

UTILIDAD DE LA PCR PARA EL DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE WHIPPLE. ESTUDIO DE 11 CASOS.

I.de Torres, J.Pallarés, J.Castellví, J.de la Torre, A.Mas, A.Colomer*, M.Guix*
 Anatomía Patológica Hospitals Vall d'Hebron, *BIOPAT. Grup Assistència. Barcelona.

Introducción:

La enfermedad de Whipple es una enfermedad sistémica ocasionada por un actinomiceto denominado *Tropheryma whippelii*. Se caracteriza clínicamente por un cuadro de diarrea, malabsorción, dolor abdominal, pérdida de peso, artralgias, adenopatías, y ocasionalmente síntomas neurológicos.

Tradicionalmente se ha diagnosticado por la presencia de macrófagos PAS + en biopsias endoscópicas duodenales y por estudios de microscopía electrónica que muestran formas bacilares en el citoplasma de los macrófagos. Recientemente se ha extendido el uso de la PCR para la detección del microorganismo, utilizándose como herramienta para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes post-tratamiento.

Se ha detectado la presencia de *T. whippelii* como flora comensal en saliva y en biopsias intestinales y jugos gástricos de personas sanas, hecho que cuestiona el uso de la PCR para el diagnóstico de la enfermedad de Whipple en casos que no presenten una clínica y una histología compatible.

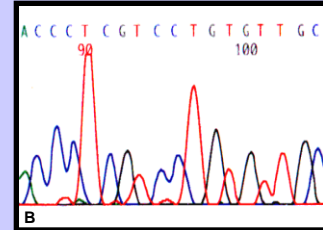
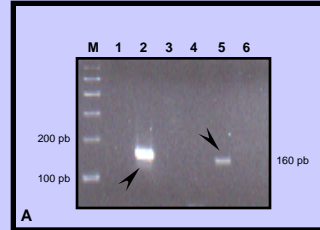


Figura A. Electroforesis en gel de agarosa para visualizar los productos de PCR. Las bandas corresponden al fragmento de amplificación de 160 pares de bases del rRNA 16S de *Tropheryma whippelii*.

M: 100bp ladder
 1 y 6: columnas de control negativo
 2 y 5: casos positivos
 3 y 4: casos negativos

Figura B. Secuenciación directa de un caso positivo por PCR. El electroferograma pone de manifiesto la región de 18 nucleótidos específica de *Tropheryma whippelii*. (Genbank Accession Number: 87484)

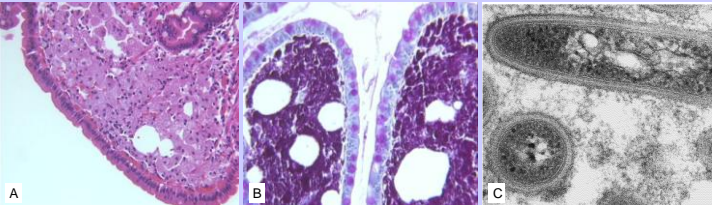


Figura A. Biopsia duodenal. Macrófagos en lámina propia. H-E (250x).

Figura B. Presencia de macrófagos PAS + (diastasa resistente). (250x).

Figura C. Formas bacilares dentro de vesículas en el citoplasma de los macrófagos. ME (60.000x)

Objetivos:

- 1- Confirmar la mayor sensibilidad de la PCR para el diagnóstico de la enfermedad de Whipple en enfermos con sospecha clínica e histología no diagnóstica.
- 2- Valorar su utilidad para el seguimiento y monitorización de los pacientes tras el tratamiento antibiótico.

Material y métodos:

Se han examinado las biopsias endoscópicas de 11 pacientes con sospecha clínica de enfermedad de Whipple, realizándose tinción de rutina con H-E, tinción de PAS y PAS diastasa, y estudio de PCR en el tejido parafinado. En un caso también se realizó PCR en el líquido de una articulación clínicamente afectada por la enfermedad.

El método empleado de PCR comprendió la amplificación de un fragmento de 160 pb de la secuencia del rRNA 16S propia de *T. whippelii*, mediante la utilización de los primers específicos: W3AF y W4AR. El estudio específico se realiza tras la verificación rutinaria de la calidad de DNA genómico por amplificación de un fragmento de 268 pb del gen de la β -globina humana.

La comprobación de especificidad del producto de amplificación se realizó mediante secuenciación directa.

Resultados:

En 5 casos la biopsia fue diagnóstica. En 3 de los casos, la morfología era inespecífica. La PCR resultó positiva en todas estas muestras, siendo en un caso determinada a partir del líquido articular.

La PCR resultó negativa en dos casos con sospecha clínica de Whipple cuyas biopsias no mostraban lesiones morfológicas, y en otro caso con biopsia sospechosa, pero no concluyente de enfermedad de Whipple.

Se realizó biopsia postratamiento en uno de los casos, siendo la PCR negativa a pesar de la persistencia de macrófagos residuales en la mucosa intestinal.

Discusión:

La detección de *Tropheryma whippelii* en la saliva y en jugos gástricos de personas sanas, así como en biopsias duodenales de pacientes afectados de otras patologías ha hecho que algunos autores (Ehrbar y cols.), se cuestionen el uso de la PCR para el diagnóstico de enfermedad de Whipple en ausencia de una clínica y/o histología compatible.

Por otra parte existen otros estudios que muestran series de PCR negativas realizadas en pacientes sanos, en biopsias practicadas por otras patologías, y en enfermos con sospecha de enfermedad de Whipple con histología inespecífica. Según estos autores (Relman y cols.) la presencia del microorganismo es específica de tejidos con demostración histológica de enfermedad de Whipple.

En nuestro estudio hemos hallado casos que mostraban histología inespecífica cuyos resultados obtenidos mediante PCR demostraron la presencia de TW.

Conclusiones:

1. Nuestros resultados apoyan el uso de la PCR para el diagnóstico de enfermedad de Whipple en casos con clínica compatible e histología inespecífica.
2. La PCR también es útil para el seguimiento de los pacientes, cuando se negativiza tras el tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA:

- von Herbay A, Otto HF, Stolte M, Borchard F, Kirchner T, Ditton HJ, et al. Epidemiology of Whipple's disease in Germany. Analysis of 110 patients diagnosed in 1965-95. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:52-7.
- Ramzan NN, Loftus E, Burgart LJ, Rooney M, Batts KP, Wiesner RH. Diagnosis and monitoring of Whipple's disease by polymerase chain reaction. *Ann Inter Med* 1997;126:520-7.
- Street S, Donoghue HD, Neild GH. *Tropheryma Whippelii* DNA in saliva of healthy people (letter). *Lancet* 1999;354:1178-79.
- Ehrbar HU, Bauerfeind P, Dutly F, Koelz HR, Altwegg M. PCR-positive tests for *Tropheryma whippelii* in patients without Whipple's disease. *Lancet* 1999;353:2214.
- Relman DA, Maiwald M, von Herbay A, Persing DH. *Tropheryma Whippelii* DNA is rare in the intestinal mucosa of patients without other evidence of Whipple's disease. *Ann Inter Med* 2001;134:115-119.