathy	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)
Pulmonary infection	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
Knee prosthesis infection	0/1 (0)	1/1 (100)	1/1 (100)
Asymptomatic carriers	1/432 (0.2)	7/299 (2.3)	7/740 (0.9)

Fenollar F, Laouira S, Lepidi H, Rolain JM, Raoult D. Value of *Tropheryma whipplei* quantitative polymerase chain reaction assay for the diagnosis of Whipple disease: Usefulness of saliva and stool specimens for first-line screening. *Clinical Infectious Diseases* 2008; **47**: 659–67.

Bij asymptomatische dragers was slechts 0.2% van de speekselstalen positief. Ook faecesstalen werden zelden positief getest bij deze populatie (2.3%), wat binnen de incidentie ligt die aangehaald wordt in de literatuur.^{12,37} Het stellen van een diagnose van de ziekte van Whipple met PCR moet dus steeds met voorzichtigheid gebeuren, aangezien positieve PCR-resultaten van faeces en speeksel gevonden worden bij gezonde vrijwilligers.³⁵

Er wordt vermoed dat bij asymptomatisch dragerschap een lagere bacteriële load in faeces aanwezig is dan bij de ziekte van Whipple en de *cycle threshold* (CT)-waarde hoger is. Een *cut-off* van de CT-waarde opstellen om te kunnen differentiëren tussen deze twee ziektepresentaties zou nuttig zijn om verdere diagnostiek te vergemakkelijken.³⁸ Om deze *cut-off* vast te stellen is momenteel echter onvoldoende literatuur beschikbaar.

Een recente studie onderzocht urine als mogelijk staaltype voor het vaststellen van de ziekte van Whipple. Wanneer de urine werd geanalyseerd met PCR bleek deze bij 9 van de 12 geïnfecteerde patiënten positief (gedefinieerd als twee andere positieve stalen aangetoond met PCR, immunohistochemie (IHC) of PAS-kleuring). In de controlegroepen (een groep waarbij de ziekte van Whipple eerst vermoed werd, een groep met acute gastro-enteritis en een groep van gezonde vrijwilligers) werden alle stalen correct negatief getest, terwijl er wel enkele stoelgangsstalen van deze patiënten positief waren. Deze studie besloot dat urine een veelbelovend staaltype kan zijn voor de diagnose van *T. whipplei*, mits bevestiging in andere studies.³⁹ De meerwaarde van urine als staaltype dient zeker verder onderzocht te worden, niettegenstaande deze studie enkele beperkingen had. Zo werd in de controlegroep bij de patiënten met een acute gastro-enteritis de ziekte van Whipple niet uitgesloten en faecesstalen werden in deze groep wel positief getest. Aangezien recent gastro-enteritis als een acute presentatie van de ziekte van Whipple beschreven werd, zal verder onderzoek nodig zijn om dit te verduidelijken.

Performantie PAS kleuring versus PCR

Het vergelijken van de performantie van PAS-kleuring en PCR is moeilijk aangezien er geen strikte diagnostische criteria zijn voor de ziekte van Whipple. De inclusiecriteria voor 'patiënten met de ziekte van Whipple' verschillen sterk tussen studies, waardoor het moeilijk is eenduidige conclusies te trekken uit de literatuur. Hieronder wordt een overzicht gegeven van de grote studies die beide technieken vergeleken.

De eerste studie betreft patiënten die gediagnosticeerd werden met de ziekte van Whipple door gebruik te maken van twee onafhankelijke technieken (PAS-kleuring, PCR of IHC). Een sterk positieve PAS-kleuring (intens positieve cytoplasmatische insluitels) werd gezien bij 88% van de patiënten (n = 168), wat in sommige gevallen bevestigd werd door een *T. whipplei*-specifieke IHC.

Bij 91% van de patiënten (n = 173) was er een positieve PAS-kleuring (geen korrelige insluitsels, louter diffuus zwak positief materiaal), wat een duidelijke hint was naar de diagnose. PCR werd niet op alle dundermbiopsies uitgevoerd, maar 91% van de uitgevoerde PCR's (n = 91) toonden een positief resultaat. Deze studie besluit dat zowel PAS-kleuring als PCR een hoge sensitiviteit hebben.^{16,40}

Ook Crews et al vergeleken de PAS-kleuring met PCR. Zij includeerden patiënten die gediagnosticeerd waren met de ziekte van Whipple door een positieve PAS-kleuring of door een positief PCR-resultaat. Er werd een zeer goede sensitiviteit gezien voor PCR (92%) en een goede sensitiviteit voor PAS-kleuring (86%).⁴¹

Table 3. Diagnostic Test Yields Differ by Classic vs Localized Whipple Disease

	Classic WD (n = 18), No. Positive/ No. Tested (%)	Localized WD Arthritis (n = 9), No. Positive/No. Tested (%)	Localized CNS WD (n = 6), No. Positive/No. Tested (%)	PValue
Small bowel biopsy PAS stain*	13/15 (86)	1/8 (12)	1/6 (17)	<.001*
Small bowel biopsy PCR	12/13 (92)	3/7 (42)	2/5 (40)	.018*
Synovial fluid PCR	3/3 (100)	6/7 (85)	0/0 (0)	.35
Cerebrospinal fluid PCR	1/4 (25)	0/2 (0)	5/5 (100)	.009*
Blood PCR	7/12 (58)	2/6 (33)	1/2 (50)	.69
Other PCR*	4/5 (80)	0/0 (0)	1/1 (100)	.52

Abbreviations: CNS, central nervous system; PAS, Periodic acid-Schiff; PCR, polymerase chain reaction; WD, Whipple disease.

*P value considered significant if <.05.

*Other PCR included 2 vitreous aqueous humor fluid PCRs (1 negative and 1 positive), 1 lymph node tissue specimen PCR (positive), and 1 arterial thrombus surgical pathology specimen PCR (positive).

Crews NR, Cawcutt KA, Pritt BS, Patel R, Virk A. Diagnostic approach for classic compared with localized whipple disease. *Open Forum Infect Dis* 2018; 5.

PCR zou een gevoeliger methode zijn dan de PAS-kleuring bij patiënten die reeds antibiotica genomen hebben (respectievelijk nog 71% en 29% positief).³⁴ Een recente review uit The Lancet ondersteunde de hypothese dat PCR een nuttige diagnostische techniek is, maar dat deze steeds door een tweede techniek (PAS of immuunhistochemie) bevestigd moet worden.¹⁰

Gastroscopie

Het macroscopisch uitzicht van de dunne darm bij gastroscopie zou gedilateerde villi, extatische lymfevaten, oedemen en duodenitis tonen. Deze afwijkingen zijn echter niet specifiek.^{3,10,16}

Een recente studie stelde vast dat bij slechts 26% van de patiënten de macroscopie van het duodenum, bekeken met gastroscopie, verdacht was voor een Whipple-infectie.



FIGURE 2. Macroscopic appearance of the duodenum at diagnostic endoscopy. (A) Characteristic but rare macroscopic appearance of the duodenal mucosa of a heavily affected case with clumpy and dilated villi with ecstatic lymph vessels that are extensively infiltrated with macrophages. (B) Discrete macroscopic appearance with whitened villus tips. (C) Duodenal mucosa with signs of a duodenitis. (D) Reddened villus tips as the only macroscopic abnormality. (E) Reddened and swollen appearance of the villi. (F) Aphthous ulcerations as hint of gastrointestinal affection.

Günther U, Moos V, Offenmüller G, et al. Gastrointestinal diagnosis of classical whipple disease: Clinical, endoscopic, and histopathologic features in 191 patients. *Medicine (United States)* 2015; 94.

De uiteindelijke diagnose van de klassieke presentatie van de ziekte van Whipple werd gesteld aan de hand van een positief staal bevestigd met twee onafhankelijke methodes.¹⁶

Immuunhistochemie

Een immuunhistochemische kleuring met antistoffen tegen *T. whipplei* kan bijkomende informatie geven in situaties waar de diagnose onduidelijk is.³ Een studie die de PAS-kleuring met IHC vergeleek vond een zeer goede sensitiviteit van de IHC analyse, waarbij deze kleuring zelfs positief was bij een negatieve PAS-kleuring.^{5,42}

Over het algemeen is IHC, wanneer het adequaat uitgevoerd wordt, een zeer betrouwbare techniek met een hoge specificiteit.⁴³ Er moeten echter wel specifieke antilichamen voorhanden zijn, wat deze techniek duur maakt. Aangezien de ziekte van Whipple zeldzaam is, worden deze antilichamen vaak niet aangekocht.

Serologie

Western-blot technieken om IgG op te sporen gericht tegen *T. whipplei* worden sporadisch gebruikt.¹⁴ Zoals reeds aangehaald worden hogere titers IgG antistoffen gevonden bij asymptomatische dragers dan bij patiënten die de klassieke ziekte van Whipple hebben. Hogere titers van IgA antistoffen zouden gevonden worden bij patiënten, hoewel dit niet steeds bevestigd wordt. Serologie zou dus mogelijk een plaats hebben in het bevestigen van asymptomatisch dragerschap van de ziekte van Whipple.³² Verdere studies dienen opgezet te worden om een titer vast te leggen van IgG en IgA antistoffen als hulpmiddel om te differentiëren tussen dragers en patiënten met de klassieke ziekte van Whipple.

FISH

FISH is bruikbaar voor het aantonen van bacteriën die niet gekweekt kunnen worden in hun natuurlijke omgeving. Het doelwit van deze probes zijn de ribosomen die in dode bacteriën snel worden afgebroken. Bij patiënten onder behandeling zal een duodenumbiopsie dus snel negativeren wanneer het geanalyseerd wordt met FISH, in tegenstelling tot een analyse met de PAS-kleuring. Deze zal onder behandeling langer positief blijven aangezien ook dode bacteriën nog gevisualiseerd worden. Deze techniek is nuttig om de aanwezigheid van *T. whipplei* op te sporen en te bevestigen⁵ maar is echter zeer arbeidsintensief en hierdoor minder frequent gebruikt.⁴⁴

Neuro-whipple

Om neuro-Whipple vast te stellen is onderzoek van cerebrospinaal vocht (CSV) noodzakelijk. Dit dient te gebeuren wanneer er klinisch een vermoeden is van aantasting van het centraal zenuwstelsel bij patiënten waarbij de klassieke vorm van de ziekte van Whipple vastgesteld is. Bij deze patiënten is er een lage tot matige pleocytose in het lumbaal vocht (5-100 witte bloedcellen/ μ L), bestaande uit lymfocyten en monocyten/macrofagen.

Het eiwitgehalte kan verhoogd zijn en ook oligoklonale banden kunnen aanwezig zijn. Bij patiënten die nog niet behandeld zijn, test het CSV positief voor *T. whipplei* met een PCR-test.⁶

Gelokaliseerde ziekte van Whipple

De diagnose van de gelokaliseerde ziekte van Whipple kan met dezelfde technieken als hierboven beschreven gesteld worden. Biopsies of vochten dienen genomen te worden van het vermoedelijk geïnficeerde orgaan. Deze kunnen vervolgens met PCR en PAS-kleuring en/of immunohistochemie onderzocht worden op de aanwezigheid van *T. whipplei*. Er is momenteel onvoldoende evidentie om het testen van niet-invasieve stalen op te nemen in de diagnostische *workflow*. De reeds besproken studie van Fenollar et al. (2008) gaf echter wel aan dat bij de chronisch gelokaliseerde vorm van de ziekte toch respectievelijk 64% en 36% van de patiënten een positief faeces- en speekselstaal hadden.³⁷ Het afnemen van invasieve stalen is niet altijd makkelijk en soms zelfs onmogelijk, waardoor er toch een meerwaarde van niet-invasieve staaltypes bij deze presentatie van de ziekte zou kunnen zijn. Bijkomend onderzoek dient dit verder op te helderen.

Preferentiële techniek en werkwijze

Er zijn weinig studies die technieken vergelijken om *T. whipplei* te diagnosticeren. Daarenboven betreft deze literatuur vaak kleine studies en is deze niet eenduidig. Op basis van het uitgevoerde literatuuronderzoek, waarbij verschillende reeds gepubliceerde werkwijzes als bron dienden, werd een flowchart opgesteld die richtinggevend kan zijn voor de diagnostiek bij de ziekte van Whipple. Hierin werd een *workflow* weerhouden met de staaltypes waarvoor er momenteel het meest evidentie is.

Door de complexiteit van de ziekte met zijn verschillende presentaties is het vaak moeilijk om te weten of en hoe er getest moet worden, welke staaltypes hier het meest geschikt voor zijn en hoe de diagnose van een klassieke/chronisch gelokaliseerde ziekte van Whipple gesteld wordt. Dit voorstel omvat zowel een flowchart voor de klassieke presentatie van de ziekte van Whipple als voor de gelokaliseerde vorm. De flowcharts dienen als leidraad maar zijn uiteraard niet limiterend. We hopen hiermee de diagnostiek bij de ziekte van Whipple te vereenvoudigen en de diagnosestelling meer gestructureerd te laten verlopen.

Flowchart klassieke ziekte van Whipple

Bij vermoeden van de klassieke ziekte van Whipple dient er steeds getest te worden met PCR op faeces. Indien het PCR-resultaat voor Whipple positief is, is er een sterk vermoeden van actieve klassieke ziekte en dient er een invasieve staalafname te gebeuren om de diagnose van de ziekte van Whipple te bevestigen en louter dragerschap uit te sluiten. Bij een negatief resultaat van het faecesstaal is het onwaarschijnlijk dat de patiënt zich presenteert met de klassieke vorm van de ziekte van Whipple.

Naast faeces worden in literatuur andere staaltypes naar voor geschoven. Momenteel is hier minder evidentie voor, maar aangezien deze vermoedelijk informatief kunnen zijn vragen we om steeds zowel een speeksel- als een urinestaal mee te sturen. Door deze staaltypes bijkomend te analyseren hopen we de exacte waarde hiervan uit te klaren en de positie ten opzichte van de huidige staaltypes te bepalen.

De invasieve staalafname bestaat uit het nemen van 3 tot 5 duodenumbipten die vervolgens geanalyseerd worden met PCR en waarop een PAS-kleuring gebeurt. Alvorens de PCR uit te voeren worden deze bipten gepoold om zo bemonsteringsfouten te minimaliseren. Wanneer met beide technieken *T. whipplei* aangetoond wordt in deze bipten, is de diagnose van de klassieke vorm van de ziekte van Whipple gesteld. Wanneer slechts één van de twee technieken een positief resultaat geeft, is er een tentatieve diagnose. Eventueel kan er een nieuw onafhankelijk staal afgenomen worden. Het is dan aan de behandelend arts om te beslissen of hij de patiënt al dan niet diagnosticeert en behandelt voor de ziekte. Hiertoe moeten ook andere diagnoses die dezelfde symptomen kunnen geven uitgesloten worden, aangezien een behandeling voor de ziekte van Whipple verregaande consequenties heeft zoals een langdurige antibioticatherapie, nevenwerkingen hieraan geassocieerd, etc.¹⁶ Wanneer de bipten met beide technieken negatief zijn, is de diagnose van de klassieke vorm van de ziekte van Whipple zo goed als uitgesloten.

Bij patiënten met het vermoeden van de klassieke vorm van de ziekte van Whipple die neurologische symptomen vertonen dient steeds een PCR op CSV te gebeuren om neuro-Whipple uit te sluiten.

Flowchart chronisch gelokaliseerde ziekte van Whipple

Bij de chronische gelokaliseerde vorm van de ziekte van Whipple is er normaliter geen betrokkenheid van het gastro-intestinaal stelsel. Bij deze presentatie van de ziekte dienen stalen genomen te worden van de plaats die vermoedelijk geïnfecteerd is. Dit kunnen vochten en/of weefsels zijn (synoviaal vocht, pleuravocht, hartkleppen,...). De verdere uitwerking van deze invasieve stalen gebeurt op dezelfde wijze als hierboven beschreven voor de duodenumbipten. Routinematig testen voor de aanwezigheid van *T. whipplei* op faeces wordt momenteel niet weerhouden in de literatuur aangezien er onvoldoende evidentie is. Zoals reeds aangehaald is er een studie die wel een mogelijke meerwaarde ziet van niet-invasieve staaltypes. Aangezien de positie hiervan nog onduidelijk is, vragen we momenteel om zowel faeces-, speeksel-, als urinestalen mee op te sturen om dit verder uit te klaren.

Beide flowcharts zijn terug te vinden in bijlage 1.

Behandeling

De klassieke presentatie van de ziekte van Whipple alsook de chronische gelokaliseerde vorm vereisen een behandeling met antibiotica.

Wanneer een correcte behandeling wordt ingesteld, klaren de symptomen zoals gastro-intestinale ongemakken en gewrichtsklachten snel op. Patiënten die laattijdige symptomen vertonen, zoals symptomen gerelateerd aan infectie van het centraal zenuwstelsel (CZS), zijn moeilijk te genezen. Een volledige eradicatie van de kiem vereist een langdurige behandeling. Wanneer er geen antibiotische behandeling volgt, kan de ziekte fataal zijn.³

Verskillende combinaties van antibiotica worden gebruikt voor de behandeling van *T. whipplei* zoals penicilline, streptomycine, tetracycline, ceftriaxone, meropenem, co-trimoxazole en doxycycline. Grote studies omtrent de antibiotische therapie van infecties met deze kiem ontbreken.⁵ De huidige richtlijn voor patiënten met de klassieke presentatie van de ziekte of een gelokaliseerde chronische infectie is een initiële fase van een intraveneus (IV) antibioticum dat de bloed-hersenbarrière penetreert, gevolgd door een orale onderhoudsbehandeling van twaalf maanden met trimethoprim-sulfamethoxazole.^{6,10} Een kortere perorale onderhoudsbehandeling van drie maand werd vergeleken met de huidige nabehandeling van twaalf maand. De conclusie is dat beide behandelingsregimes gelijkwaardig zouden zijn. Verder onderzoek is noodzakelijk om de therapieduur definitief in te korten.⁴⁵

De behandeling van de klassieke presentatie van Whipple bestaat vaak uit een IV-therapie met ceftriaxone (2 g IV eenmaal per dag) of penicilline (2 miljoen eenheden zesmaal per dag) gedurende twee weken gevolgd door trimethoprim-sulfamethoxazole 160/800 mg per os tweemaal per dag gedurende één jaar.¹⁰ Een voorgesteld alternatief voor de orale behandeling is doxycycline plus hydroxychloroquine. Wanneer het CZS aangetast is of het de chronisch gelokaliseerde vorm van de ziekte betreft, wordt de intraveneuze behandeling standaard verlengd tot vier weken.⁶

Het gebruik van ceftriaxone als eerstelijns therapie is gebaseerd op een gerandomiseerde prospectieve studie die meropenem vergeleek met ceftriaxone als initiële IV-therapie. Er kon aangetoond worden dat in beide studiepopulaties remissie werd bekomen wanneer deze therapie gevolgd werd door de orale behandeling met trimethoprim-sulfamethoxazole.¹ Voor de perorale nabehandeling vergeleek een andere studie trimethoprim-sulfamethoxazole met tetracycline. Hieruit bleek dat er een hogere kans op remissie was bij patiënten behandeld met trimethoprim-sulfamethoxazole en dat er in deze groep veel minder nevenwerkingen werden aangegeven.⁴⁶

Opvolging

De meeste patiënten die adequaat behandeld worden vertonen snel een gunstige evolutie, meestal binnen zeven tot 21 dagen. Neurologische symptomen kunnen soms wel irreversibel zijn. Patiënten moeten regelmatig opgevolgd worden na hun diagnose. Klinische herevaluatie wordt voorgesteld na 6, 12, 24 en 36 maanden.³

In sommige richtlijnen wordt geopperd om bij de klassieke ziekte duodenale biopsies te nemen om de zes maanden, waarbij de therapie gecontinueerd moet worden zolang deze biopsies positief zijn voor *T. whipplei* (met PCR of PAS-kleuring). Dit wordt weliswaar vaak niet routinematig aanbevolen aangezien het nemen van biopsies stresserend kan zijn voor de patiënt en complicaties kan veroorzaken.⁵ Bij een infectie van het CZS moet er steeds gestreefd worden naar eradicatie van de bacterie en dient de PCR op lumbaal vocht negatief te zijn.¹⁰ Echter, er zijn geen duidelijke data die aantonen dat testen op *T. whipplei* via PCR een goede manier is om de respons te meten. Bijkomende studies dienen te gebeuren om eenduidige richtlijnen omtrent de opvolging van de patiënten te kunnen opstellen.

Aanvraagformulier

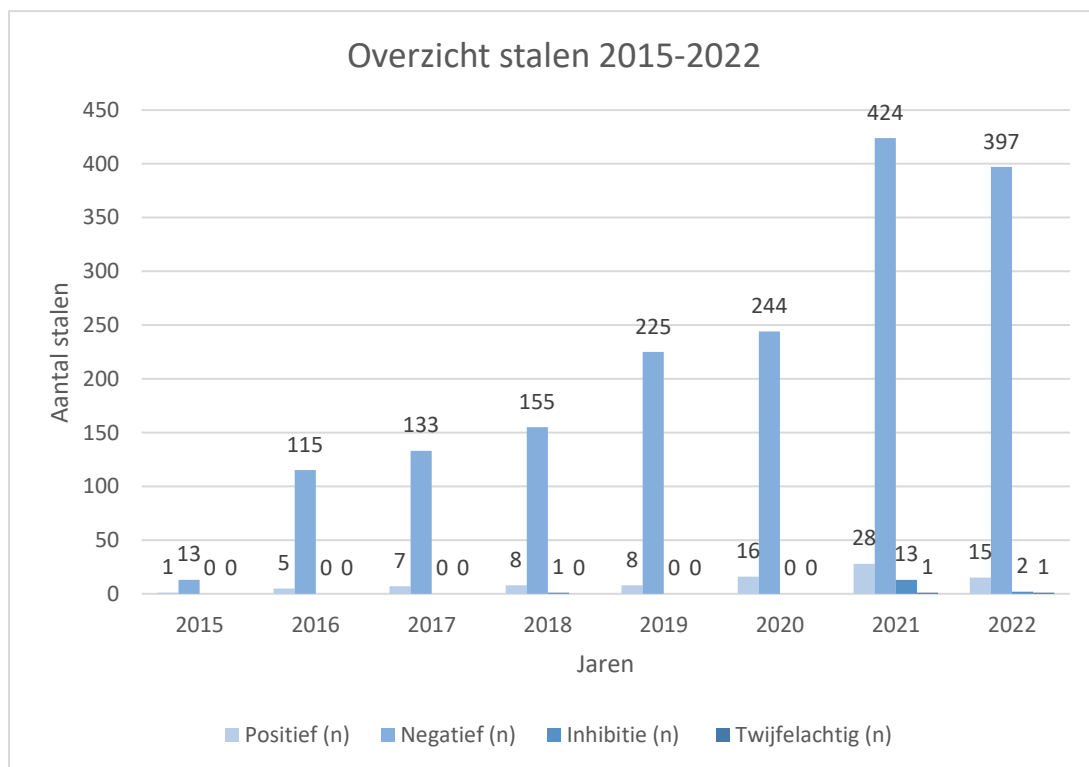
Momenteel is er geen specifiek aanvraagformulier beschikbaar voor het uitvoeren van een *T. whipplei* PCR. Er werd een formulier gecreëerd dat ook doorgegeven zal worden aan Sciensano om op hun website te plaatsen (bijlage 2). Correcte informatie over het staaltype, vorige en/of bijkomende testresultaten, en klinische gegevens kan ons als referentielaboratorium helpen om meer kennis te vergaren omtrent de presentatie en diagnostiek van deze zeldzame bacteriële infectieziekte. Het kan ons meer leren over de incidentie van de klassieke en gelokaliseerde ziekte van Whipple en zal ons hopelijk in staat stellen om de diagnostische flowcharts verder te optimaliseren.

Data referentielaboratorium

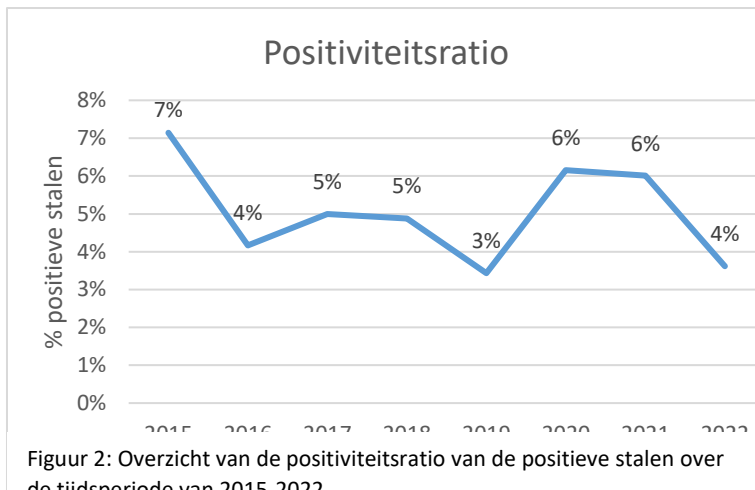
Allereerst wordt er een algemeen overzicht gegeven van de data van stalen waarop wij als referentielaboratorium een PCR voor *T. whipplei* hebben uitgevoerd. Hierna volgt een bespreking van de patiënten met positieve stalen. Dit kunnen patiënten zijn met de klassieke vorm of de chronisch gelokaliseerde vorm van de ziekte, alsook asymptomatische dragers. De stalen die positief getest zijn maar waarvan de klinische informatie onbekend is worden kort aangehaald. Vervolgens wordt er een vergelijking gemaakt tussen de patiëntkarakteristieken van patiënten met een niet-bevestigde (dragerschap?) en bevestigde diagnose van de ziekte van Whipple. Deze laatste patiëntengroep wordt nog verder in detail toegelicht. Het Ethisch Comité verleende goedkeuring voor het analyseren van deze data.

Algemeen overzicht alle stalen

Sinds augustus 2015 is het OLV-Ziekenhuis Aalst NRL voor *T. whipplei* en wordt er een PCR uitgevoerd om deze bacterie op te sporen. Over de jaren heen wordt er een sterke toename in het aantal stalen gezien, met bijna een verdubbeling na 2020 (figuur 1).



Figuur 1: Overzicht van geanalyseerde stalen over de tijdsperiode van 2015-2022

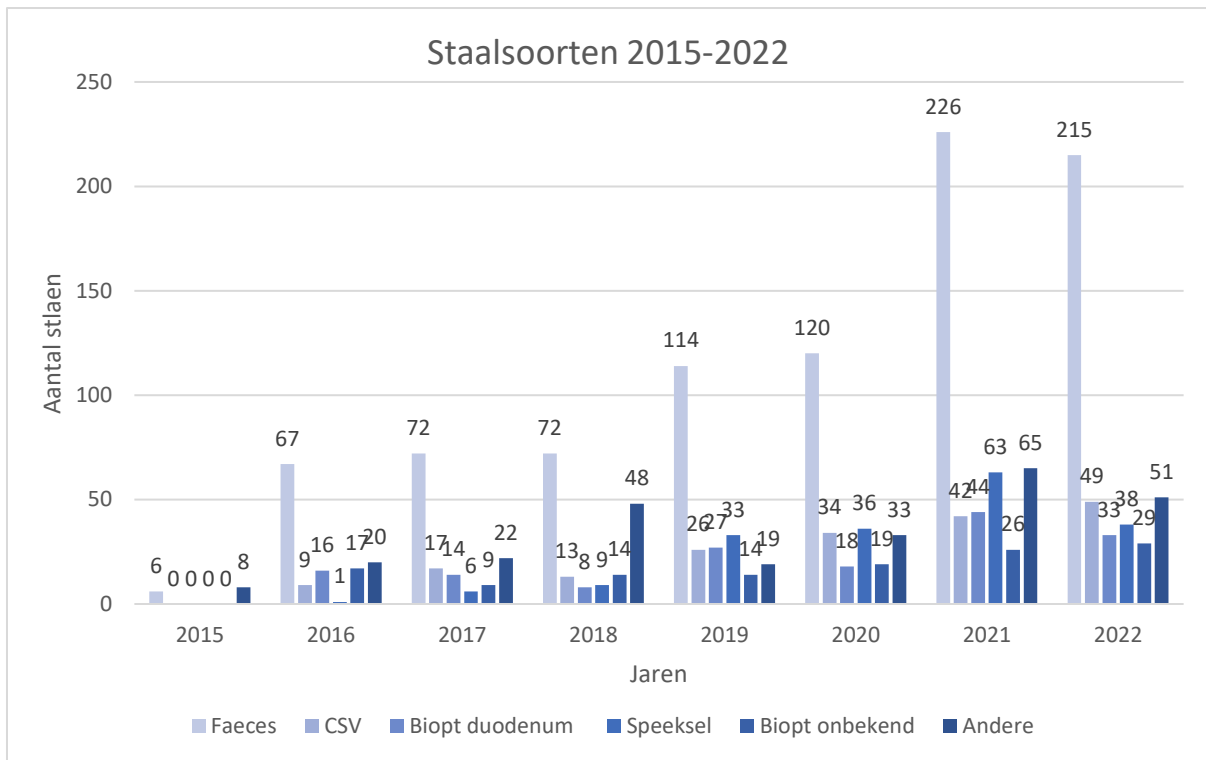


Figuur 2: Overzicht van de positiviteitsratio van de positieve stalen over de tijdsperiode van 2015-2022

Wanneer we kijken naar de positiviteitsratio van de positieve stalen wordt vastgesteld dat deze stabiel blijft doorheen de tijd (figuur 2).

De PCR beperkte zich initieel tot drie staaltypes: faeces, CSV en biopten. Ondertussen gebeurt de analyse ook vaak op speeksel en sporadisch op andere vochten (bv. gewrichtsvochten). Zoals reeds vermeld kan faeces gebruikt worden om te testen voor de klassieke vorm van *T. whipplei* infecties.³⁷ Om de klassieke presentatie van de ziekte van Whipple finaal vast te stellen wordt meestal gebruik gemaakt van een duodenumbiopt.³⁴ Verder kunnen andere staaltypes geanalyseerd worden in het kader van de diagnose van gelokaliseerde infecties, zoals hierboven aangehaald.

In figuur 3 kunnen we zien dat faeces de staalsoort is die in ons referentielaboratorium het meest frequent geanalyseerd wordt. De categorie 'biopt onbekend' zijn stalen die opgestuurd worden zonder duidelijke precisering over welk type biopt het gaat.



Figuur 3: Overzicht van de staalsoorten ontvangen tussen 2015-2022

Wanneer we de evolutie bekijken van het aantal patiënten dat getest wordt op de ziekte van Whipple zien we een grote toename over de jaren, waarbij er een stagnatie is de laatste twee jaren. Zo testen we ongeveer 300 patiënten per jaar. Het gemiddeld aantal stalen per patiënt die negatief getest wordt, bedraagt 1,3 en blijft over de volledige periode min of meer stabiel. Wanneer de door ons opgestelde flowchart gevolgd wordt, zou het gemiddeld aantal stalen voor patiënten zonder de ziekte effectief op 1 liggen aangezien we vooropstellen om allereerst te testen op faeces. Indien het a priori vermoeden op de ziekte eerder laag is, dient er geen tweede staal te volgen. Aangezien we nu bijkomende staaltypes vragen, zou dit aantal echter moeten stijgen naar 3. Bij patiënten waarbij er *T. whipplei* gedetecteerd wordt, ligt het aantal stalen per patiënt rond twee met een uitschieter in 2020 van gemiddeld 6 stalen per patiënt (tabel 1). Bij deze positieve patiënten wordt er aangeraden om een positief niet-invasief staal steeds te bevestigen met ofwel een duodenumbipt (klassieke presentatie van de ziekte) ofwel een diep staal van de plaats waar de gelokaliseerde infectie zich bevindt. Bij patiënten met vermoeden van de klassieke ziekte van Whipple ligt het gemiddelde idealiter rond minimaal 2 stalen per patiënt wanneer de flowchart gevolgd wordt, wat momenteel reeds zo is. Aangezien ook hier bijkomende staaltypes gevraagd worden, stijgt dit aantal idealiter naar 4. Bij presentatie van een chronisch, gelokaliseerde infectie kan in principe één staal per patiënt reeds volstaan. Door de bijkomend gevraagde staaltypes zou ook dit aantal moeten stijgen naar 4 stalen per patiënt.

	Aantal patiënten		Gemiddeld aantal stalen per patiënt	
	Negatief getest	Positief getest	Negatief getest	Positief getest
2015	10	0	1,4	N.v.t.
2016	100	3	1,15	3
2017	108	6	1,23	2
2018	121	6	1,28	1,5
2019	172	5	1,31	2,4
2020	175	8	1,39	6
2021	296	17	1,43	2,67
2022	305	11	1,3	1,9

Tabel 1: Aantal geteste patiënten en het gemiddeld aantal stalen per patiënt per jaar

Patiënten met positieve stalen

Wanneer we de presentatie van de klassieke vorm van de ziekte van Whipple in ons achterhoofd houden zouden we verwachten dat voornamelijk de specialismen reumatologie (omwille van de spieren en gewrichtspijnen) en gastro-enterologie (omwille van de gastro-intestinale klachten) diagnostiek voor *T. whipplei* zouden aanvragen. We zien dit effectief terugkomen wanneer we kijken naar onze eigen data. Toch is algemene inwendige de meest voorkomende aanvrager. Dit is mogelijk te wijten aan het feit dat alle conventionele testen bij de patiënten met deze gastro-intestinale of gewrichtssymptomen negatief blijven waarna een algemene evaluatie van deze patiënten volgt.

Specialisme aanvrager	Reumatologie	Gastro-enterologie	Algemene inwendige	Cardiologie	Huisarts	Neurologie	Hematologie
2020	3	2	2	0	0	1	0
2021	1	4	6	3	3	0	1
2022	3	3	4	0	0	0	0
Totaal	7	9	12	3	3	1	1

Tabel 2: Specialismen van aanvrager diagnostiek van de patiënten met positief geteste stalen

Wanneer *T. whipplei* in één of meerdere stalen gedetecteerd wordt, betekent dit niet per definitie de bevestiging van de diagnose van de ziekte van Whipple. In deze CAT hebben we ervoor gekozen om de definitie van “bevestigde diagnose” te gebruiken wanneer er een positief staal voor *T. whipplei* was (getest met PCR) en de arts de ziekte bevestigd achtte.

In tabel 3 wordt voor de positief geteste patiënten aangegeven hoeveel diagnoses gesteld zijn, wat het resultaat was van de PAS-kleuring, of er symptomen waren en of de patiënten behandeld werden.

Er kan gesteld worden dat er duidelijk meer *T. whipplei* gedetecteerd werd met de PCR dan dat de bacterie gevisualiseerd kon worden met een PAS-kleuring. Dit kan te wijten zijn aan een bemonsteringsfout. Het is ook mogelijk dat een PAS-kleuring een minder sensitieve techniek is, maar dit wordt voorlopig niet ondersteund door de literatuur.⁴¹ Omgekeerd wordt er echter niet gekeken naar de patiënten die positieve stalen voor *T. whipplei* hadden bevestigd op PAS-kleuring maar geen positief PCR-resultaat. Het is dus mogelijk dat er ook stalen zijn met een positieve PAS-kleuring waarbij de PCR negatief is.

Hoewel er gegevens van de patiënten ontbreken in onze database zien we wel duidelijk dat de meeste de patiënten die positief getest worden ook daadwerkelijk klachten vertonen die passend zijn bij de klassieke ziekte van Whipple. Het aandeel van de patiënten dat behandeld wordt, verschilt van jaar tot jaar. In 2020 werden bijna alle patiënten met een positief PCR-resultaat en symptomen behandeld terwijl dit in 2022 slechts ongeveer de helft betrof (tabel 3). Wanneer we de gegevens in detail bekijken, zien we dat deze patiënten eerst nog verder opgevolgd worden voor langdurige therapie ingesteld wordt, vermoedelijk omdat de behandelend arts nog niet volledig overtuigd was van de diagnose.

	Diagnose 'ziekte van Whipple'			Resultaat bevestigd met PAS-kleuring			Symptomen			Behandeld		
	Ja	Neen	Onb.	Ja	Neen	Onb.	Ja	Neen	Onb.	Ja	Neen	Onb.
2020	6	1	1	3	2	3	5	0	3	6	0	2
2021	4	2	12	1	5	12	6	1	11	3	4	11
2022	5	4	1	4	2	4	8	1	1	5	4	1

Tabel 3: Kenmerken van patiënten met positief geteste stalen
Onb.: Onbekend

Patiënten met positieve stalen zonder klinische informatie

Gedurende de studieperiode van drie jaar waren er veertien patiënten met een positief staal voor *T. whipplei* waarbij er geen klinische info werd meegestuurd of kon teruggevonden worden in het medisch dossier. Deze patiënten kunnen we dus niet meenemen in de verdere analyse van de patiëntenkarakteristieken aangezien het hier niet duidelijk is of het om een bevestigde diagnose van de ziekte van Whipple gaat.

De staaltypes die werden opgestuurd voor deze patiënten doen ons vermoeden dat er bij dertien patiënten getest werd voor het aantonen van de klassieke presentatie van de ziekte van Whipple.

Het betrof niet-invasieve stalen (faeces/speeksel) die al dan niet aangevuld of voorafgegaan werden door een duodenumbipt. Er waren slechts twee patiënten waarbij de correcte workflow gevolgd werd: een niet-invasief staal werd afgenomen en aangezien dit positief was, werd een duodenumbipt afgenomen ter bevestiging. In één geval werd er eerst een bipt afgenomen waarbij achteraf een niet-invasief staal volgde. Bij negen van de patiënten werd er slechts één of meerdere niet-invasieve stalen opgestuurd, zonder bevestiging op een duodenumbipt en bij één patiënt werd louter een CSV opgestuurd. In één ander geval konden we ook een chronisch gelokaliseerde infectie bevestigen aangezien dit een positieve hartklep betrof.

Vergelijking patiëntkarakteristieken bevestigde vs. niet-bevestigde diagnose

Over de drie jaar durende studieperiode zijn er zeven patiënten waarbij de diagnose van Whipple niet bevestigd kon worden en waarvan we voldoende gegevens hebben. Van deze zeven patiënten zijn er twee waarbij er een alternatieve diagnose gesteld werd. De karakteristieken van deze patiënten worden vergeleken met deze van de vijftien patiënten waarbij de diagnose van de ziekte wel bevestigd werd. Dit betreft veertien diagnoses van de klassieke ziekte van Whipple en één diagnose van de chronisch gelokaliseerde ziekte. Door deze vergelijking hopen we meer inzicht te krijgen in de ziekte en bepaalde patiëntkarakteristieken te linken aan ofwel louter asymptomatische dragers ofwel aan patiënten met de ziekte. Opmerkelijke verschillen tussen beide populaties kunnen nuttig zijn voor verder advies omtrent de diagnostiek.

Uit de literatuur komt naar voor dat de ziekte van Whipple voornamelijk gezien wordt bij mannelijke patiënten rond middelbare leeftijd (+/-50jaar).^{16,21,22} Wanneer we naar onze eigen data kijken bij de patiënten met een bevestigde diagnose, zien we dat er effectief een 2:1 verdeling is van mannen en vrouwen. Bij de patiënten zonder bevestigde diagnose zien we een ongeveer gelijke man/vrouw ratio (tabel 4). Deze resultaten liggen in lijn met de literatuur.

	Man	Vrouw
Bevestigde diagnose	10	5
Niet-bevestigde diagnose	3	4

Tabel 4: Geslacht van de patiënten met positief geteste stalen

Wat betreft de leeftijd van de patiënten met een bevestigde diagnose zien we wel degelijk een hoger aantal positieve patiënten met de ziekte van Whipple bij de 41- tot 60-jarigen. Bij de niet-bevestigde gevallen is er moeilijker een conclusie uit de gegevens van de leeftijd te trekken aangezien er slechts één tot twee patiënten in elke leeftijdscategorie meegenomen kunnen worden.

Leeftijd	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90
Bevestigd	2		1	3	6	2	1	
Niet-bevestigd			1	2	1	2		1

Tabel 5: Leeftijd van de patiënten met positief geteste stalen

Wanneer we de symptomen van de patiënten met de bevestigde en niet-bevestigde diagnose vergelijken zien we dat in beide groepen gewrichtsklachten en vermoeidheid het meest vermeld worden. Deze symptomen worden in de literatuur ook beschreven als meest voorkomend bij de ziekte van Whipple. Het is dus logisch dat er aan de ziekte gedacht wordt bij deze klinisch presentatie. Wat opvalt is dat vermagering wel duidelijk meer voorkomt bij de patiënten met een bevestigde diagnose van de ziekte van Whipple. Ook diarree komt iets meer voor in deze groep. Vermagering is dus een symptoom dat clinici meer zou kunnen wijzen in de richting van de ziekte van Whipple, al treedt dit pas op in een laattijdig ziektestadium. De frequentie van voorkomen van de symptomen in onze studie bij de patiënten met de bevestigde diagnose van Whipple komt overeen met de literatuur (tabel 6).

Symptomen	Patiënten met positief staal zonder bevestigde diagnose (7)	Patiënten met positieve stalen en bevestigde diagnose (14)*	Literatuur ^{5,10,15}
Gewrichtsklachten	57%	64%	85%
Spierpijn	29%	29%	
Diarree	43%	71%	23-85%
Vermagering	29%	79%	79-99%
Energieverlies/vermoeidheid	43%	43%	
Dyspnee	29%	14%	
Koorts	29%	7%	40-60%
Retrosternale pijn	14%	7%	
Huiduitslag	0	14%	40-60%
Diplopie	0	7%	
Hoofdpijn	0	7%	

Tabel 6: Symptomen van de patiënten met positieve stalen met en zonder bevestigde diagnose

*Van één patiënt met de bevestigde diagnose waren de symptomen onbekend, maar kon er wel teruggevonden worden dat het om een bevestigde Whipple-infectie ging

Bij patiënten die louter drager zijn van *T. whipplei* verwachten we dat de CT-waarde van de PCR uitgevoerd op faeces hoger is dan bij de patiënten met de ziekte. Hoe meer bacteriën aanwezig zijn in de darmen, hoe lager de CT-waarde is. Een *cut-off* voor de CT-waarde opstellen die het onderscheid aangeeft tussen dragerschap en infectie zou nuttig zijn.

Om dit te realiseren zouden we in de toekomst de CT-waarde van de faecesstalen kunnen vergelijken met de resultaten van de duodenumbipten van dezelfde patiënt (positieve PCR en/of PAS-kleuring). Op dit moment waren van de patiënten met een niet-bevestigde diagnose geen duodenumbipten beschikbaar of waren data van de PAS-kleuring niet voorhanden. Bij de patiënten met een bevestigde diagnose toonden stalen waarvan de APO-resultaten positief waren een iets lagere CT-waarde op faeces dan de stalen waarbij *T. whipplei* niet gevisualiseerd werd met de PAS-kleuring. Er werd niet steeds een PCR uitgevoerd op deze duodenumbipten, waardoor onvoldoende data beschikbaar zijn. Verdere opvolging zal moeten uitwijzen of dit zich bevestigt.

Uitgebreide beschrijving patiënten met positieve stalen en een bevestigde diagnose

Gemiddeld zijn er vijf patiënten per jaar waarbij we als referentielaboratorium de diagnose van de ziekte van Whipple kunnen bevestigen. Wanneer we hieruit de incidentie berekenen is dit 0.43/1.000.000 inwoners of 0.000043 %. Dit lijkt een ernstige onderschatting in vergelijking met de literatuur.^{13,20} Een mogelijke verklaring kan zijn dat dat niet alle labo's de stalen doorsturen om PCR op uit te voeren of dat artsen niet meteen denken aan het stellen van de diagnose gezien de aspecifieke symptomen.

Zoals eerder vermeld betreft de patiëntenpopulatie met bevestigde diagnose veertien gevallen van de klassieke ziekte van Whipple en één diagnose van de gelokaliseerde ziekte van Whipple.

De patiënt met de gelokaliseerde infectie had weinig relevante medische voorgeschiedenis en was autoverkoper op pensioen. Hij had beroepsmatig dus geen verhoogd risico voor het ontwikkelen van een infectie met *T. whipplei*. Als klachten werden dyspnee en thoracale pijn vermeld. De echocardiografie toonde een vegetatie ter hoogte van de aortaklep. De klep werd vervangen en een PCR werd uitgevoerd op dit klepmateriaal. Deze bleek positief waardoor de diagnose van endocarditis gesteld werd. Het staal werd niet opgestuurd naar het labo voor pathologische ontledkunde. Een faecesstaal dat achteraf geanalyseerd werd met PCR bleek negatief. De patiënt werd behandeld met ceftriaxone 2g IV gedurende 28 dagen gevolgd door minocycline 2*100mg PO plus hydroxychloroquine 2*200mg PO gedurende 1 jaar. Er was een gunstige evolutie na instellen van de behandeling.

Van zes patiënten met de klassieke ziekte is het beroep gekend, maar geen van deze patiënten had hierdoor een verhoogd risico op het ontwikkelen van de ziekte (kok in opleiding, monteur, thuisverpleegkundige, stukadoor, bediende).

Er waren vier patiënten waarbij eerst een niet-invasief staal opgestuurd werd gevolgd door een duodenumbiopt, bij drie patiënten werd het biopt samen geanalyseerd met het niet-invasief staal, bij vier patiënten werd er louter een duodenumbiopt gestuurd, en bij één patiënt enkel een niet-invasief staal (faeces).

Twee patiënten hadden nog een andere diagnostische flow, waarbij één patiënt een niet-invasief staal had gevolgd door een CSV en er voor de andere patiënt eerst een CSV geanalyseerd werd waarna de volledige diagnostische flow gevolgd werd (niet-invasief staal en duodenumbiopt). Deze laatstgenoemde patiënt had neurologische klachten en het staal bleek ook PCR-positief. Uiteraard is het denkbaar dat wanneer een patiënt neurologische klachten heeft die niet te verklaren zijn door een andere diagnose meteen een PCR op CSV gebeurt, eerder dan het volledige schema te volgen en eerst nog niet-invasieve stalen of duodenumbiopten af te nemen.

Bij twaalf van de veertien patiënten waarbij een positief PCR-resultaat verkregen werd op een niet-invasief staal, werd ook PCR uitgevoerd op een duodenumbiopt. Bij zeven van deze patiënten was het APO-resultaat concordant met het PCR, bij vier patiënten was de PAS-kleuring negatief en bij één patiënt was het APO-resultaat niet gekend (tabel 7). Bij twee patiënten werd er louter een positief PCR-resultaat bekomen op een faecesstaal, aangezien het duodenumbiopt niet voor PCR-analyse opgestuurd werd. Hierbij was de PCR op faeces wel positief alsook de PAS-kleuring op een duodenumbiopt.

	PCR-resultaat		
APO-resultaat	Positief	Negatief	Niet uitgevoerd
Positief	7	0	2
Negatief	4	0	0
Onbekend	1	0	0

Tabel 7: Concordantie resultaten biopten van PCR- en APO van positief geteste patiënten

Het merendeel van de patiënten (8/14) met de klassieke presentatie van de ziekte van Whipple werd behandeld met de huidige voorkeurstherapie; ceftriaxone 2g IV gedurende 14 dagen gevolgd door trimethoprim-sulfamethoxazole 160/800mg PO tweemaal per dag gedurende één jaar. Twee patiënten werden behandeld met doxycycline 2*100mg PO plus hydroxychloroquine 2*200mg PO gedurende 1 jaar. Één patiënt kreeg doxycycline 2*100mg PO monotherapie gedurende 1 jaar. Van twee patiënten is de volledige therapie niet gekend en één patiënt weigerde alle antibiotica (IV en PO), verliet het ziekenhuis en is *lost to follow-up*.

Van de veertien besproken patiënten zijn er zeven waarbij er een gunstige evolutie beschreven is na stoppen van de therapie en waarbij de stalen genegativeerd zijn. De staaltypes die geanalyseerd werden ter opvolging waren voor vier patiënten zowel een faecesstaal als een duodenumbiopt, voor twee patiënten enkel een faecesstaal en voor één patiënt alleen een duodenumbiopt.

Voor vijf van de veertien patiënten werd er geen opvolgstaal gestuurd maar werd wel een klinisch gunstige evolutie gedocumenteerd. Eén patiënt kon zoals hierboven reeds aangehaald niet meer opgevolgd worden. Er was één patiënt die een recidief kende twee maand na het stoppen van de behandeling met trimethoprim-sulfamethoxazole (12maand). De diagnose van een recidief werd louter gesteld op basis van klinische presentatie, aangezien geen nieuwe stalen ontvangen werden voor PCR alsook geen resultaten van een nieuwe PAS-kleuring teruggevonden werden. Hij werd opnieuw behandeld met een IV antibioticum, namelijk ceftriaxone in hoge dosering (2*2g), gevolgd door doxycycline 2*100mg PO plus hydroxychloroquine 3*200mg PO gedurende 1 jaar. Momenteel evolueert de patiënt klinisch gunstig.

Casus

Eind 2020 presenteerde een patiënt zich op de raadpleging reumatologie in het OLV ziekenhuis Aalst met aanhoudende aspecifieke klachten zoals slecht slapen, aanhoudende pijn in alle spieren en gewrichten met verkrampde vingers, nekkachten, hoofdpijn, een grieperig gevoel, en krampen in de buik. De abdominale klachten werden opgevolgd door de huisarts maar de patiënt krijgt hier meer en meer last van. Zijn gewicht schommelt. Hij heeft destijds de diagnose van fibromyalgie gekregen toen zijn gewrichtspijnen nog milder waren, maar nu wil hij zoeken naar een oplossing.

De patiënt werd begin 2007 voor de eerste keer opgenomen in een ziekenhuis met volgende klachten: recidiverende koortsaanvallen vaak gepaard gaande met spierpijn en keelpijn, gevolgd door niet-productieve hoest. De diagnose van recidiverende tonsillitis werd gesteld. In 2011 volgde een nieuwe opname met abdominale krampen en diarree. Een coloscopie werd uitgevoerd waarbij geen bijzonderheden weerhouden werden. Allergietesten waren negatief en dieetmaatregelen bleven zonder effect. Er was een vermoeden van inflammatoire darmziekte.

De reumatoloog waarbij de patiënt nu gevolgd wordt besluit het volledige bilan opnieuw uit te werken inclusief Borrelia serologie, maar denkt ook aan het uitsluiten van de klassieke ziekte van Whipple aangezien de patiënt duidelijke abdominale klachten heeft. De patiënt heeft door zijn beroep of leefomgeving geen duidelijke risicofactor voor of een verhoogde kans op de ziekte van Whipple. Het resultaat van de Whipple PCR op faeces blijkt positief. Nieuwe niet-invasieve stalen worden afgenomen waarbij het faecesstaal bij herhaling positief is en het speekselstaal negatief. Een gastroscopie wordt gepland om duodenumbipten af te nemen voor verdere diagnostiek.

De PAS-kleuring blijkt negatief, maar de PCR voor *T. whipplei* is positief. Op een multidisciplinair overleg wordt de diagnose van de ziekte van Whipple weerhouden. De patiënt wordt behandeld.

Kort na de diagnose bij deze patiënt komt zijn dochter op de raadpleging van reumatologie. Zij heeft reeds meer dan vijf jaar diffuse gewrichtspijnen. De laatste vier weken heeft zij ook significante abdominale klachten zoals krampen en diarree. Een faecesstaal volgt om te testen op de klassieke ziekte van Whipple en is positief. Ook bij deze patiënt volgt een duodenumbiopt, waarbij de PCR voor *T. whipplei* positief is, het APO resultaat is negatief. Het advies van een multidisciplinair team infectieziekten is dat de aanwezigheid van de ziekte van Whipple hier toch zeer reëel is en een behandeling dient gestart te worden.

Terwijl de diagnostiek naar *T. whipplei* bij bovenstaande patiënte in uitwerking is, neemt de huisarts ook een niet-invasief staal af bij haar broer (faeces). Deze patiënt heeft geen gewrichtsklachten maar wel frequent buikpijn en diarree. Ook in dit niet-invasief staal wordt *T. whipplei* teruggevonden. Het duodenumbiopt is negatief voor PAS-positieve macrofagen maar de PCR is positief. Behandeling voor de klassieke ziekte van Whipple wordt gestart.

Na de behandeling van deze drie patiënten verdwijnen hun klachten en zijn de faecesstalen PCR negatief.

Deze casus doet vermoeden dat de ziekte van Whipple besmettelijk is. Er kan gesuggereerd worden dat er mens-op-mens overdracht plaatsvindt, maar dit kan ook passen bij besmetting vanuit een gemeenschappelijke omgevingsbron. We kunnen hier dus niet met zekerheid spreken van een besmettelijke ziekte en verder onderzoek hiernaar dient te gebeuren. Dit werd ook reeds aangehaald in de literatuur, waarbij er nog geen consensus is of er faeco-orale besmetting kan plaatsvinden of dat eenzelfde omgevingsreservoir *T. whipplei*-infectie bevordert.^{5,10,23} Aangezien deze drie patiënten familie zijn, zou er kunnen geopperd worden dat hier genetische factoren liggen aan de basis van het ontwikkelen van de ziekte. Zoals reeds besproken worden er enkele mogelijke oorzaken voor deze genetische predispositie in de literatuur aangehaald, maar hier werd geen verder onderzoek naar gedaan bij deze patiënten.

Beperkingen

Een belangrijke beperking van deze studie is de kleine dataset, waardoor we voorzichtig moeten zijn met het trekken van conclusies. De ziekte van Whipple is zeldzaam waardoor er per jaar slechts een klein aantal patiënten positief test. Positieve stalen worden wel systematisch bijgehouden en de dataset wordt aangevuld met nieuwe patiënten.

Een bijkomend probleem is dat er vaak informatie ontbreekt die niet genoteerd wordt door het doorsturend labo (bv. exacte staaltype) en dat er van een aantal patiënten met positieve stalen geen klinische info teruggevonden kon worden in het patiëntendossier. Om deze limitatie te beperken werd een nieuw aanvraagformulier opgesteld en zal ontbrekende klinische info actief opgevraagd worden.

TO DO/ACTIONS

- Aanvraagformulier en flowcharts publiceren en verspreiden
- Wanneer de gegevens onvolledig zijn op het aanvraagformulier van het doorsturend labo, zal deze data bijkomend opgevraagd worden door actief contact op te nemen (via mail en/of telefonisch). Zo zijn we er zeker van dat er voldoende klinische gegevens voorhanden zijn om jaarlijks de epidemiologie van de geanalyseerde stalen op te volgen.
- De positief geteste stalen zullen in detail geanalyseerd worden waarbij naast de beschrijving van de epidemiologie ook de patiëntkarakteristieken vergeleken zullen worden tussen de bevestigde en niet-bevestigde gevallen van de ziekte van Whipple.
- Er zal er nagegaan worden of de flowchart gevolgd wordt door de doorsturende laboratoria. Zoniet zal bekeken worden waarom een andere werkwijze verkozen wordt.
- De resultaten van de extra gevraagde niet-invasieve stalen zullen geanalyseerd worden en er zal bekeken worden of deze staaltypes een meerwaarde bieden in de diagnostiek. Op basis hiervan zal de opgestelde flowchart geherevalueerd worden en indien nodig aangepast.
- Op termijn wordt geprobeerd om een *cut-off* voor de CT-waarde van de PCR op faeces op te stellen die kan helpen een onderscheid te maken tussen dragerschap en infectie.

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

1. Feurle GE, Junga NS, Marth T. Efficacy of Ceftriaxone or Meropenem as Initial Therapies in Whipple's Disease. *Gastroenterology* 2010; **138**: 478–86.
2. Whipple G. A hitherto undescribed disease characterized anatomically by deposits of fat and fatty acids in the intestinal and mesenteric lymphatic tissues. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1907; **18**: 382.
3. Obst W, Von Arnim U, Malfertheiner P. Whipple's disease. *Viszeralmedizin: Gastrointestinal Medicine and Surgery* 2014; **30**: 167–72.
4. Black-Schaffer B. The Tinctoral Demonstration of a Glycoprotein in Whipple's Disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949; **72**: 225–7.
5. Dolmans RAV, Edwin Boel CH, Lacle MM, Kusters JG. Clinical manifestations, treatment, and diagnosis of *Tropheryma whipplei* infections. *Clin Microbiol Rev* 2017; **30**: 529–55.
6. Apstein MD, Schneider T. Whipple's disease. *UpToDate* 2022. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/whipples-disease#H703772342>. Accessed March 29, 2023.
7. Wilson K, Blitchington R, Frothingham R, Wilson J. Phylogeny of the Whipple's disease-associated bacterium. *Lancet* 1991; **338**: 474–5.
8. Keita AK, Raoult D, Fenollar F. *Tropheryma whipplei* as a commensal bacterium. *Future Microbiol* 2013; **8**: 57–71.
9. Renesto P, Crapoulet N, Ogata H, *et al.* *Genome-based design of a cell-free culture medium for Tropheryma whipplei*. 2003. Available at: www.thelancet.com.
10. Marth T, Moos V, Müller C, Biagi F, Schneider T. *Tropheryma whipplei* infection and Whipple's disease. *Lancet Infect Dis* 2016; **16**: e13–22.
11. Wetzstein N, Fenollar F, Buffet S, Moos V, Schneider T, Raoult D. *Tropheryma whipplei* genotypes 1 and 3, central Europe. *Emerg Infect Dis* 2013; **19**: 341–2.
12. Lagier JC, Lepidi H, Raoult D, Fenollar F. Systemic *tropheryma whipplei*: Clinical presentation of 142 patients with infections diagnosed or confirmed in a reference center. *Medicine* 2010; **89**: 337–45.
13. Biagi F, Balduzzi D, Delvino P, Schiepatti A, Klersy C, Corazza GR. Prevalence of Whipple's disease in north-western Italy. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2015; **34**: 1347–8.
14. Lagier JC, Raoult D. Whipple's disease and *Tropheryma whipplei* infections: when to suspect them and how to diagnose and treat them. *Curr Opin Infect Dis* 2018; **31**: 463–70.
15. Dutly F, Altwegg M. Whipple's disease and 'Tropheryma whippelii'. *Clin Microbiol Rev* 2001; **14**: 561–83.
16. Günther U, Moos V, Offenmüller G, *et al.* Gastrointestinal diagnosis of classical whipple disease: Clinical, endoscopic, and histopathologic features in 191 patients. *Medicine (United States)* 2015; **94**.
17. Raoult D, Fenollar F, Rolain JM, *et al.* *Tropheryma whipplei* in children with gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2010; **16**: 776–82.

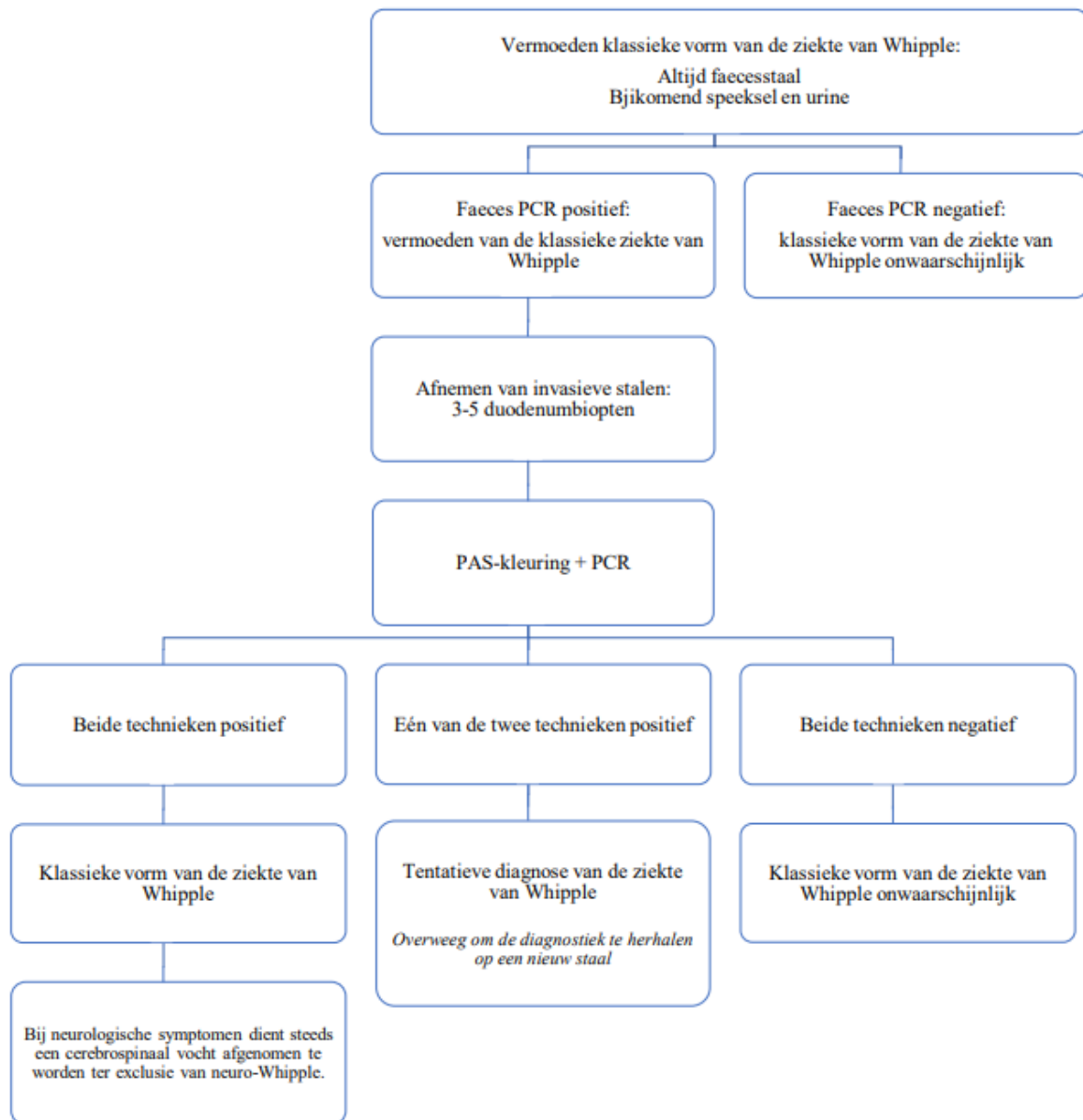
18. Fenollar F, Mediannikov O, Socolovschi C, *et al.* Tropheryma whipplei bacteremia during fever in rural west Africa. *Clinical Infectious Diseases* 2010; **51**: 515–21.
19. Bousbia S, Papazian L, Auffray JP, *et al.* Tropheryma whipplei in patients with pneumonia. *Emerg Infect Dis* 2010; **16**: 258–63.
20. Elchert JA, Mansoor E, Abou-Saleh M, Cooper GS. Epidemiology of Whipple's Disease in the USA Between 2012 and 2017: A Population-Based National Study. *Dig Dis Sci* 2019; **64**: 1305–11.
21. Dobbins WO III. Whipple's Disease. *Charles C Thomas Springfield* 1987.
22. Von Herbay A, Otto HF, Stolte M, *et al.* Epidemiology of Whipple's disease in Germany. Analysis of 110 patients diagnosed in 1965-95. *Scand J Gastroenterol* 1997; **32**: 52–7.
23. Fenollar F, Keita AK, Buffet S, Raoult D. Intrafamilial circulation of tropheryma whipplei, France. *Emerg Infect Dis* 2012; **18**: 949–55.
24. Sofia M, Papadogiannaki I, Voulgari-Kokota A, Georgakopoulou T, Koutantou M, Angelakis E. Tropheryma whipplei Intestinal Colonization in Migrant Children, Greece. *Emerg Infect Dis* 2022; **28**: 1926–8.
25. Schöniger-Hekele M, Petermann D, Weber B, Müller C. Tropheryma whipplei in the environment: Survey of sewage plant influxes and sewage plant workers. *Appl Environ Microbiol* 2007; **73**: 2033–5.
26. Fenollar F, Trani M, Davoust B, *et al.* Prevalence of asymptomatic Tropheryma whipplei carriage among humans and nonhuman primates. *Journal of Infectious Diseases* 2008; **197**: 880–7.
27. Maiwald M, Schuhmacher F, Ju" H-J, Ditton J, Von Herbay A. *Environmental Occurrence of the Whipple's Disease Bacterium (Tropheryma whippelii)*. 1998.
28. Schöniger-Hekele M, Petermann D, Weber B, Müller C. Tropheryma whipplei in the environment: Survey of sewage plant influxes and sewage plant workers. *Appl Environ Microbiol* 2007; **73**: 2033–5.
29. Biagi F, Badulli C, Feurle G, *et al.* Cytokine genetic profile in Whipple's disease. *Eur J clin microbial infect dis*.
30. Martinetti M, Biagi F, Badulli C, *et al.* The HLA Alleles DRB1*13 and DQB1*06 Are Associated to Whipple's Disease. *Gastroenterology* 2009; **136**: 2289–94.
31. Fenollar F, Amphoux B, Raoult D. A paradoxical tropheryma whipplei western blot differentiates patients with whipple disease from asymptomatic carriers. *Clinical Infectious Diseases* 2009; **49**: 717–23.
32. Bonhomme CJ, Renesto P, Nandi S, Lynn AM, Raoult D. Serological microarray for a paradoxical diagnostic of Whipple's disease. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2008; **27**: 959–68.
33. Fenollar F, Raoult D. Molecular techniques in Whipple's disease. *Expert Rev Mol Diagn* 2001; **1**: 299–309.
34. Ramzan NN, Loftus ; Edward, Burgart LJ, *et al.* *Diagnosis and Monitoring of Whipple Disease by Polymerase Chain Reaction*. 1997. Available at: <http://annals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/journals/aim/19879/>.
35. Rolain JM, Fenollar F, Raoult D. False positive PCR detection of Tropheryma whipplei in the saliva of healthy people. *BMC Microbiol* 2007; **7**.

36. Fenollar F, Fournier PE, Robert C, Raoult D. Use of Genome Selected Repeated Sequences Increases the Sensitivity of PCR Detection of *Tropheryma whippelii*. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 401–3.
37. Fenollar F, Laouira S, Lepidi H, Rolain JM, Raoult D. Value of *Tropheryma whippelii* quantitative polymerase chain reaction assay for the diagnosis of Whipple disease: Usefulness of saliva and stool specimens for first-line screening. *Clinical Infectious Diseases* 2008; **47**: 659–67.
38. Fenollar F, Fournier PE, Raoult D, Gérolami R, Lepidi H, Poyart C. Quantitative detection of *Tropheryma whippelii* DNA by real-time PCR [2]. *J Clin Microbiol* 2002; **40**: 1119–20.
39. Moter A, Janneck M, Wolters M, *et al.* Potential Role for Urine Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis of Whipple's Disease. *Clinical Infectious Diseases* 2019; **68**: 1089–97.
40. Von Herbay A, Maiwald M, Ditton -Herwart H-J, *et al.* *Histology of intestinal Whipple's disease revisited A study of 48 patients.*
41. Crews NR, Cawcutt KA, Pritt BS, Patel R, Virk A. Diagnostic approach for classic compared with localized whipple disease. *Open Forum Infect Dis* 2018; **5**.
42. Baisden B, Lepidi H, Raoult D, Argani P, Yardley J, Dumler S. *Diagnosis of Whipple Disease by Immunohistochemical Analysis.* 2002.
43. Lin F, Chen Z. Standardization of diagnostic immunohistochemistry: Literature review and Geisinger experience. *Arch Pathol Lab Med* 2014; **138**: 1564–77.
44. Shakoori AR. Fluorescence In Situ hybridization (FISH) and its applications. In: *Chromosome Structure and Aberrations.* Springer India, 2017; 343–67.
45. Feurle G, Moos V, Bläker H, *et al.* Intravenous ceftriaxone, followed by 12 or three months of oral treatment with trimethoprim-sulfamethoxazole in Whipple's disease. *The British Infection Association* 2013; **66**: 263–70.
46. Feurle GE, Marth T. *An Evaluation of Antimicrobial Treatment for Whipple's Disease Tetracycline versus Trimethoprim-Sulfamethoxazole.* 1994.

Bijlagen

Bijlage 1


Flowchart diagnostiek klassieke vorm van de ziekte van Whipple



Flowchart diagnostiek chronisch gelokaliseerde vorm van de ziekte van Whipple



Bijlage 2

 Nationaal referentielaboratorium voor <i>Tropheryma whipplei</i> Gelieve dit formulier samen met het staal op te sturen: OLV Ziekenhuis – Laboratoriumgeneeskunde microbiologie Moorselbaan 164, 9300 Aalst Tel.: 053/724274 / Fax: 053/724588																																	
<p style="text-align: center;">Gegevens doorsturend laboratorium</p> Naam verantwoordelijke: Naam laboratorium: Adres: Tel: Fax: E-mail:	<p style="text-align: center;">Gegevens over het staal</p> Naam aanvragende arts: RIZIV-nummer aanvragende arts: <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">Staaltype</th> <th style="width: 25%;">Staalnummer</th> <th style="width: 25%;">Datum</th> <th style="width: 25%;">Resultaat PAS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Faeces</td> <td></td> <td></td> <td>Nvt.</td> </tr> <tr> <td>Speeksel</td> <td></td> <td></td> <td>Nvt.</td> </tr> <tr> <td>Urine</td> <td></td> <td></td> <td>Nvt.</td> </tr> <tr> <td>Biopst duodenum*</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>CSV (min 500µL)</td> <td></td> <td></td> <td>Nvt.</td> </tr> <tr> <td>Biopst hartklep*</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Andere:</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">*Biopst: geen fixatie of paraffine, evt. in fysiologisch water</p>	Staaltype	Staalnummer	Datum	Resultaat PAS	Faeces			Nvt.	Speeksel			Nvt.	Urine			Nvt.	Biopst duodenum*				CSV (min 500µL)			Nvt.	Biopst hartklep*				Andere:			
Staaltype	Staalnummer	Datum	Resultaat PAS																														
Faeces			Nvt.																														
Speeksel			Nvt.																														
Urine			Nvt.																														
Biopst duodenum*																																	
CSV (min 500µL)			Nvt.																														
Biopst hartklep*																																	
Andere:																																	
<p style="text-align: center;">Gegevens over de patiënt</p> Naam: Geslacht: <input type="checkbox"/> Man <input type="checkbox"/> Vrouw <input type="checkbox"/> Andere Geboortedatum: Adres: Nationaliteit: Beroep:	<p style="text-align: center;">Bijkomende gegevens</p> Wordt de patiënt reeds behandeld met antibiotica? <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Neen <input type="checkbox"/> Onbekend Indien ja, welke groep; <input type="checkbox"/> Cefalosporines <input type="checkbox"/> Hydroxychloroquine <input type="checkbox"/> Co-trimoxazol <input type="checkbox"/> Tetracyclines <input type="checkbox"/> Andere:..... Antitibioticum: Van tot.....																																
<p style="text-align: center;">Klinische gegevens</p> Is de patiënt opgenomen : <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Neen <input type="checkbox"/> Onbekend Zo ja, afdeling: Klinische presentatie: <input type="checkbox"/> (Vermoeden) klassieke ziekte van Whipple <input type="checkbox"/> Vermoeden van neuro-Whipple <input type="checkbox"/> (Vermoeden) gelokaliseerde chronische infectie Lokalisatie:..... Symptomen: <input type="checkbox"/> Artralgieën <input type="checkbox"/> Vermagering <input type="checkbox"/> Koorts <input type="checkbox"/> Vermoeidheid <input type="checkbox"/> Diarree <input type="checkbox"/> Neurologische klachten <input type="checkbox"/> Andere gastro-intestinale klachten <input type="checkbox"/> Andere : Datum begin van de symptomen:	<p style="text-align: center;">Bijkomende diagnostiek</p> Voorgaande stalen: <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Neen <input type="checkbox"/> Onbekend Staalsoort: PAS-kleuring: <input type="checkbox"/> Positief <input type="checkbox"/> Negatief <input type="checkbox"/> Onbekend PCR: <input type="checkbox"/> Positief <input type="checkbox"/> Negatief <input type="checkbox"/> Onbekend Resultaat andere onderzoeken (echocor, gastroscopie...)																																
<p style="text-align: center;">Uitgevoerde analyse</p> PCR <i>T. whipplei</i> ■ Facturatie aan het aanvragend laboratorium: 65 euro eenmalig aangerekend per patiënt per drie maand TAT: max. 14 dagen																																	