

Aus der Infektiologie der Medizinischen Klinik für Gastroenterologie, Infektiologie und
Rheumatologie der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

*Wertigkeit histologischer und molekularbiologischer Untersuchungen bei Diagnose und im
Therapieverlauf des Morbus Whipple*

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Gabriel Offenmüller

aus Dresden

Datum der Promotion: 13.12.2019

Vorwort

Teile aus dieser Monographie sind bereits vorab veröffentlicht worden: *Günther U, Moos V, Offenmüller G, Oelkers G, Heise W, Moter A, Loddenkemper C, Schneider T. Gastrointestinal diagnosis of classical Whipple disease: clinical, endoscopic, and histopathologic features in 191 patients. Medicine (Baltimore) 2015;94(15):e714.*

Diesbezüglich siehe auch Anteilserklärung nach der Eidesstattlichen Versicherung.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	1
Zusammenfassung.....	3
Abstract.....	4
1 Einleitung.....	6
1.1 Namensgebung, Historie der Entdeckung des Morbus Whipple und Erreger.....	6
1.2 Epidemiologie.....	7
1.3 Pathogenese.....	8
1.3.1 Verbreitung von <i>T. whipplei</i>	8
1.3.2 Keiminokulation.....	8
1.3.3 Pathogenität.....	9
1.4 Manifestationsformen der Infektionen mit <i>T. whipplei</i>	9
1.4.1 Asymptomatische Trägerschaft.....	10
1.4.2 Selbstlimitierte Infektionen.....	10
1.4.3 Chronische Infektionen.....	11
1.4.3.1 Wichtige isolierte Manifestationen.....	11
1.4.3.2 Systemische Infektion und klassischer M. Whipple.....	12
1.5 Symptomatik des systemischen M. Whipple.....	12
1.5.1 Gastrointestinale Symptome.....	13
1.5.2 Extraintestinale Symptome.....	14
1.5.2.1 Gelenke.....	14
1.5.2.2 ZNS.....	14
1.5.2.3 Herz.....	15
1.5.2.4 Lymphknoten.....	15
1.5.2.5 Labor.....	15
1.5.2.6 Weitere Organbefunde.....	16

1.6	Immunologie und Genetik	16
1.6.1	Immunpathogenese.....	16
1.6.2	Bedeutung genetischer Risikofaktoren.....	18
1.7	Diagnostik heute	18
1.7.1	Diagnostik im Gastrointestinaltrakt	19
1.7.1.1	Makroskopie	19
1.7.1.2	Histologie, Molekularbiologie, Immunhistochemie	19
1.7.2	Diagnostik im ZNS und anderen Organsystemen	21
1.7.3	Kultur, Serologie und Stuhl Diagnostik	21
1.8	Differentialdiagnosen	22
1.9	Therapie und Prognose	23
1.10	Komplikationen	25
1.11	Zielsetzung.....	26
2	Methodik	27
2.1	Befunderhebung.....	28
2.2	Patientenzahlen.....	28
2.3	Falldefinitionen.....	28
2.4	Ablauf und Interpretation zur Diagnosestellung	29
2.4.1	Procedere im Gastrointestinaltrakt	29
2.4.2	Diagnostik anderer Organsysteme	31
2.4.3	Initiale ZNS-Diagnostik	32
2.5	Diagnoseschema	33
2.6	Kontrolluntersuchungen im Therapieverlauf.....	34
2.7	Statistik	34
3	Ergebnisse	35
3.1	Diagnose	35
3.1.1	Patientenkollektiv und klinische Befunde.....	35

3.1.2	Paraklinik	38
3.1.2.1	Gastrointestinaltrakt.....	38
3.1.2.2	Liquor-PCR.....	43
3.1.3	Wertigkeiten der Diagnostik und Vergleiche.....	43
3.1.4	Atypische Patienten.....	47
3.1.5	Die Entität des M. Whipple.....	51
3.1.6	Therapien.....	52
3.1.7	Auswertung des Therapieverlaufes	53
3.2	Therapieverlauf.....	54
3.2.1	Exemplarischer Verlauf bei klassischem M. Whipple	54
3.2.2	Detaillierte Verlaufsbeobachtung	56
3.2.2.1	Histologie und Molekularbiologie	56
3.2.2.2	IHC.....	64
3.2.2.3	Liquor.....	64
3.2.3	Komplikationen.....	67
3.2.3.1	Tödliche Verläufe, IRIS und Rezidive/Persistenz	67
3.2.3.2	Spätkomplikationen > 36 Monate.....	70
3.2.4	Abweichende CWD-Verläufe im GI-Trakt und atypische Patienten.....	70
3.2.4.1	CWD-Verläufe gastrointestinal	71
3.2.4.2	Vorbehandelte Patienten	72
3.2.4.3	Atypische Patienten	73
4	Diskussion.....	75
4.1	Diagnose	75
4.1.1	Patienten und klinische Befunde	75
4.1.2	Paraklinik und Zusammenhänge	76
4.1.3	Definition der Entität des M. Whipple	80
4.2	Verlauf und Übersicht	81

4.2.1	Komplikationen vs. protrahierte Verläufe, Spätrezidive.....	84
4.2.2	Kontrollempfehlungen	86
4.3	Studienlimitierungen und Fehlermöglichkeiten	88
4.4	Untersuchungsbedarf und ungeklärte Fragen	89
5	Literaturverzeichnis.....	93
	Curriculum Vitae.....	102
	Publikationsliste	103
	Eidesstattliche Versicherung	104
	Danksagung.....	106

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Stufenschema zur Diagnose des M. Whipple	33
Abbildung 2: Unterschiedliche makroskopische Befunde im Duodenum bei Diagnosestellung .	41
Abbildung 3: Histologische Befunde im Duodenum bei M. Whipple mittels PAS-Färbung (A, C, E, G) und spezifischer IHC (B, D, F, H)	42
Abbildung 4: Neurologische Beschwerden vs. Liquorbefunde	46
Abbildung 5: Gliederung und Abstufungen des M. (Morbus) Whipple	51
Abbildung 6: Art und Dauer der durchgeführten Therapien	53
Abbildung 7: Exemplarischer Therapieverlauf eines Patienten unter Ceftriaxon und 3 Monaten Cotrimoxazol von Baseline bis 36 Monate	55
Abbildung 8: Übersicht über den histologischen Verlauf (PAS-Färbung) im Dünndarm im Therapieverlauf bei M. Whipple	57
Abbildung 9: Molekularbiologischer Verlauf bei M. Whipple unter Therapie	58
Abbildung 10: Schwerwiegende Komplikationen bis Visit 5 (36 Monate)	67
Tabelle 1: Die häufigsten Symptome von Patienten mit einem klassischen M. Whipple	13
Tabelle 2: Patientendaten und klinische Befunde bei Diagnose (n=191)	36
Tabelle 3: Beobachtungszeit in Monaten	37
Tabelle 4: Gastroskopisch gewonnene Befunde bei Diagnose (n=190)	38
Tabelle 5: Liquor-Punktionen vor geplanter Therapie	43
Tabelle 6: Wertigkeit histologischer Untersuchungen/PCR nach gastrokopischen Biopsien bei Patienten mit M. Whipple	43
Tabelle 7: Gegenüberstellung auffälliger bzw. positiver Befunde	44
Tabelle 8: Klinische Befunde vs. Histologie/Molekularbiologie im Gastrointestinaltrakt	45
Tabelle 9: 18 atypische Patienten, duodenaler Befund, Liquorergebnis und ggf. weitere Manifestationen	48
Tabelle 10: Verlauf der histologischen (mittels PAS-Ergebnissen nach von Herbay) und molekularbiologischen Befunde unter der Therapie	60
Tabelle 11: PAS-Befunde im Therapieverlauf	61

Tabelle 12: PCR-Verlauf mit allen Befunden vs. PCR-Verlauf der Patienten mit Baseline-Befund	63
Tabelle 13: Verlauf der 56 Patienten mit initial positivem Liquor-Befund	66
Tabelle 14: Ursachen Whipple-assoziiertes Todesfälle	68

Zusammenfassung

Einleitung: Morbus (M.) Whipple und Tropheryma (T.) whipplei - eine seltene chronisch verlaufende Infektionskrankheit und ihr Verursacher. Hauptsymptome sind Gelenkbeschwerden, Durchfall und Gewichtsverlust oder Manifestationen im zentralen Nervensystem (ZNS). In der Diagnostik haben sich unterschiedliche Verfahren entwickelt, deren Wertigkeit hier untersucht wird: histologische Untersuchungen wie die PAS-Reaktion (Perjodsäure-Schiff-Reaktion), molekularbiologische mit der PCR (Polymerase-Kettenreaktion) und immunhistochemische Methoden (IHC). Die Durchführung und Bewertung der anschließenden Therapiekontrollen ist auch bis heute nicht einheitlich geregelt.

Methoden: In der vorliegenden Arbeit wird an einer Kohorte von 191 Patienten die Diagnostik u.a. im Gastrointestinaltrakt und ZNS aufbereitet. Dafür wurden an solidem Gewebe makroskopische, histologische, molekularbiologische sowie immunhistochemische Methoden und bei Flüssigkeiten wie dem Liquor die PCR eingesetzt, um diese bei der Diagnosestellung und im Therapieverlauf über einen Beobachtungszeitraum von 36 Monaten auszuwerten und zu vergleichen.

Ergebnisse: Die häufigste klinische Symptomatik mit 76,4% (146/191) der Patienten betrifft den Gastrointestinaltrakt in Form von Diarrhoe/Malabsorption. Nur 26,3% der gastroskopierten Patienten (50/190) zeigten im Dünndarm makroskopische Auffälligkeiten. Dennoch war bei 92,6% (176/190) aller Patienten die histologische Untersuchung in Form der PAS-Färbung für die Diagnose wegweisend. Zur sicheren Diagnosestellung kommen die PCR-Untersuchung oder die IHC als Bestätigung zur Anwendung. In der ZNS-Diagnostik waren 26,6% der Patienten (25/94) ohne entsprechende Symptomatik in der PCR positiv. Patienten mit atypischen Befunden erfordern ein spezifisch erweitertes Diagnose- und Verlaufsschema.

Im Therapieverlauf zeigt sich die PAS-Untersuchung gastrointestinaler Biopsien durch die zugrunde gelegten Gradationen nach von Herbay den anderen Untersuchungen überlegen. Der PCR kann jedoch zumindest in der ersten Verlaufskontrolle (nach 6 Monaten) ein ergänzender Stellenwert zugeschrieben werden. Im Beobachtungszeitraum kam es bei insgesamt 5,2% der Patienten (10/191) zu Whipple-assoziierten Todesfällen, davon waren 40% (4/10) mit ZNS-Befall assoziiert.

Schlussfolgerung: Ein Ergebnis in der PAS-Untersuchung vom Typ I nach von Herbay im Duodenum zeigt sich als charakteristisch für einen klassischen M. Whipple (CWD). In der Diagnostik und im Therapieverlauf hat die PAS-Untersuchung den höchsten Stellenwert. Bei den

organbedingten Komplikationen hat das ZNS aufgrund der Häufigkeit und Konsequenzen die höchste Priorität, eine Liquor-PCR sollte vor Therapiebeginn erfolgen und im positiven Fall zumindest nach 6-12 Monaten ab Therapiebeginn kontrolliert werden. Auffällige Befunde im Gastrointestinaltrakt in den Therapiekontrollen, z.B. 6 und 18 Monate nach Therapiebeginn, haben in der Regel nur bei entsprechender Klinik eine therapeutische Konsequenz. Patienten, die an einem M. Whipple erkranken, sollten von erfahrenen Therapeuten betreut und lebenslang angebunden werden, nicht zuletzt wegen der langwierigen Behandlung, der Gefahr von Komplikationen und von Spätrezidiven.

Abstract

Introduction: Whipple's disease (WD) and Tropheryma (T) whipplei - a rare chronic infectious disease and its agent. WD primarily causes arthralgia, diarrhea, weight loss or central nervous system (CNS) manifestations. This thesis investigates different diagnostic methods such as periodic-acid Schiff (PAS) staining, polymerase chain reaction (PCR) and T whipplei-specific immunohistochemistry (IHC). The implementation and evaluation of a follow-up monitoring during therapy has not yet been regulated.

Methods: from a cohort of 191 patients different diagnostic procedures in the gastrointestinal tract and CNS were compared. Histological examinations while using PAS staining, PCR and IHC for solid tissues as well as PCR for fluids, e.g. liquor (CSF), were analyzed. Data was correlated for an observation period of 36 months starting at diagnosis and in the course of therapy.

Results: the main clinical manifestation affects with 76.4% (146 of 191 patients) the gastrointestinal tract. During gastroscopy, only 26.3% (50 of 190 patients) showed abnormal macroscopic findings in the small intestine. Nevertheless, in 92.6% (176 of 190 patients) PAS staining is the key to diagnosis. To confirm a reliable diagnosis PCR or IHC are used. T whipplei-specific PCR of CSF was positive in 26.6% (25 of 94 patients) without patients having appropriate symptoms. Patients with atypical findings need a specific procedure for diagnosis and to monitor treatment. In the course of therapy PAS staining of gastrointestinal biopsies, as described by von Herbay, proves to be superior to other examinations. However for the first control of therapy PCR can be taken into consideration for additional significance. During the observation period, 5.2%

of deaths were associated with WD (10 of 191 patients), in 40% (4 of 10 patients) the CNS was involved.

Conclusion: a positive duodenal PAS reaction, classified as subtype 1 according to von Herbay, is characteristic for classical WD. PAS staining has the highest relevance both for diagnosis and therapy control. The CNS should be given the highest priority concerning complications because of the consequences and the frequency of occurrence. Before starting treatment, PCR of CSF should be carried out. A positive result should be controlled in the course of treatment.

Noticeable therapy follow-up findings in the gastrointestinal tract only have therapeutic consequences if accompanied by symptoms. In conclusion, patients suffering from WD should remain under the care of experienced physicians. In regards to the prolonged treatment, ideally patients should be attended lifelong, especially due to the risk of complications and late relapses.

1 Einleitung

1.1 Namensgebung, Historie der Entdeckung des Morbus Whipple und Erreger

Der klassische Morbus (M.) Whipple (classical Whipple's disease = CWD) oder „intestinale Lipodystrophie“ ist die systemische chronisch verlaufende Infektion mit Tropheryma (T.) whipplei, die u.a. den Gastrointestinaltrakt, Gelenke und das zentrale Nervensystem befallen kann (1; 2; 3).

Die chronischen Infektionen mit T. whipplei können nach heutigem Stand systemisch oder isoliert auftreten. Über die Definitionen der verwendeten Bezeichnungen bzw. Kriterien besteht aktuell jedoch keine Einigkeit.

Der erste Patient wurde 1895 durch Allchin und Hebb (4) beschrieben, jedoch ohne zu erkennen, dass es sich dabei um eine neue Krankheitsentität handelte. Dies gelang dann 1907 George Hoyt Whipple (5). Er schlug die Bezeichnung „intestinale Lipodystrophie“ vor. Seine Vermutung, dass es sich dabei um eine Infektionskrankheit handelte, konnte jedoch erst Mitte des 20. Jahrhunderts bewiesen werden.

Ein nächster Schritt auf dem Weg zur Identifizierung des Krankheitsauslösers gelang 1949 Black-Schaffer mit der Beobachtung, dass die PAS-Färbung („periodic acid-Schiff“) zur Diagnosefindung genutzt werden kann (6) bzw. 1950 mit dem histologischen Nachweis, dass die schaumigen Makrophagen in der Lamina propria des Dünndarmes Diastase-resistent und in der PAS-Färbung positiv sind (7). Erst Ende der 1950er-Jahre jedoch wurde Material zur histologischen Untersuchung nicht nur post mortem bzw. offen chirurgisch gewonnen, sondern peroral (8).

Durch die erste erfolgreiche systemische Antibiotikaaanwendung 1952 (9) und die elektronenmikroskopische Darstellung des Erregers 1961 (10) bestätigte sich die Vermutung von George Whipple. Der Beweis und die Identifizierung des bis dahin auf künstlichen Nährböden nicht anzüchtbaren Bakteriums gelang erst 1992 durch Amplifizierung einer einzigartigen aus 1321 Basen bestehenden bakteriellen 16S-rRNA-Sequenz (11). Dadurch konnte eine phylogenetische Klassifizierung (Familie der *Cellulomonadaceae*) zur Gattung der Actinomycetales erfolgen.

Relman et al. schlugen 1992 den Namen *T. whippelii* vor, der 2001 von La Scola in grammatikalisch korrektes Latein zu *T. whipplei* berichtigt wurde (12). Das griechische Wort Tropheryma leitet sich aus zwei verschiedenen ab: „trophe“ = Ernährung und „eryma“ = Schranke, Barriere. Dies deutet auf die beim *M. Whipple* häufig anzutreffende Malabsorption hin (13).

Die Bakterienart *T. whipplei* ist stäbchenförmig, hat eine Länge von etwa 2µm, weist eine feste Zellwand auf, ist grampositiv und nicht säurefest. Elektronenoptisch weist *T. whipplei* eine ungewöhnliche, dreischichtige Zellmembran auf, wobei die innerste Schicht aus Polysacchariden besteht und wahrscheinlich für die positive PAS-Reaktion verantwortlich ist.

Erste Erfolge in der Kultivierung Ende der 90er-Jahre des vergangenen Jahrhunderts gelangen zunächst in nicht permanenten Kulturen von mit IL-4- und IL-10-deaktivierten Makrophagen (14). Im Jahr 2000 konnte durch die erste stabile Kultivierung nach Isolation aus einer infizierten Mitralklappe in humanen Fibroblasten das Genom vollständig sequenziert werden (15).

Die Inkubationszeit zum Erhalt positiver Zellkulturen dauerte 285 Tage. Die Verdopplungszeit von *T. whipplei* wurde auf 18 Tage geschätzt, mit dieser Generationszeit ist es eines der am langsamsten wachsenden humanpathogenen Bakterien (15) (6 Tage länger als die von *Mycobacterium leprae*) (16).

Nach diesem Durchbruch im Jahr 2000 gelang unabhängig voneinander im Jahre 2003 Bentley (17) und Raoult (18) die vollständige Sequenzierung des Genoms von *T. whipplei*. Damit konnten Antibiotikaresistenzen besser untersucht (19), etliche weitere Stämme detektiert (20) und die Diagnostik weiterentwickelt werden.

Insbesondere die Sensitivität und die Variationen der molekularbiologischen PCR-Untersuchungen („polymerase chain reaction“) konnten erhöht (21; 22; 23) sowie sensitive und spezifische immunhistochemische Untersuchungen entwickelt werden (24). Die kontinuierliche Weiterentwicklung der Methoden ist Gegenstand aktueller Untersuchungen.

1.2 Epidemiologie

Genaue Zahlen zur Inzidenz des *M. Whipple* liegen aufgrund fehlender systematischer, epidemiologischer Studien nicht vor. Fenollar et al. schätzen sie auf ca. 1:1.000.000 (25). In Deutschland werden pro Jahr ca. 30 neue Fälle diagnostiziert (Inzidenz ca. 0,4/1.000.000 Einwohner) (26).

Die Erkrankung tritt weltweit auf, befällt jedoch vorwiegend kaukasische Männer, die Diagnosestellung erfolgt meist in einem Alter von 30 bis 60 (Schnitt ca. 55) Jahren (27; 28; 29). In Dobbins' Publikation 1987 (27) lag der Männeranteil bei 7-8:1 (574 von 664 Patienten waren Männer), in den vergangenen Jahren hat sich der Frauenanteil jedoch deutlich erhöht (keine systematischen epidemiologischen Studien vorliegend), der Männeranteil scheint nur noch etwa bei 2-3:1 zu sein (2).

1.3 Pathogenese

1.3.1 Verbreitung von *T. whipplei*

Nach seiner späten Identifizierung ging man lange Zeit nur von einer Assoziation zum seltenen „klassischen“ M. Whipple aus. Nicht zuletzt durch neuere diagnostische Methoden konnte jedoch eine deutlich größere Bedeutung des Bakteriums gezeigt werden, deren Relevanz jedoch uneinheitlich bewertet wird:

Die DNA von *T. whipplei* konnte in Kläranlagen und auch in Abwässern landwirtschaftlicher Betriebe nachgewiesen werden (30). Neben dem Vorkommen beim Menschen wurde bzw. wird ein weitverbreitetes Vorkommen beispielsweise als Umweltkeim angenommen, ist bislang aber nicht belegt worden.

Im Rahmen der Untersuchungen für die erste erfolgreiche Kultivierung von *T. whipplei* mittels einer humanen Fibroblastenlinie wiesen auch drei Viertel einer Gruppe von Normalpersonen IgG-Antikörper gegen *T. whipplei* auf (15).

1.3.2 Keiminokulation

Kläranlagen bzw. Abwässer werden als mögliche Infektionsquellen angenommen (30), der kausale Bezug zu menschlichen Ausscheidungen oder eine andere Herkunft ist jedoch nicht eindeutig nachvollzogen. Eine Übertragung durch Tiere bzw. ein Reservoir im Tierreich ließ sich bis heute nicht nachweisen, kann jedoch nicht sicher ausgeschlossen werden.

Der Kontakt mit dem Erreger findet wahrscheinlich im frühen Kindesalter statt (31; 32), in der Regel kommt es durch die Auseinandersetzung mit dem Immunsystem zu einer suffizienten

zellulären und humoralen Immunabwehr ohne zu einer Infestation bzw. chronischen Infektion zu führen (31; 33; 34).

1.3.3 Pathogenität

Durch Kultivierung und Sequenzierung konnten zahlreiche Stämme des Bakteriums charakterisiert werden. Bisherige Untersuchungen ergaben jedoch keine Hinweise, dass der Genotyp des Erregers die Manifestation oder den Verlauf der Infektion beeinflusst (20).

T. whipplei zeigt sich gegenüber Umwelteinflüssen sehr widerstandsfähig, wodurch seine Überlebensfähigkeit außerhalb eines Wirtsorganismus begünstigt wird (13). Ein Beleg seiner Widerstandsfähigkeit zeigt sich auch in der Resistenz gegenüber dem Mikrobiozid Glutaraldehyd (35).

Die folgenden Eigenschaften deuten mehr auf eine parasitäre als eine mutualistische Lebensweise hin (unabhängig von bestimmten Genotypen): Das Bakterium hat eine reduzierte Genomgröße, die Proteinbiosynthese ist vergleichbar mit anderen intrazellulär lebenden Bakterien, wichtige Stoffwechselwege für Aminosäuren fehlen (18).

In Bezug auf die Pathogenität für Tiere konnte gezeigt werden, dass *T. whipplei* zwar auf Mäuse übertragen werden kann, diese jedoch nicht erkranken bzw. sich der Erreger nicht wie beim Menschen vermehrt (13).

T. whipplei bietet dennoch ein breites Spektrum an Pathogenität, dessen letztendliches Erscheinungsbild von vielen bekannten und noch unbekanntem Faktoren abhängt.

Dabei spielen auch genetische Prädispositionen eine Rolle (36; 37).

1.4 Manifestationsformen der Infektionen mit *T. whipplei*

In den letzten Jahren wurde dank weiterer diagnostischer Fortschritte deutlich, dass die Aufnahme des Erregers jedoch vergleichsweise selten einen chronischen *M. Whipple* zur Folge hat. *T. whipplei* wird deutlich häufiger im Stuhl von Kindern mit akuter Gastroenteritis, bei verschiedenen selbstlimitierenden Infektionen des Gastrointestinal- und Bronchialtraktes, bei symptomlosen Ausscheidern, aber auch als Ursache anderer Erkrankungen wie der isolierten Endokarditis nachgewiesen (13).

1.4.1 Asymptomatische Trägerschaft

Eine asymptomatische Trägerschaft von *T. whipplei* ist mit hygienischen Bedingungen assoziiert. So konnten viele Träger bei Klärwerksarbeitern in Frankreich bzw. Österreich nachgewiesen werden (30; 38). Die Trägerschaft tritt auch gehäuft in Familien von Patienten mit *M. Whipple* auf (39).

Daher wurde eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung fäkal-oral durch Verdauungssekrete angenommen (31), möglicherweise vermehrt unter schlechten hygienischen Bedingungen (13), oder oral über z.B. kontaminiertes Wasser. In ländlichen Regionen des Senegal konnte nachgewiesen werden, dass im Schnitt 31 % der gesunden Untersuchten von 0–99 Jahren *T. whipplei* mit dem Stuhl ausschieden, wobei Kinder zwischen 0 und 4 Jahren mit 75 % die höchste Rate an Ausscheidern aufwiesen (31).

Dagegen fand sich in gesunden Kontrollen aus Frankreich DNA von *T. whipplei* nur in seltenen Fällen in Stuhlproben, Zahnplaque und Speichel (38).

Die Bakterienlast, die mittels quantitativer Real-time-PCR nachgewiesen wurde, war bei den asymptomatischen Trägern sowohl im Stuhl als auch im Speichel signifikant niedriger als bei Patienten, die am klassischen *M. Whipple* erkrankten (38).

1.4.2 Selbstlimitierte Infektionen

Eine französische Studie wies den Erreger bei 15 % der teilnehmenden Kleinkinder mit Gastroenteritis nach (32). Beim größten Teil der Betroffenen wurde *T. whipplei* als einziges potenzielles Pathogen gefunden (32). Trotzdem ist ein direkter kausaler Zusammenhang zwischen dem Nachweis von *T. whipplei* und der Gastroenteritis noch nicht erbracht (13).

In bronchio-alveolären Lavagen von Patienten mit Lungenentzündungen wurde in 3 % ebenfalls die DNA von *T. whipplei* nachgewiesen: 5 der insgesamt 6 Patienten wiesen allerdings zusätzlich zu *T. whipplei* auch andere Erreger auf (40). Bei HIV-infizierten Patienten lag mit 13 % eine deutlich höhere Prävalenz vor (41). Bei afrikanischen Patienten mit Fieber wurde in 6 % eine Bakteriämie mit *T. whipplei* nachgewiesen, die mit Husten assoziiert zu sein schien (42).

Insgesamt scheinen akute Infektionen mit *T. whipplei* sehr viel häufiger als chronische (systemische) zu sein.

1.4.3 Chronische Infektionen

Eine relevante (chronische) Infektion scheint nur bei Trägern mit entsprechender Prädisposition zu entstehen (13). Prinzipiell kann dabei jedes Organ sowohl bei der systemischen Variante als auch isoliert betroffen sein. Neben den isoliert bzw. systemisch chronischen Infektionen gibt es aber auch Übergänge von einer isolierten in eine systemische Form bzw. treten systemische Befunde verzögert auf oder können verzögert nachweisbar sein.

1.4.3.1 Wichtige isolierte Manifestationen

Die häufigeren und aufgrund der Organrelevanz und des Verlaufes wichtigsten isolierten Organmanifestationen betreffen Gelenke (43), das ZNS (2; 3) und das Herz (44). In seltenen Fällen treten isolierte Infektionen der Augen, Lunge, Niere, Haut, Lymphknoten (oft als mesenteriale Lymphadenopathie) oder anderer Organe auf (2; 44). Systematische epidemiologische Studien zu isolierten Manifestationen liegen aus genannten und noch erläuterten Gründen nicht vor. Die Inzidenz der isolierten Whipple-Endokarditis könnte möglicherweise unterschätzt werden (45), sie könnte ähnliche Zahlen wie der klassische M. Whipple aufweisen. In einer systematischen Untersuchung an zwei deutschen Universitäten konnte bei gut 6 % (16/255 Patienten) der bakteriellen Endokarditiden T. whipplei an explantierten Herzklappen nachgewiesen werden (46). Nur Streptokokken, Staphylokokken und Enterokokken waren häufiger, unter den schwer kultivierbaren bzw. kultur-negativen war T. whipplei der häufigste Erreger (46). Typisch ist der Befall der Mitral- und Aortenklappe (47). Der Klappenbefall kann zur Klappeninsuffizienz führen und eine operative Sanierung nötig machen (26; 48). Die Form der Klappenentzündung kann der langsam progressiven Coxiella-burnetii- oder auch der Bartonellen-induzierten Endokarditis ähneln (49). Durch den fehlenden direkten Erregernachweis mittels Blutkulturen als ein Hauptkriterium nach den Duke-Kriterien (50; 51) in der entsprechenden Endokarditisdiagnostik (46) wird die Diagnose auch vorwiegend an explantierten Herzklappen gestellt (13). Ein Klappenbefall kann jedoch auch bei einem systemischen M. Whipple auftreten (13). Kultur-negative Endokarditiden machen 2,5-31% aller Endokarditis-Fälle aus (52), in einer französischen Untersuchung beispielsweise war bei 2,6% aller kultur-negativen Endokarditiden T. whipplei nachweisbar (49; 53). Diese Differenzen liegen u.a. in großen Unterschieden bei den Diagnosekriterien begründet (52).

Die Schwierigkeiten in der Diagnostik sind im Verdachtsfall einer kardialen Infektion mit *T. whipplei* zu beachten. Je nach Schwere des Befalles und möglicher Begleiterkrankungen sind auch ohne systemische Infektionszeichen durch *T. whipplei* tödliche fulminante Verläufe beschrieben oder ist es nach erfolgreicher Therapie erforderlich gewesen, einen operativen Klappenersatz vorzunehmen (45).

1.4.3.2 Systemische Infektion und klassischer M. Whipple

Die Festlegung auf eine einheitliche Sprachregelung mit entsprechenden Definitionen, die die Varianz der Manifestationen berücksichtigt, aber auch mögliche Zwischenstadien zum Diagnosezeitpunkt erfasst, erfolgt in den Ergebnissen.

1.5 Symptomatik des systemischen M. Whipple

Bei prädisponierten Patienten entwickelt sich aus einer Besiedelung oder Infektion mit *T. whipplei* über Jahre hinweg die als klassischer M. Whipple bezeichnete Form (2; 3; 27). Die klassische Symptomtrias umfasst Gelenkbeschwerden, Durchfall und Gewichtsverlust (2; 3; 26; 54; 55). Das Prodromalstadium besteht häufig aus unspezifischen Allgemeinsymptomen wie Durchfall, Gewichtsverlust, Fieber, Magenbeschwerden, Lymphadenopathien, Gelenkbeschwerden und/oder Fieber (1; 2; 3).

Das klinische Bild ist entsprechend vielgestaltig, es wird von den befallenen Organsystemen und dem Zeitpunkt der Diagnose bestimmt (48). Die Erkrankung schreitet unbehandelt unterschiedlich fort, dabei verändert sich die Symptomatik. Die Unterschiede in der klinischen Präsentation liegen nicht zuletzt auch in stark abweichenden Diagnosezeitpunkten mitbegründet. Die Diagnose wird im Schnitt sechs bis acht Jahre nach Auftreten der ersten Symptome gestellt (44; 56; 57). Es ist noch nicht genau bekannt, unter welchen Voraussetzungen oder Prädispositionen ein isolierter M. Whipple, wann ein systemischer M. Whipple auftritt und welche Organe wann betroffen sind. Vorbehandlungen durch Fehldiagnosen mit immunsuppressiven Therapien (insbesondere bei Gelenkbeschwerden) oder Immunmodulationen anderer Genese können bei bestehender Prädisposition den Verlauf und die Symptome erheblich beeinflussen und auch als eigene klinische Verlaufsform angesehen werden (44). Die genauen Zusammenhänge in Bezug auf das Auftreten

weiterer Whipple-typischer Symptome nach Immunsuppression oder auch der Einfluss auf den Verlauf der Whipple-Therapie sind schwierig zu belegen.

Die Angaben zur Häufigkeit der verschiedenen Symptome weichen aus genannten Gründen in der Literatur voneinander ab, werden nicht oder können häufig nur ungenau angegeben werden (Tabelle 1).

Tabelle 1: Die häufigsten Symptome von Patienten mit einem klassischen M. Whipple

modifiziert nach (3; 27; 44).

M.: Morbus.

Symptom	Häufigkeit
Gelenkbeschwerden	67% (70-100%)
Diarrhoe	76% (70-85%)
Gewichtsverlust	92% (75-100%)
Abdominelle Schmerzen	55% (30-90%)
Lymphadenopathie	60% (35-60%)
Fieber	38% (35-60%)
Neurologische Symptome	10-40%
Anämie	85%

1.5.1 Gastrointestinale Symptome

Die massive Besiedelung des Dünndarms mit dem Erreger verursacht häufig uncharakteristische Abdominalschmerzen (3; 27; 58), Diarrhoe (47; 59), bei chronischer Diarrhoe Malabsorption/Steatorrhoe (47; 58) und Gewichtsverlust (27; 58; 60) sowie vergrößerte Lymphknoten im Bauchraum. Im weiteren Verlauf kann es zu Kachexie und Aszites kommen (im Rahmen der Malabsorption durch die Hypalbuminämie) (13; 48; 61). Periphere Ödeme werden in etwa 30% der Fälle beobachtet (59; 61).

1.5.2 Extraintestinale Symptome

1.5.2.1 Gelenke

Die extragastrointestinalen Manifestationen betreffen am häufigsten die Gelenke (27).

Die Gelenkbeschwerden gehen den intestinalen meist um Jahre voraus und sind bei etwa zwei Dritteln der CWD-Patienten die häufigsten Erstsymptome (44). Nur sehr selten führen sie auch nach jahrelangem Verlauf jedoch zu destruktiven Veränderungen in der Bildgebung (44).

Bei den Arthralgien handelt es sich um seronegative, chronisch-migratorische, nicht-destruierende Arthritiden und Arthropathien, die am häufigsten periphere Gelenke wie Knie-, Fuß- und Handgelenke betreffen (27; 44; 62; 63). Die Beschwerden zeigen gegenüber einer antirheumatischen Therapie in der Regel keine suffiziente Besserung (61). Im Gelenkpunktat zeigt sich häufig das Bild einer Entzündung mit überwiegend polymorphkernigen Leukozyten (47; 48).

1.5.2.2 ZNS

Im Vergleich zu den weniger häufig auftretenden neurologischen Symptomen gelingt der molekularbiologische Nachweis von T.-whipplei-DNA im Liquor bei bis zu 50% aller Patienten (2; 54; 64; 65; 66).

Als typisch gilt die Kombination von Blicklähmung, Nystagmus und Myoklonus (13). Neben Ataxien, epileptischen Anfällen oder peripheren Neuropathien können verschiedene andere unspezifische kognitive, psychiatrische, motorische und hypothalamische Beschwerden auftreten (3; 44; 67; 68). Ein ZNS-Befall ist besonders problematisch, da er bei komplikativen Verläufen zu progressiven, teils irreversiblen Schäden und trotz intensiver antibiotischer Therapie zum Tod führen kann (67). Fenollar et al. geben diesbezüglich eine Letalität von ungefähr einem Drittel an (25).

1.5.2.3 Herz

Eine kardiale Beteiligung wird häufig als primär klinisch relevant beschrieben, da es zu schweren Aorten- oder Mitralklappeninsuffizienzen kommen kann (44). Kardiale Symptome können das Myo- und Perikard betreffen oder im Rahmen einer Endokarditis auftreten (45).

1.5.2.4 Lymphknoten

Lymphadenopathien, oft abdominell (44), beispielsweise der peritonealen oder intestinalen Lymphknoten können als große intraabdominelle Raumforderungen imponieren (48). Vergrößerte paraaortale und retroperitoneale Lymphknoten kommen in der Sonographie entsprechend ihres Fettgehaltes überwiegend echogen zur Darstellung (48).

1.5.2.5 Labor

Die Laborbefunde entsprechen denen einer chronischen Entzündung (48) mit einer Erhöhung der BSG (Blutsenkungsgeschwindigkeit) und des CRP. Nicht selten ist eine schwere Thrombozytose zu beobachten (59).

Eine hypochrome mikrozytäre Anämie (47) tritt meist als Folge der chronischen Entzündung auf, sie kann aber auch mit einem Eisenmangel bei okkultem Blutverlust einhergehen. Andere Ursachen verschiedener Anämiebefunde können auch Ausdruck eines Folsäure- oder Vitamin-B12-Mangels sein (48), die im Rahmen der klassischen Laborbefunde eines Malabsorptionssyndroms auftreten können (60). Leukozytosen, in etwa 20% leichte Eosinophilien und Lymphopenien unterschiedlichen Ausmaßes mit Verschiebung des CD4-/CD8-Verhältnisses sowie eine relative Vermehrung der Globuline können in Erscheinung treten (59).

Weitere häufige Befunde umfassen eine Hypalbuminämie, Hypoproteinämie, Hypcholesterinämie und ein Mangel an fettlöslichen Vitaminen (48).

1.5.2.6 Weitere Organbefunde

Teilweise als Folgeerscheinung können u.a. Hepato- oder Splenomegalien, chronischer Husten, Myalgien, Hypotonien, Augenbeteiligungen (wie Uveitis oder Retinitis) oder pulmonale Symptome (Belastungsdyspnoe, pleurale Schmerzen oder Symptome eines Pleuraergusses) auftreten (26; 44; 48). An der Haut kann es zu Hyperpigmentierungen an lichtexponierten Stellen (48) und auch zu schuppigen Ekzemen mit schmutzig grauem Hautkolorit kommen (59).

1.6 Immunologie und Genetik

1.6.1 Immunpathogenese

Durch die Diskrepanz des Auftretens des Keimes und der seltenen Manifestation einer chronischen Infektion durch *T. whipplei* wurden wirtsbezogene ätiologische Kofaktoren vermutet. Der Nachweis der Assoziation zwischen immunsuppressiver Therapie und dem Beginn gastrointestinaler Manifestationen eines *M. Whipple* (57) unterstützen das Konzept immunologischer Faktoren in der Pathogenese (69). Ebenso die Tatsache einiger chronisch rezidivierender Verläufe trotz längerer Antibiotikatherapie.

Tatsächlich finden sich Hinweise auf Defekte des zellulären Immunsystems, deren immunologische Grundlagen seit der Kultivierung von *T. whipplei* genauer untersucht wurden und werden (34). Im Folgenden werden die zum aktuellen Zeitpunkt führenden immunologischen Defekte bzw. Abweichungen zu gesunden Kontrollpersonen beschrieben.

Nach Erreichen der Lamina propria duodeni durch *T. whipplei* nach einem bis heute nicht abschließend geklärten Mechanismus (69), kommt es u.a. zu folgenden zum Teil einander bedingenden Kaskaden.

Verminderte Th1-Aktivität gegen *T. whipplei* und Defizienzen dendritischer Zellen:

Bei Prädisposition kommt es aufgrund veränderter Zytokinzusammensetzungen in der duodenalen Mucosa bzw. des gesamten regulatorischen Milieus bei CWD-Patienten (70) zu einer defizienten Reifung antigenpräsentierender (APC) bzw. dendritischer Zellen (DC) und damit als Antwort auf eine Antigenstimulation zu einem unreifen Phänotyp von DCs. Dies trägt u.a. zur Trägerschaft der Erreger durch DCs und damit zur Persistenz, Disseminierung und Chronifizierung von *T. whipplei*

bei (70). Auswirkung hat daneben insbesondere die verminderte IL-12-Sekretion unreifer DCs (70). Durch die an die Antigenpräsentation im Rahmen der zellulären Immunantwort anschließende Aktivierung der T-Zellen vom Th1-Typ (T-Helferzellen), die zur stabilen Bindung der T-Zelle an die APCs die CD4-Auxiliärproteine nutzen, resultiert eine nur mangelhafte T-Zell-Reifung (70). Insgesamt kommt es zu einer deutlich reduzierten bis fehlenden CD4⁺-Th1-Aktivierung bzw. Differenzierung peripherer und duodenaler Lymphozyten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (34; 71). Die T-Lymphozyten in der Lamina propria und im Blut zeigen insgesamt eine Verringerung des CD4-/CD8-Quotienten bei der Th1-Antwort (26; 44). Die verminderte IL-12-Sekretion führt jedoch im Gegensatz zu sonstigen IL-12-Defekten (72) nicht zu anderen opportunistischen Infektionen, sondern scheint T.-whipplei-spezifisch zu sein (69). Die verminderte T-Zell-Reaktivität spiegelt sich auch in einer reduzierten Immunantwort im Vergleich zu Gesunden auf bestimmte Proteine von T. whipplei, wie zum Beispiel aus der Gruppe der Hitzeschockproteine, wider (73).

Alternative Makrophagen-Aktivierung und erhöhte Th2-Reaktion:

Die erniedrigte IL-12-Produktion (sowie die damit erniedrigte IFN- γ -Produktion durch die T-Zellen), die Verschiebung von der zellulären Th1- zur humoralen Th2-Immunantwort sowie eine erhöhte IL-10-Produktion (siehe auch unten) führen zu einer alternativen Makrophagen-Aktivierung mit einem anderen Phänotyp (74). Durch die veränderte Chemo- und Zytokinzusammensetzung bei CWD-Patienten ist die Phagozytosefähigkeit zwar nicht betroffen, u.a. ist jedoch der oxidative Burst eingeschränkt, die oxidative Degradation der Erreger bzw. des Phagozytosematerials mittels Freisetzung reaktiver Sauerstoffradikale (75; 74). Dadurch ergibt sich das klassische Bild einer duodenalen Mucosa mit einer massiven Makrophageninfiltration bei einer hohen Zahl intrazellulär persistierender Erreger und erklärt, dass dennoch keine relevante Entzündung entsteht sowie eine spätere Ausbreitung stattfinden kann (74).

Die Aktivität regulatorischer T-Zellen:

Als weiterer Hinweis auf eine zelluläre Immundefunktionsstörung konnte mit den regulatorischen T-Zellen (T_{reg}), die für die Suppression von Immunantworten im Sinne einer Selbsttoleranz des Immunsystems zuständig sind, neben den beschriebenen T-Helferzellen eine weitere Gruppe der T-Zellen identifiziert werden.

Diese gelten bei den CD4⁺-Zellen neben der Th1-, Th2- und Th17-Differenzierung als vierte Richtung (Zytokine: u.a. IL-10, TGF- β) des natürlichen Immunsystems.

Bei CWD-Patienten waren diese in der Lamina propria duodeni im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen erhöht, im peripheren Blut waren sie nicht signifikant unterschiedlich, zeigten

jedoch eine erhöhte Aktivität (76). Die verminderte IFN- γ -Sekretion in der duodenalen Mucosa (Th1-Erniedrigung) sowie die erhöhte IL-10-Sekretion (und TGF- β) weisen auf eine lokal erhöhte Aktivität der regulatorischen T-Zellen hin. Dadurch steigt die Toleranz gegenüber Antigenen aus der Umwelt, womit diese T-Zellen zur reduzierten Entzündungsreaktion, Chronifizierung und zur systemischen Verbreitung von *T. whipplei* beitragen könnten (76).

1.6.2 Bedeutung genetischer Risikofaktoren

Die Rolle der Wirtsabwehr für den Verlauf der Infektion wird durch die Tatsache unterstützt, dass als genetische Risikofaktoren für die chronische Infektion eine MHC-II-/HLA-Assoziation und Polymorphismen in Zytokingenen identifiziert wurden (36; 37). Ob diese genetischen Faktoren die oben beschriebenen und andere immunologische Abläufe bei Patienten mit einem *M. Whipplei* ausreichend erklären, ist umstritten, u.a. könnte bei immunsuppressiv vorbehandelten Patienten diese die Manifestation auslösen (44). Ob die Manifestation bei jenen Patienten sonst jedoch anders, nur verlangsamt oder gar nicht auftreten würde, ist nicht belegt.

Neben der Prädisposition konnte weiterhin nachgewiesen werden, dass der MHC-II-/HLA-Haplotyp auch den Verlauf der Infektion beeinflusst, beispielsweise gibt es Korrelationen von Allelen für die Entwicklung eines Immunkonstitutionssyndroms (siehe auch Kapitel 1.10) oder für die Manifestation als kardiale oder neurologische Form (36). Eine früher postulierte Assoziation mit HLA-B27 (16) konnte in einem größeren Patientenkollektiv nicht bestätigt werden (36).

1.7 Diagnostik heute

Im Hinblick auf die Diagnostik allgemein spielt nicht nur die Häufigkeit der betroffenen Organe, sondern vor allem die Konsequenz für den jeweiligen Verlauf und nicht zuletzt das Outcome bei unbehandeltem und behandeltem Verlauf eine Rolle. Für die sichere Diagnosestellung im Speziellen sollten dann mehrere Methoden kombiniert werden (3).

1.7.1 Diagnostik im Gastrointestinaltrakt

1.7.1.1 Makroskopie

Als Mittel der Wahl zur Diagnostik des M. Whipple dient die Endoskopie des oberen GI-Traktes (in Ausnahmen des unteren GI-Traktes), mit der Möglichkeit der Entnahme multipler Biopsien, ≥ 5 (48), da nicht immer ein kontinuierlicher Befall vorliegt (2; 29) und zum Ausschluss eines sampling errors (29). Je nach zusätzlicher Klinik und endoskopischem Befund sollten zumindest aus der Pars II und III des Duodenums und des proximalen Jejunums Proben entnommen werden (26; 48). Ggf. aus dem Magen, Jejunum, Ileum oder Kolon, seltene aber ebenfalls mögliche Manifestationsorte.

Die Malabsorptionssymptomatik und die ursprüngliche Namensgebung „intestinale Lipodystrophie“ lassen sich endoskopisch und histopathologisch aufgrund der hohen Konzentration an sogenannten SPC-Zellen während des Vollbildes der Erkrankung in der häufig betroffenen duodenalen Mucosa nachvollziehen. Die intestinale Schleimhaut kann makroskopisch verdickt (61) und traubenartig umgestaltet (59), das Zottenrelief plump, vergrößert und kolbig aufgequollen sein (58). Die Serosa des Dünndarms kann gerötet, verdickt und fibrosiert sein (59). Lokale Lymphknoten schwellen an und führen zu einer Abflussbehinderung und Lymphstau in der Mucosa, netzartig formierte, prominente und stark dilatierte gestaute Lymphgefäße (59) können sich zeigen. Endoskopisch kann dies an einer Schleimhautschwellung mit weißlichen Tüpfelungen, dem so genannten Schneegestöber, erkennbar sein. Die mesenterialen Lymphknoten sind oft vergrößert und von grau-gelber Farbe (59).

Neben der manchmal makroskopisch, aber häufig auch erst mikroskopisch, sichtbaren Lymphangiektasie und strukturellen Zottenveränderungen kann es auch zu verschiedenen unspezifischen Schleimhautveränderungen kommen. Unabhängig vom makroskopischen Befund müssen Biopsien entnommen werden.

1.7.1.2 Histologie, Molekularbiologie, Immunhistochemie

Histologie: Die Diagnosestellung erfolgt zumeist histologisch (61) über den Nachweis spezifischer makrophagenreicher entzündlicher Infiltrationen, manchmal begleitet von Zottenatrophien und Lymphangiectasien.

Die Makrophagen enthalten PAS-positive Glykoproteine und sind Diastase-resistent, sie beinhalten reaktive Einschlüsse, die häufig charakteristisch sichelförmig anmuten. Der Erste, der diese Beobachtung veröffentlichte, war Sieracki im Jahre 1958 (77), er bezeichnete diese als sogenannte SPC-Zellen (sickle-form particle containing cells). Sie befinden sich meist in der Lamina propria mucosae duodeni und sind pathognomonisch für den M. Whipple (78). Sie können aber auch andere Schichten wie die Submucosa betreffen. Zur Abgrenzung auf die auch bei Mycobacterium-avium-intracellulare-Infektionen („MAI“) vorkommenden PAS-positiven Makrophageninfiltrationen wird in Kapitel 1.8 eingegangen. In floriden Krankheitsphasen sind intakte Whipple-Bakterien auch extrazellulär nachweisbar (59). Lymphozyten sind gegenüber der Norm meist deutlich reduziert (59). Gelegentlich findet man bei Whipple-Patienten epitheloidzellige Granulome in der Darmschleimhaut, aber auch in anderen Organen wie der Niere, Leber, Milz, Lymphknoten, Lungen und der Skelettmuskulatur (59).

Bei Patienten ohne gastrointestinale Manifestation kann u.a. die PAS-Färbung von Dünndarmbiopsien negativ ausfallen (2; 3; 43).

Neben der PAS-Reaktion kann zur differentialdiagnostischen Abgrenzung noch eine Ziehl-Neelsen-Färbung erfolgen (siehe auch Kapitel 1.8).

Im unteren Gastrointestinaltrakt können Biopsien unspezifisch PAS-positiv sein, Differentialdiagnosen wie eine Melanosis coli oder eine Histiozytose müssen dabei in Betracht gezogen werden (44).

Die Rückbildung der histopathologischen Befunde im Dünndarm kann sich über Monate erstrecken, die PAS-Färbung kann sogar über Jahre hinweg positiv bleiben ohne dass ein Therapieversagen vorliegt. Eine langsame numerische Reduktion der Zellinfiltrate wie auch die qualitativen Veränderungen der PAS-positiven Makrophagen zeigen dabei den Erfolg der Therapie (29).

Elektronenmikroskopisch finden sich in den Makrophagen Lysosomen, die im Abbau unterschiedlich weit fortgeschrittene stäbchenförmige Bakterien (29; 58) enthalten. Die Bakterien sind elektronenmikroskopisch sehr gut am Aufbau der trilamellären Zellwand erkennbar (26).

PCR: Im Gegensatz zur PAS-Färbung ermöglicht die molekularbiologische Diagnostik mittels PCR den definitiven Erregernachweis durch die Untersuchung von verschiedenen Zielgenen und die Sequenzierung (21; 23; 46). Sie ist grundsätzlich zur Therapiekontrolle geeignet, da sie im Verlauf der erfolgreichen Therapie schnell negativ wird (54). Da T. whipplei aber bei Gesunden und in der Umwelt vorkommt, sollte eine positive PCR mit der Klinik übereinstimmen und histologisch bestätigt werden (13). Auf diese Problematik und entsprechende Empfehlungen wird

im Verlauf dieser Arbeit noch eingegangen. Es ist jedoch zu betonen, dass eine negative PCR und auch eine negative Histologie des Duodenums einen (isolierten) M. Whipple aufgrund der extraintestinalen Manifestationen nicht sicher ausschließt (26; 43).

Immunhistochemie (IHC): Polyklonale spezifische Antikörper haben den immunhistologischen Nachweis von *T. whipplei* als zusätzlich ergänzende Untersuchung ermöglicht (79; 80). In einer Studie mit 18 an einem M. Whipple Erkrankten zeigte sich unter Verwendung des Kaninchen-basierten polyklonalen Antikörpers (auf Paraffin-eingebettetem Gewebe) hinsichtlich Sensitivität und Spezifität, dass alle (an M. Whipple erkrankte) Patienten auch ein positives Ergebnis hatten (darüber hinaus bei zwei der Patienten, die in der PAS-Färbung negativ waren), und dass alle Kontrollen richtig negativ waren (24).

1.7.2 Diagnostik im ZNS und anderen Organsystemen

Eine ZNS-Diagnostik mittels Liquor-PCR sollte immer bei einem nachgewiesenen M. Whipple auch unabhängig vom Vorliegen einer neurologischen Symptomatik vor Einleitung einer Therapie durchgeführt werden, da dies therapeutische und prognostische Konsequenzen nach sich zieht (26; 48). PAS-Färbungen von ZNS-Biopsien sind nicht ausreichend aussagekräftig, diese können wie auch im unteren Gastrointestinaltrakt unspezifisch positiv sein (81).

Grundsätzlich jedoch können pathognomonische SPC-Zellen in allen Organen gefunden werden (59), die Diagnostik sollte daher auf Proben aus klinisch betroffenen Organen zur evt. differentialdiagnostischen Abgrenzung erweitert werden. Beim fehlenden Nachweis aus dem Gastrointestinaltrakt sollte Gewebe aus Organen mit Auffälligkeiten je nach Beschaffenheit histologisch, molekularbiologisch und ggf. immunhistologisch aufbereitet werden (2; 3).

1.7.3 Kultur, Serologie und Stuhldiagnostik

Die Kultivierung von *T. whipplei* ist wie vorbeschrieben schwierig und bisher auf spezialisierte Forschungseinrichtungen beschränkt (15). Sie wird momentan nicht zur Routinediagnostik eingesetzt, da es aufgrund des langsamen Wachstums des Erregers mehrere Monate dauert, bis ein Ergebnis vorliegt (15).

Der serologische Nachweis ist über experimentelle Stadien nicht hinausgekommen (26) und ist zudem problematisch, da auch gesunde Kontrollpersonen eine positive Serologie aufweisen, die oft stärker als die der Patienten ist (33).

In einzelnen Instituten wird der PCR-Nachweis der Erreger aus Stuhlproben durchgeführt. Aber insbesondere bei Stuhlproben und der beschriebenen asymptomatischen Trägerschaft bedeutet ein positives Ergebnis keinen Nachweis einer chronischen Infektion (26). Die gastrointestinale Diagnostik müsste bei Verdacht dennoch erfolgen, ggf. zuzüglich weiterer Diagnostik an anderen Organen.

1.8 Differentialdiagnosen

Die Seltenheit der Erkrankung, ein Prodromalstadium, das über Jahre dauern kann, unspezifische Symptome und damit differentialdiagnostisch viele abzugrenzende Erkrankungen können zu Fehldiagnosen und –behandlungen führen.

Mögliche positive Befunde bei asymptomatischer Trägerschaft, technische Schwierigkeiten bei der Diagnostik wie der Endoskopie sowie spezielle histologische, molekularbiologische und immunhistochemische Untersuchungen erschweren die Diagnosestellung.

Erkrankungen, die differentialdiagnostisch abzugrenzen sind und zu Fehldiagnosen führen können, stammen vor allem aus dem rheumatischen Formenkreis, sind Malabsorptionssyndrome wie Zöliakie, Sarkoidose, Lymphome, Kollagenosen und andere klinisch ähnlich verlaufende Autoimmunerkrankungen sowie eine Vielzahl an neurologischen Erkrankungen.

Patienten mit einer „Rheumafaktor-negativen rheumatoiden Arthritis“ werden manchmal über Jahre immunsuppressiv behandelt, erst bei gastrointestinalen Anzeichen wird dann der M. Whipple diagnostiziert (57).

Beim Vorliegen chronischer Diarrhoen und Arthritiden müssen eine Colitis ulcerosa und ein Morbus Crohn ausgeschlossen werden (48). Diarrhoe und postenteritische Arthritiden können Folge einer Infektion mit Salmonellen, Shigellen, Yersinien oder Campylobacter jejuni sein (48). Verdickte Falten der Duodenal- und Jejunalschleimhaut kommen auch bei Zöliakie zur Darstellung (48). Mycobacterium-avium-intracellulare-Infektionen („MAI“) des Dünndarms bei stark immunsupprimierten oder AIDS-Patienten zeigen in der Dünndarmbiopsie auch PAS-positive Makrophageninfiltrationen (60), die ggf. mittels einer Ziehl-Neelsen-Färbung abzugrenzen sind.

Differentialdiagnostisch muss bei vergrößerten Lymphknoten im Bauchraum auch an ein malignes Lymphom oder an Metastasen eines unbekanntes Primärtumors (CUP) gedacht werden (59).

Ein Morbus Addison sollte beim Bestehen einer Hyperpigmentierung in Kombination mit einer Hypotonie ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zum M. Addison liegt beim M. Whipple keine Hyperpigmentierung der Schleimhaut vor (48).

Differentialdiagnostisch sollte u.a. auch bei kognitiven Störungen (bis hin zur Demenz), supranukleären Ophthalmoplegien, Bewusstseinsstörungen, psychischen Störungen, Spastik, Zeichen einer hypothalamischen Schädigung, Hirnnervenschädigungen, Myoklonus, epileptischen Anfällen, Myorhythmien, Ataxien und Sensibilitätsstörungen an eine Infektion mit T. whipplei gedacht werden.

Aufgrund der Vielzahl an möglichen betroffenen Organen und Geweben, sowohl isoliert als auch systemisch, sollte generell bei entsprechenden unklaren Befunden ein M. Whipple in Betracht gezogen werden.

1.9 Therapie und Prognose

Eine rechtzeitige und sachgemäße Antibiotikatherapie bewirkt meist eine Ausheilung und führt in der Regel zu einer raschen klinischen Besserung. Viele Patienten erholen sich vollständig (13), bei cerebralen Manifestationsformen kann es jedoch häufiger zu bleibenden Schäden kommen (59). Unbehandelt bzw. vor Einführung der Antibiotikatherapie führt bzw. führte die Krankheit langsam progredient zum Tode (16; 27). Im unbehandelten Verlauf kamen v.a. neurologische Komplikationen, Endokarditiden, Uveitiden und Pneumonien hinzu (27). Todesursachen sind insbesondere durch cerebrale Komplikationen, Marasmus (Protein-Energie-Mangelsyndrom) (58) oder auch durch kardiale Komplikationen bedingt.

Die Therapie erfolgt in Form einer Sequenztherapie (48). Schon 1987 empfahl Dobbins (27), nach einem retrospektiven Vergleich mehrerer Antibiotika, eine Induktionstherapie von 10-14 Tagen mittels Penicillin und Streptomycin, gefolgt vom gut liquorgängigen Trimethoprim/Sulfamethoxazol (TMP/SMX) über ein Jahr. Das Management einer Induktionstherapie mit gut liquorgängigen Antibiotika entwickelte sich aus der Beobachtung, dass der Einsatz von Antibiotika mit schlechterer Penetration der Blut-Hirnschranke häufig neuronale Rezidive zur Folge hatte (82).

Aufgrund schwerer cerebraler Rezidive ohne Induktionstherapie (27; 82) verabreicht man auch heute noch auf prospektiv randomisierter Studienbasis zunächst eine hochdosierte intravenöse Initialtherapie mit liquorgängigen Antibiotika (Ceftriaxon 1 x 2 g/Tag über 14 Tage), gefolgt von einer zwölfmonatigen oralen Dauertherapie mit Cotrimoxazol (Trimethoprim/Sulfamethoxazol 160 mg/800 mg zweimal täglich). Cotrimoxazol wird aufgrund der höheren Liquorgängigkeit als Erhaltungstherapie u.a. Tetracyclin vorgezogen. Alternativ kann zur 14-tägigen Induktion 3 x 1g/Tag Meropenem/Imipenem verabreicht werden (55), jeweils gefolgt von einer oralen Erhaltungstherapie mit TMP/SMX über zwölf Monate (SIMW-Studie = „Studie zur Initialtherapie des M. Whipple“). Im Outcome der Patienten waren beide Therapien gleichwertig (83).

In einem prospektiven, nicht randomisierten 3. Arm der Studie konnte kein signifikanter Unterschied einer Erhaltungstherapie mit Cotrimoxazol über nur 3 Monate oder 12 Monate nachgewiesen werden (54), die jedoch ein entsprechend niedrigeres Evidenzniveau hat.

In einer weiteren prospektiven, randomisierten Behandlungsstudie wird eine reine orale Therapie (Doxycyclin (2 x 100 mg/Tag) in Kombination mit Hydroxychloroquin (3 x 200 mg/Tag) mit der Kombinationstherapie aus Ceftriaxon und TMP/SMX über 12 Monate verglichen (13). Die Studie ist noch nicht abgeschlossen und die Veröffentlichung steht aus. In vitro konnte die Wirksamkeit dieser rein oralen Kombination von Doxycyclin und Hydroxychloroquin nachgewiesen werden (19). Sie wurde bei der Therapie von Patienten bereits erfolgreich eingesetzt (84) und könnte die initiale intravenöse Therapie verzichtbar machen.

Im Falle von Arzneimittelunverträglichkeiten heißt es in der aktuellen Leitlinie (81): „Bei Unverträglichkeit von Ceftriaxon sollte Meropenem und bei Unverträglichkeit von Cotrimoxazol sollte Doxycyclin verabreicht werden. Eine Unverträglichkeit von Ceftriaxon, die dazu führt, dass das Präparat abgesetzt werden muss, ist unwahrscheinlich. Allerdings kann es zu einer möglicherweise kristall-induzierten Cholezystitis kommen. Eine Unverträglichkeit von Cotrimoxazol kommt häufiger vor. Unter Doxycyclin beobachtet man nicht selten eine phototoxische Dermatitis.“

Patienten mit Rezidiven oder Antibiotika-resistenten Manifestationen erfordern ein individuelles Management, so wurde unter immunologischem Monitoring erfolgreich eine experimentelle Therapie mit additivem Interferon-gamma durchgeführt (16; 85). Durch die bei vielen Patienten nachgewiesene verminderte TH1-Antwort wurde dieser Therapieansatz als eine mögliche Alternative identifiziert. So führte bei einem antibiotikarefraktären Patienten mit einem M.

Whipple eine adjuvante Therapie mit rekombinantem IFN-gamma zu einem guten klinischen Ansprechen und zur Eradikation des Erregers aus Duodenum und Liquor (85).

1.10 Komplikationen

Insbesondere bei ZNS-Befall kann es zu Defektheilungen oder irreversiblen Gewebeschäden kommen und bei manchen Patienten mit ZNS-Manifestationen verläuft die Erkrankung trotz fortgesetzter antibiotischer Therapie und nicht mehr nachweisbaren Erregern durch die eingetretenen Schäden progredient bis hin zum Tode (67; 82; 86).

Neben der Beeinflussung der Manifestation der Erkrankung kann eine vorausgegangene Immunsuppression auch nach Absetzen derselben erhebliche Komplikationen wie das inflammatorische Immunrekonstitutionssyndrom (IRIS) verursachen. Ein erhöhtes Risiko besteht neben der genannten Immunsuppression für Patienten mit schwerem ZNS-Befall (83).

Das IRIS stellt eine wichtige Ursache einer erneuten klinischen Verschlechterung nach Einleitung der antibiotischen Therapie dar (83). Es manifestiert sich meist als Fieber oder erneutes Aufflammen anderer entzündlicher Prozesse (z.B. als Arthritis oder Orbitopathie) nach oft zunächst erfolgreicher Behandlung. Differentialdiagnostisch müssen andere Ursachen der Symptomatik wie Co-Infektionen oder maligne Ursachen ausgeschlossen werden. Hinsichtlich der wichtigen Unterscheidung zu einem Rezidiv gilt, dass die paraklinische Diagnostik keine entsprechenden Hinweise liefert bzw. meist kein replikationsfähiger Erreger mehr nachgewiesen werden kann (83). Zur Veröffentlichung von Patientendaten und deren Charakteristika, siehe auch (83). Die Erkrankung kann milde, aber auch lebensbedrohlich verlaufen. So kann es im Rahmen des IRIS zur Dünndarmperforation oder zur Vaskulitis der Hirngefäße kommen. Die meisten Patienten sprechen auf die zusätzliche Therapie mit Kortikosteroiden (empirisch ca. 1,5 mg/kg/Tag Prednisolon) an (83). Neben dem IRIS gibt es eine weitere Gruppe von Patienten mit M. Whipple, die von einer zusätzlichen Steroidbehandlung profitiert. Dabei handelt es sich um die Patienten mit schweren ZNS-Manifestationen und zerebralen Läsionen. Hier kann die Behandlung lokale Entzündungsprozesse und Ödeme ebenso verhindern wie die Schädigung des Epithels. Als Orientierung können die Behandlungsempfehlungen der tuberkulösen Meningitis dienen (86), wobei die Empfehlungen zur Höhe der Steroiddosierungen abweichend sind (87).

Wie bei allen chronischen Entzündungsprozessen, aber auch bei den vorliegenden Defizienzen in der Immunmodulation müssen maligne Entartungen, wie beispielsweise Lymphome, in Betracht gezogen werden (88).

1.11 Zielsetzung

Bisher liegen keine systematischen Analysen zur Wertigkeit der verschiedenen makroskopischen, histologischen und molekularbiologischen Untersuchungen für die sichere Diagnose des M. Whipple und die Therapiekontrolle vor. Daher sollen hier anhand des vorhandenen Patientenkollektivs dieser seltenen Erkrankung typische initiale Befundkonstellationen und deren Verläufe dokumentiert und die Untersuchungsmethoden in Bezug auf dieses Kollektiv verglichen werden. Darüber hinaus sollen auch Patienten und deren Verläufe beschrieben werden, die im Vergleich atypische Befunde aufweisen.

Mithilfe der Konstellationen aller berücksichtigten Patienten sollen ferner die verwendeten Begriffe für die Entität des M. Whipple belegt werden.

Zusammenhänge, Gemeinsamkeiten und Unterschiede der typischen bzw. atypischen Patienten sollen erkannt und mögliche Konsequenzen für den weiteren Krankheitsverlauf im Speziellen und für die Diagnostik, Therapie und Therapiekontrolle im Allgemeinen gezogen werden können.

Ziel dieser Arbeit ist es mithin, aus der Wertigkeit der verschiedenen Untersuchungen bei Diagnose und im Therapieverlauf des M. Whipple, Rückschlüsse auf zu empfehlende Kontrollintervalle zu ermöglichen, welche bis heute nicht einheitlich festgelegt sind.

Auf Unterschiede in den heute angewendeten Therapien, deren Durchführung bis heute noch nicht abschließend geklärt zu sein scheint, wurde bereits eingegangen.

Die Patienten, die ein IRIS entwickelt haben, wurden bzw. sind detailliert und nicht im Rahmen dieser Arbeit gesondert zu betrachten, siehe auch (83).

2 Methodik

Ende 2002 wurde ein von der Europäischen Union gefördertes Großprojekt (Multicenter-Forschungsprojekt) zur Erforschung des M. Whipple unter Beteiligung von fünf deutschen Instituten sowie Wissenschaftlern aus initial fünf europäischen Ländern durch das ursprünglich koordinierende Institut in Wiesbaden ins Leben gerufen, (Koordinator: Priv.-Doz. Dr. med. Thomas Marth, Deutsche Klinik für Diagnostik). Zu den teilnehmenden Institutionen zählte die Infektiologie der Charité, Campus Benjamin Franklin (CBF), mit deren Leiter Prof. Dr. Dr. Thomas Schneider, der 2004 die Leitung übernahm und wo inzwischen auch die Europäische Daten- und Gewebebank für dieses Projekt ihren Sitz hat. Das eigentliche EU-Projekt endete 2006, die Betreuung von Patienten und die Datenbank wurden an der Charité weitergeführt.

Die hier eingeschlossenen Patienten stammen aus Studien, die im Rahmen des europäischen Netzwerks initiiert und durch die Infektiologie der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie des CBF betreut wurden: die bereits 1999 begonnene randomisiert kontrollierte SIMW-Studie („Studie zur Initialtherapie des Morbus Whipple“), unter Leitung von Prof. Dr. med. Gerhard E. Feurle (DRK Krankenhaus Neuwied, Innere Abteilung I) (55), ein dritter Arm, um den die SIMW-Studie erweitert wurde (54) und eine weitere Studie, in der aktuell noch Patienten begleitet werden, die eine rein orale Therapie mit der in der SIMW evaluierten Kombination aus Ceftriaxon und Cotrimoxazol vergleicht.

Zusätzlich zu den in diese drei Studien eingeschlossenen Patienten wurden auch Fälle in der vorliegenden Arbeit ausgewertet, die unabhängig von den Behandlungsstudien in der Infektiologie der Charité, Campus Benjamin Franklin, vorstellig wurden, oder von denen zur Diagnosesicherung und/oder Therapiekontrolle externes Material begutachtet wurde.

Alle teilnehmenden Patienten wurden aufgeklärt und erklärten schriftlich ihr Einverständnis an der Teilnahme an klinischen Studien und/oder wissenschaftlichen Untersuchungen, sofern ihr Material nicht ausschließlich zur Diagnose eingesetzt wurde. Die entsprechenden Voten der Ethikkommission der Charité und der zuständigen Ethikkommissionen der Länder liegen vor.

2.1 Befunderhebung

Die Patienten mit Verdacht bzw. zur Diagnosesicherung eines M. Whipple wurden anhand des unten erläuterten Diagnoseschemas als an einem M. Whipple Erkrankte identifiziert. Bei voruntersuchten und von extern oder zur Therapiekontrolle vorgestellten Patienten wurden Proben gegebenenfalls im Hause neu untersucht oder direkt in domo oder auch durch die Referenzpathologie der Studien zweitbegutachtet und entsprechend ausgewertet. Bei Bedarf wurden dabei die Untersuchungen nach dem genannten Schema vervollständigt.

Bei Patienten, die voruntersucht oder nur zur Therapiekontrolle im Rahmen des Netzwerkes vorgestellt wurden, wurden vorhandene Befunde und Arztbriefe nach Schweigepflichtentbindung von den jeweils behandelnden Ärzten angefordert und mit in die Auswertung einbezogen.

2.2 Patientenzahlen

Insgesamt wurden von allen Patienten, bei denen der Verdacht auf einen M. Whipple und zusätzlich ein positives Untersuchungsergebnis bestand, 231 Fälle für diese Arbeit weiter betrachtet.

Der Diagnosezeitpunkt der hierfür zugrunde liegenden Patienten erstreckt sich auf den Zeitraum von 1985 bis 2013 mit den entsprechenden unten erläuterten Kontrollintervallen.

2.3 Falldefinitionen

Als Patienten mit M. Whipple wurden die Fälle definiert, bei denen mit mindestens zwei Nachweisverfahren der Beweis einer Infektion mit *T. whipplei* gelang. Patienten mit definitionsgemäß nicht ausreichenden Befunden für eine Diagnosestellung oder Patienten mit unzureichender Befunderhebung wurden ausgeschlossen. Dazu zählten auch Patienten mit lediglich einem positiven Nachweis.

Ausgeschlossen für die Betrachtung im Rahmen der entsprechenden Therapiebegleitung dieser Arbeit waren ebenfalls Patienten, die an einer isolierten Whipple-Endokarditis erkrankt waren, da davon ausgegangen werden muss, dass die *T.-whipplei*-induzierte Endokarditis eine andere Entität

als der M. Whipple ist. Der Einschluss in die Analysen dieser Arbeit erfolgte unabhängig vom Einschluss in die Behandlungsstudien.

2.4 Ablauf und Interpretation zur Diagnosestellung

2.4.1 Procedere im Gastrointestinaltrakt

Alle Patienten, bei denen ein M. Whipple diagnostiziert werden sollte, mussten im Rahmen einer Gastroskopie bzw. ÖGD (Ösophagogastroduodenoskopie) untersucht werden.

Makroskopie: Zunächst wurde bei den primär vorgestellten, bei den externen Patienten sofern anhand der zur Verfügung gestellten Befunde nachvollziehbar, der makroskopische Aspekt beurteilt. Dabei wurde die intestinale Schleimhaut insbesondere hinsichtlich des Zottenreliefs, Auffälligkeiten des Lymphsystems sowie unspezifischer Veränderungen, wie beispielsweise Entzündungen, betrachtet.

Während der endoskopischen Untersuchung wurden mehrere Biopsien aus den klassischen Prädilektionstellen (duodenale Mucosa) entnommen, wenn möglich jedoch mindestens fünf, um die Wahrscheinlichkeit von Fehldiagnosen bei nicht flächigen Infektionen zu reduzieren (2). Je nach Beschwerdekongstellatation und dem makroskopischen Befund wurden jedoch auch Biopsien außerhalb des Duodenums entnommen, etwa aus dem Magen oder der Mucosa von Jejunum und Ileum.

Die Gewebeproben wurden nun histologisch inklusive einer PAS-Färbung sowie molekularbiologisch mittels PCR und/oder immunhistochemischer Diagnostik untersucht.

Histologie: Diese Proben wurden in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Im Rahmen der histologischen Begutachtung wurde neben dem histologischen Äquivalent der bereits in der makroskopischen Untersuchung relevanten Kriterien eine PAS-Färbung angefertigt bzw. die PAS-Reaktion durchgeführt („periodic acid-Schiff“ reaction oder Perjodsäure-Schiff-Reaktion). Bei einer positiven Reaktion wurden die Makrophagen entsprechend der von-Herbay-Klassifikation (29; 78) differenziert.

Insgesamt gibt es vier Phänotypen PAS-positiver Makrophagen (29):

Typ-I-Makrophagen: Sie sind während des aktiven Krankheitsstadiums im Duodenum lokalisiert und enthalten intensiv PAS-gefärbte grob granuläre Partikel im Zytoplasma. Die Intensität der Färbung übersteigt die des Schleims in den Becherzellen.

Typ-II-Makrophagen: Sie stellen jene Zwischenformen dar, die nebeneinander intensiv und blass PAS-gefärbtes und sowohl granuläres als auch scholliges Material im Zytoplasma enthalten. Der Typ II ist aus diesen Gründen phänotypisch zwischen den Typen I und III einzuordnen.

Typ-III-Makrophagen: Sie haben nur ein blass PAS-gefärbtes, diffus im Zytoplasma verteiltes scholliges Material. Granuläre Partikel fehlen. Die Intensität der PAS-Färbung ist deutlich schwächer als der Schleim in den Becherzellen.

Typ-IV-Makrophagen: Hier enthalten die schaumzelligen Makrophagen kein PAS-positives Material mehr.

In Ergänzung dazu wird ein Befund als PAS-negativ bezeichnet, wenn die entsprechend beschriebenen Makrophagen fehlen bzw. nachgewiesene Makrophagen einer physiologischen duodenalen Mucosa entsprechen.

Immunhistochemie (IHC): Die IHC wurde in Ergänzung zur PAS-Färbung zusätzlich oder anstatt der PCR durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte auf Paraffinschnitten mittels spezifischer polyklonaler Antikörper gegen *T. whipplei* (24; 79).

PCR: Die PCR („polymerase chain reaction“ oder Polymerase-Kettenreaktion) ermöglichte den genauen Erregernachweis durch verschiedene Zielgene und die Sequenzierung (13; 21; 23; 46).

Von 2003-2011 wurde regelhaft eine PCR mit dem 16S-rRNA-Zielgen (23; 89) angewendet. Diese konventionelle PCR-Untersuchung wurde mithilfe einer neueren Real-time-PCR abgeglichen, welche auf ein *T.-whipplei*-spezifisches Segment innerhalb des *rpoB*-Gens abzielt, das die β -Untereinheit der RNA-Polymerase kodiert (90).

Je nach Zeitpunkt der Diagnose wurden in anderen Kliniken und Instituten neben der standardmäßig angewendeten 16S-rRNA-PCR auch andere Zielgene genutzt wie die ribosomale 16S-23S-intergenetische Spacer-Region (91), das *hsp65*-Gen mittels einer „LightCycler real-time PCR“ (92) und einige repetitive Sequenzen (21).

Die Durchführung der konventionellen 16S-rRNA-PCR und der Real-time-*rpoB*-PCR lief wie folgt ab, siehe auch (23):

Bei der konventionellen PCR wurde ein aus 267 Basenpaaren des 16S-RNA-Gen bestehendes Fragment durch entsprechende Primer amplifiziert. Die erfolgreiche Amplifikation wurde mithilfe einer Agarose-Gelelektrophorese bestätigt, durch DNA-Sequenzierung verifiziert und mit zwei der drei großen öffentlich zugänglichen DNA-Sequenzdatenbanken abgeglichen („EMBL-Bank“ = „European Molecular Biology Laboratory“ oder Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie und der „GenBank“).

Bei der rpoB-real-time-PCR erfolgte nach der Amplifikation durch entsprechende Primer die Real-time-Detektion des Amplikons durch spezifische Probenhybridisierung (23; 90; 93). Anschließend dann Verifizierung und Sequenzabgleich mit den Datenbanken.

Die Spezifitäts-Kontrolle der Real-time-PCR wurde durch negative Ergebnisse bei 48 zu *T. whipplei* phylogenetisch engverwandter Spezies erbracht.

Da diese 20-fach sensitiver als die konventionelle PCR ist und nach 90 Minuten statt zwei Arbeitstagen die Ergebnisse vorlagen, wurde sie ab 2012 als Screening-PCR genutzt. Als Kontrolle fungierte dann die konventionelle PCR im Hinblick auf eine hohe Zahl unbekannter rpoB-Gensequenzen durch Keime der menschlichen Darmflora (23).

Die Diagnose *M. Whipple* wurde nur dann gestellt, wenn ein positiver Test durch einen zweiten bestätigt wurde. Demzufolge musste beispielsweise eine hinsichtlich *M. Whipple* auffällige PAS-Untersuchung zur Bestätigung durch ein positives PCR-Ergebnis oder eine positive immunhistochemische Untersuchung ergänzt werden. Im Falle einer negativen PAS-Untersuchung mussten entsprechend die PCR und die IHC positiv sein.

Bei Patienten mit pathognomonischen PAS-Befunden vom Typ I ohne weitere positive Befunde wurde die Diagnose als sehr wahrscheinlich bewertet, die weiteren Untersuchungen wurden jedoch zur Vervollständigung durchgeführt.

Bei Patienten mit positiven PAS-Befunden, die nicht Typ I waren oder ausschließlich positiver Immunhistochemie, wurde anamnestisch noch einmal in Bezug auf antibiotische Vorbehandlungen wegen anderer Erkrankungen oder hinsichtlich kalkulierter Antibiosen reevaluiert.

Waren alle Befunde negativ, wurde eine weitere Diagnostik nur bei hochgradigem Verdacht bzw. bei Verdacht auf eine andere Organmanifestation durchgeführt.

2.4.2 Diagnostik anderer Organsysteme

Zur Diagnosesicherung einer manifesten Infektion durch *T. whipplei* wurde in Ergänzung zur gastrointestinalen Befunderhebung die Diagnostik wie folgt ausgeweitet.

Zunächst wurden Proben aus klinisch oder bildmorphologisch verdächtigem Gewebe gewonnen. Gewebe wurden wiederum in der Regel in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Aus solidem Material wie z.B. Synovia, Lymphknoten oder Haut waren PAS-Färbungen, PCR

und/oder immunhistochemische Untersuchungen möglich, aus Flüssigkeiten wie Synovialflüssigkeiten (oder Liquor cerebrospinalis) erfolgten PCR-Untersuchungen.

Die T.-whipplei-spezifische PCR konnte dabei neben Flüssigkeiten auch an frischen Biopsien oder in seltenen Fällen an gefrorenem Gewebe oder nach Paraffin-Einbettung durchgeführt werden (94). Dabei wurde die reduzierte Sensitivität der PCR-Diagnostik an formalinfixierten und eingebetteten Materialien bei bestimmten Primersystemen berücksichtigt (26).

Lag im Gastrointestinaltrakt nur ein positives Ergebnis vor, wurde die Diagnose M. Whipple erst dann als gesichert angesehen, wenn mindestens ein zweiter extraintestinaler Befund vorlag.

Bei vollständig negativer gastrointestinaler Diagnostik mussten analog zum Gastrointestinaltrakt zwei verschiedene Untersuchungen aus extraintestinalen Proben positiv sein. Bei zwei erforderlichen positiven Befunden konnten diese entweder aus demselben Organ bzw. Organsystem oder jeweils einer aus zwei verschiedenen stammen.

Dabei wurden in den sterilen Geweben im Gegensatz zum mit der Umwelt im Kontakt stehenden Magen-Darm-Trakt positiv bestätigte PCR-Befunde allgemein als Infektion gewertet.

In extraintestinalen Flüssigkeiten, in denen nur PCR-Untersuchungen durchgeführt werden konnten, wurde auch eine zweite, unabhängige PCR-Untersuchung durchgeführt und bei ebenfalls positivem Ergebnis als zweiter Befund zur Diagnosebestätigung einer Infektion mit T. whipplei beurteilt.

Wenn weder im Magen-Darm-System noch in weiteren potentiell betroffenen Geweben ein positiver Befund vorlag, wurde die Infektion durch T. whipplei als sehr unwahrscheinlich angesehen und der Patient aus der Auswertung für diese Arbeit ausgeschlossen.

Bei Patienten mit bereits im Gastrointestinaltrakt gesicherter Diagnose erfolgten weitere diagnostische Schritte und Kontrollen im Verlauf in möglichen anderen betroffenen Organen, abgesehen von der im Folgenden erläuterten ZNS-Untersuchung, nicht reproduzierbar bzw. regelhaft, eine weitere (statistische) Betrachtung anderer Organsysteme dieser Patienten ist daher nicht Teil dieser Arbeit.

2.4.3 Initiale ZNS-Diagnostik

Um eine mögliche schwerwiegende ZNS-Beteiligung auszuschließen, wurde, wann immer möglich, in der dritten Stufe des Diagnoseschemas vor Beginn der Therapie eine Liquor-Punktion mit anschließender PCR-Diagnostik durchgeführt.

2.5 Diagnoseschema

Das erläuterte Diagnoseschema ist in **Abbildung 1** dargestellt.

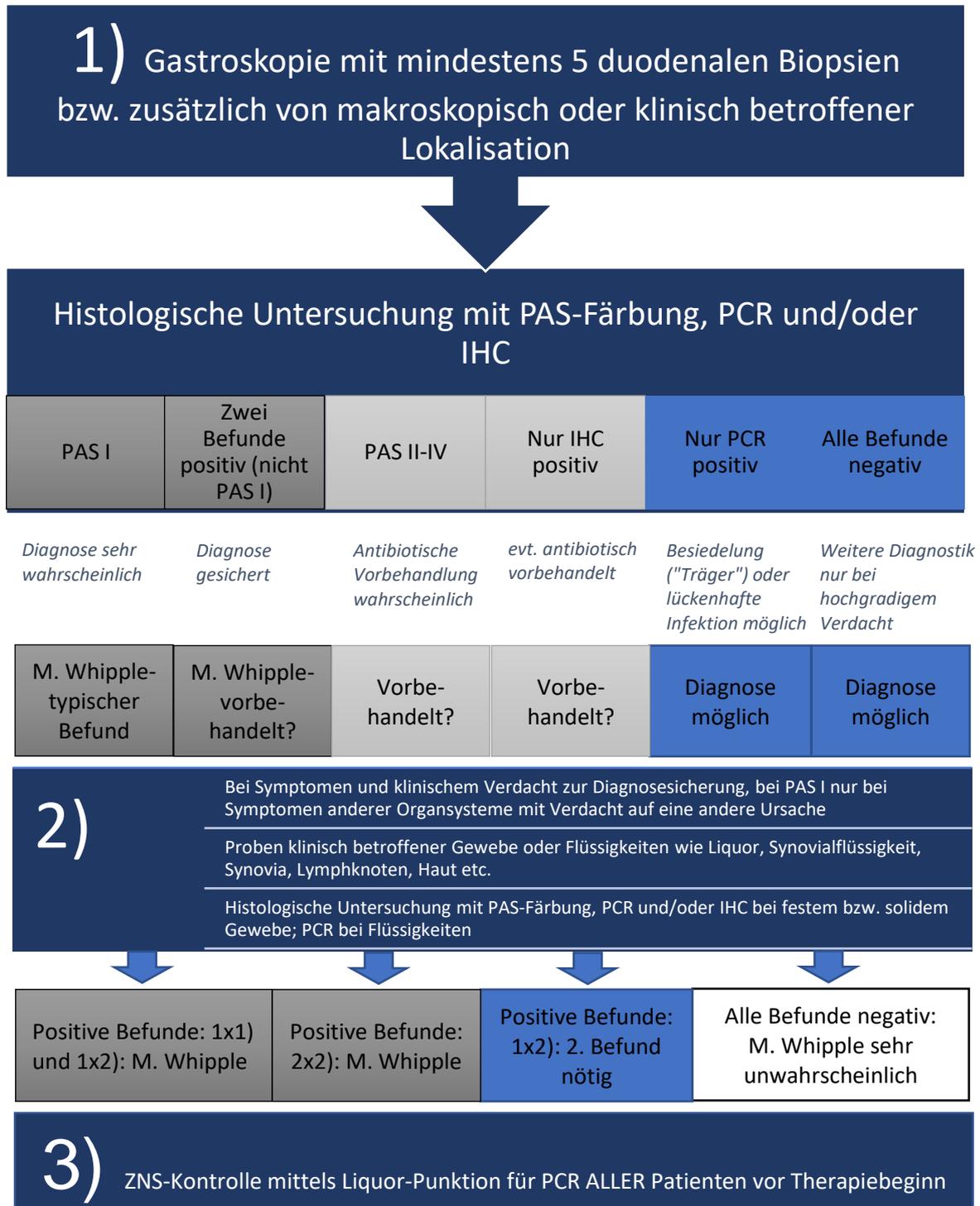


Abbildung 1: Stufenschema zur Diagnose des M. Whipple

modifiziert nach (3; 13; 94).

1) sollte bei Verdacht auf M. Whipple generell erfolgen, unabhängig von der Symptomatik.

2) bei unklaren Befunden aus 1) und je nach klinischer Symptomatik evt. zum Ausschluss zusätzlicher Diagnosen.

3) sollte immer bei gesicherter Infektion mit T. whipplei vor Behandlung erfolgen.

PAS: periodic acid-Schiff, PCR: periodic chain reaction, IHC: immunohistochemistry, M.: Morbus, T.: Tropheryma.

2.6 Kontrolluntersuchungen im Therapieverlauf

Planmäßig wurde unmittelbar nach der Liquorpunktion mit der Therapie begonnen. Die festgelegten Kontrollintervalle (Visits) in Form der Gastroskopie fanden idealerweise sechs, zwölf, 24 und 36 Monate nach Therapieeinleitung statt. Neben dem makroskopischen Befund wurde in deren Rahmen neben der histologischen Kontrolle mit der PAS-Färbung die PCR kontrolliert und/oder die Immunhistochemie. Weitere Untersuchungen hingen vom individuellen Vorbefund bzw. möglichen weiteren Organmanifestationen, wie etwa Liquorkontrollen bei positivem Ausgangsbefund, ab. In einigen Fällen, wie teilweise bei den extern vorbefundeten Patienten oder bei klinischer Befundverschlechterung bzw. Neuauftreten von Symptomen, musste von den Zeitintervallen abgewichen werden.

2.7 Statistik

Für die graphische und tabellarische Aufbereitung sowie die Statistik wurden Office bzw. Excel, Version 16.0.6001.1070 (deutsch), „GraphPad Prism“, Version 7.04 (englisch) und „R“, Version 3.4.4 (englisch), verwendet. Die statistische Auswertung erfolgte deskriptiv und nicht konfirmatorisch, entsprechend sind auch die Berechnungen der p-Werte zu verstehen. Daher wird keine Korrektur für multiples Testen angewandt.

Je nach Skalenniveau und der parametrischen Zuordnung entsprechend, erfolgt die Angabe von Lage und Streuung mittels Mittelwert und Standardabweichung bzw. Median, 0,25-/0,75-Quantilen und dem Interquartilsabstand. Die Korrelationsanalysen erfolgten mit dem verallgemeinerten Friedman-Test nach Skillings-Mack (Skillings-Mack test), dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test (Wilcoxon matched-pairs signed rank test) und dem McNemar-Test (McNemar's test). Zur statistischen Berechnung wird ein Signifikanzniveau α von 0,05 verwendet, $p < 0,05$ entsprechend als signifikante Korrelation.

3 Ergebnisse

3.1 Diagnose

3.1.1 Patientenkollektiv und klinische Befunde

Nach erfolgter Diagnostik bzw. Befundauswertung anhand des Diagnoseschemas ergaben sich zunächst 231 Patienten mit positiven Einzelbefunden.

Bei der PAS-Färbung waren jedoch auch fünf Patienten mit positiven Befunden anderer Genese darunter, bei denen sich der Verdacht einer Infektion mit *T. whipplei* nicht bestätigte, da es sich um eine positive PAS-Färbung von Muziphagen im Colon (95) oder positive Befunde verursacht durch PAS-positive Keimzellen im ZNS handelte. Bei diesen Patienten erfolgte zunächst eine Therapie, bei den weiteren Untersuchungen konnte der Verdacht hinsichtlich einer chronischen Infektion durch *T. whipplei* ausgeräumt werden.

Bei sieben Patienten fehlte der zweite positive Befund in Form des Bestätigungstests. Eine Besonderheit stellten singular positive PCR-Befunde des Gastrointestinaltraktes (weitere vier Patienten) dar. Bei Betroffenen mit lediglich positiver PCR-Untersuchung kam dort aufgrund des regelhaften Kontaktes mit der Umwelt und damit mit dem Keim einerseits eine Trägerschaft als gesunde Ausscheider ohne bestehende Infektion oder selbstlimitierende Infektionen ohne Chronifizierung in Betracht. Andererseits wurden lückenhafte Infektionen oder auch andere Organmanifestationen in Erwägung gezogen. Dem möglichen Vorkommen phylogenetisch ähnlicher Spezies in der Darmflora wurde Rechnung getragen, indem eine PCR-Kontrolle mit einem anderen Zielgen erfolgte.

Entsprechend resultierten 215 Patienten, bei denen eine chronische Infektion mit *T. whipplei* sicher diagnostiziert werden konnte.

Zusätzlich wurden 24 Patienten, die unter einer isolierten Whipple-Endokarditis litten, ausgeschlossen.

Somit verblieben 191 Patienten, die sich wie folgt zusammensetzten:

42 Patienten bzw. deren Biopsien und Proben wurden primär in der Infektiologie der Medizinischen Klinik (I) der Charité, Campus Benjamin Franklin, vorstellig, 79 wurden während

der jeweiligen Therapiestudien begleitet (54; 55), 70 Patienten wurden von extern zur Diagnosesicherung oder im Rahmen von Therapiekontrollen unter Antibiotikatherapie vorgestellt.

Alters- und Geschlechtsverteilung:

Die resultierenden 191 Patienten (**Tabelle 2**) waren im Schnitt 56,35 Jahre alt, bei einer Standardabweichung von 10,92. Die Spannweite beträgt 53 Jahre (31-84).

77,5% der Patienten waren Männer (n = 148), der Frauenanteil betrug entsprechend 22,5% (n = 43).

Klinische Befunde:

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (**Tabelle 2**) litten gut drei Viertel der 191 Patienten (n = 146; 76,4%) unter Durchfall und/oder Malabsorption (klinisch und/oder labormedizinisch), Gewichtsverlust konnte bei etwas mehr als der Hälfte aller Patienten ermittelt werden (n = 99; 51,8%). Unter Gelenkbeschwerden litten 129 Infizierte (67,5%), Fieber hatten etwa ein Viertel der Patienten (n = 49; 25,7%). Neurologische Symptome zeigten 46 Patienten (24,1%).

Die Zeitspanne vom Auftreten von entsprechenden Symptomen bis zur Diagnosestellung des M. Whipple reichte von 0 bis zu 51 Jahren, der Median liegt bei fünf Jahren.

Mehr als ein Drittel der Patienten (n = 65; 34%) wurden unter der Annahme einer rheumatischen Erkrankung immunsuppressiv vorbehandelt.

Tabelle 2: Patientendaten und klinische Befunde bei Diagnose (n=191)

SD: Standardabweichung, IQR: Interquartilsabstand.

		Baseline
Altersbereich in Jahren		31-84
Mittelwert (SD)		56,35 (10,92)
Geschlecht n (%)	Männer	148 (77,5%)
	Frauen	43 (22,5%)
Symptome n (%)	Diarrhoe/Malabsorption	146 (76,4%)
	Gewichtsverlust	99 (51,8%)
	Gelenkbeteiligung	129 (67,5%)
	Neurologische Symptome	46 (24,1%)
	Fieber	49 (25,7%)
Immunsuppressiv vorbehandelt n (%)		65 (34%)
Symptombdauer bis zur Diagnosestellung in Jahren		0-51
25%-Quartil		1
50%-Quartil		5
75%-Quartil		10
IQR		9

Nachbeobachtungszeitraum:

Der geplante systematisch untersuchte Zeitraum der 191 Patienten lag nach Therapieeinleitung bei 36 Monaten mit den entsprechenden Kontrollintervallen.

Der individuelle Zeitraum reichte von 0 Tagen bis zu 27 Jahren. Ein Patient ließ nach Diagnosestellung keine weitere Diagnostik durchführen. Nicht regelhaft und von verschiedenen Faktoren wie u.a. dem Krankheitsverlauf, dem Zeitpunkt und Ort der Diagnosestellung abhängig, bestand bei anderen Patienten eine Anbindung von bis zu 324 Monaten. Die mediane Nachbeobachtungszeit lag bei 66 Monaten (**Tabelle 3**).

Tabelle 3: Beobachtungszeit in Monaten

IQR: Interquartilsabstand.

		Beobachtungszeit in Monaten
Minimum		0
Maximum		324
Perzentile	25	12
	50	66
	75	80
IQR		68

3.1.2 Paraklinik

3.1.2.1 Gastrointestinaltrakt

Die wie in den vorherigen Kapiteln beschriebene Diagnostik und Probengewinnung konnte von den 191 in dieser Arbeit ausgewerteten Patienten bei 190 Patienten erfolgen (**Tabelle 4**). Ein Patient lehnte die gastrointestinale Diagnostik ab.

Tabelle 4: Gastroskopisch gewonnene Befunde bei Diagnose (n=190)

*1x nur im terminalen Ileum.

Von 100% abweichende Ergebnisse rundungsbedingt.

ZA: Zottenatrophie, LA: Lymphangiektasie, PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion,

PCR: Polymerase-Kettenreaktion, IHC: Immunhistochemie.

Untersuchungsmethoden	Ergebnis	Baseline
Makroskopie	unauffällig n (%)	140/190 (73,7%)
	auffällig n (%)	50/190 (26,3%)
	typisch n (%)	21/190 (11,1%)
	Duodenitis n (%)	19/190 (10%)
	unspezifisch n (%)	10/190 (5,3%)
Histologie	Zottenatrophie n (%)	35/190 (18,4%)
	Lymphangiektasie n (%)	37/190 (19,5%)
	ZA+LA n (%)	24/190 (12,6%)
	keine ZA oder LA n (%)	94/190 (49,5%)
PAS	I n (%)	168/190 (88,4%)*
	Submucosa n (%)	3/190 (1,6%)
	>I bis <III n (%)	5/190 (2,6%)
	- davon I/II n (%)	- 1/190 (0,5%)
	- davon II n (%)	- 3/190 (1,6%)
	- davon II/III n (%)	- 1/190 (0,5%)
	III-IV n	0/190
	negativ n (%)	14/190 (7,4%)
PCR	durchgeführt n (%)	96/190 (50,5%)
	positiv n (%)	87/96 (90,6%)
	negativ n (%)	9/96 (9,4%)
IHC	durchgeführt n (%)	28/190 (14,7%)
	positiv n (%)	19/28 (67,9%)
	schwach positiv n (%)	1/28 (3,6%)
	negativ n (%)	8/28 (28,6%)

Makroskopie: Von 190 durchgeführten Gastroskopen bei Diagnosestellung zeigten 140 (73,7%) makroskopisch keine relevanten Auffälligkeiten. Von den 50 auffälligen Untersuchungen der 190 Patienten (26,3%) zeigten 21 (11,1% der gastroskopierte Patienten) die typischen durch T. whipplei verursachten makroskopischen Veränderungen (**Abbildung 2**). Darunter fielen verplumpte und/oder dilatierte Zotten, Lymphangiektasien und/oder Ödeme der Schleimhaut. 19 von 190 (10%) hatten eine Duodenitis, teils moderat, teils erosiv, teils hämorrhagisch. 10 von 190 (5,3%) zeigten unspezifische Veränderungen wie Rötungen oder Veränderungen in der Zottenarchitektur (**Abbildung 2**).

Histologie: In den nachfolgenden Untersuchungen zeigten sich histologisch die für den M. Whipple typischen Befunde (**Abbildung 3**) in Form der Zottenatrophien bei 35 von 190 Patienten (18,4%), Lymphangiektasien konnten bei 37 von 190 (19,5%) nachgewiesen werden. Bei 24 von 190 (12,6%) konnten Zottenatrophien und Lymphangiektasien gezeigt werden.

168 von 190 endoskopierte Patienten hatten eine charakteristische PAS-Färbung vom Typ I nach von Herbay (88,4%) (**Abbildung 3**), einer davon lediglich im terminalen Ileum.

Drei von 190 (1,6%) Patienten ließen sich per definitionem nicht im Sinne der im Methodik-Abschnitt erläuterten von-Herbay-Klassifikation (29; 78) einstufen, da die bei diesen Patienten PAS-positiven Befunde nicht in der Mucosa, sondern ausschließlich in der Submucosa nachgewiesen wurden (**Abbildung 3**). Daher wurde die nachgewiesene Positivität nicht weiter gradiert, sondern lediglich als PAS-positiv eingestuft.

Die PAS-Befunde der anderen 187 von 190 Patienten (98,4%) wurden, wie im vorangegangenen Kapitel dargelegt, nach von Herbay (29; 78) gradiert. Die Erhebung der entsprechenden Befunde erfolgte bei positiver PAS-Färbung (von PAS I bis PAS IV) in der Mucosa, unabhängig von einer mitbetroffenen Submucosa. Die Auswertung der Submucosa erfolgte, falls die Mucosa nicht betroffen war. PAS-negative Patienten reagierten weder in der Mucosa noch in der Submucosa positiv.

Fünf von 190 Patienten (2,6%) wurden als Zwischenstufen in der von-Herbay-Klassifikation gradiert, da sie nicht eindeutig zuzuordnen waren und werden wie andere Patienten im therapeutischen Verlauf in dieser Arbeit als I/II, II/III usw. klassifiziert. Die Befunde dieser Patienten waren innerhalb der Mucosa PAS-positiv, jedoch > PAS I. Sie waren wahrscheinlich vorbehandelt, im Therapieverlauf (Kapitel 3.2) wird darauf noch einmal eingegangen. Einer dieser Patienten (0,5%) wurde als PAS I/II klassifiziert, drei Patienten (1,6%) mit PAS II, ein Patient (0,5%) mit PAS II/III. Positiv mit \geq PAS III waren keine Patienten.

14 von 190 Patienten (7,4%) wiesen keine PAS-positiven Befunde auf, beispielhaft in **Abbildung 3**. Diese 14 PAS-negativen Patienten werden gesondert mit den drei Patienten der Submucosa-Varianten, den fünf vorbehandelten und dem Patienten ohne endoskopische Diagnostik in den Kapiteln 3.1.4 bzw. 3.2.4 betrachtet.

Molekularbiologie: PCR-Untersuchungen bei Diagnose konnten bei gut der Hälfte der endoskopierte Patienten (96/190; 50,5%) durchgeführt werden, 87 von 96 (90,6%) waren positiv, 9 von 96 (9,4%) negativ.

IHC: Eine immunhistochemische Untersuchung bei Diagnose lag bei 28 von 190 gastroskopierte Patienten vor (14,7%). 19 der 28 (67,9%) der zusätzlich immunhistochemisch untersuchten waren positiv, einer (3,6%) war schwach positiv. 8 von 28 (28,6%) der Getesteten waren negativ, alle acht Patienten (100%) waren auch in der PAS-Untersuchung negativ.

Abbildung 2 zeigt verschiedene makroskopische Befunde bei Diagnosestellung des M. Whipple. In **Abbildung 3** werden histologische Befunde und positive Reaktionen auf den für T. whipplei spezifischen Antikörper veranschaulicht.

Prinzipiell könnte es sich bei den Befunden E-H (**Abbildung 3**) auch um rückläufige Befunde im Therapieverlauf handeln.

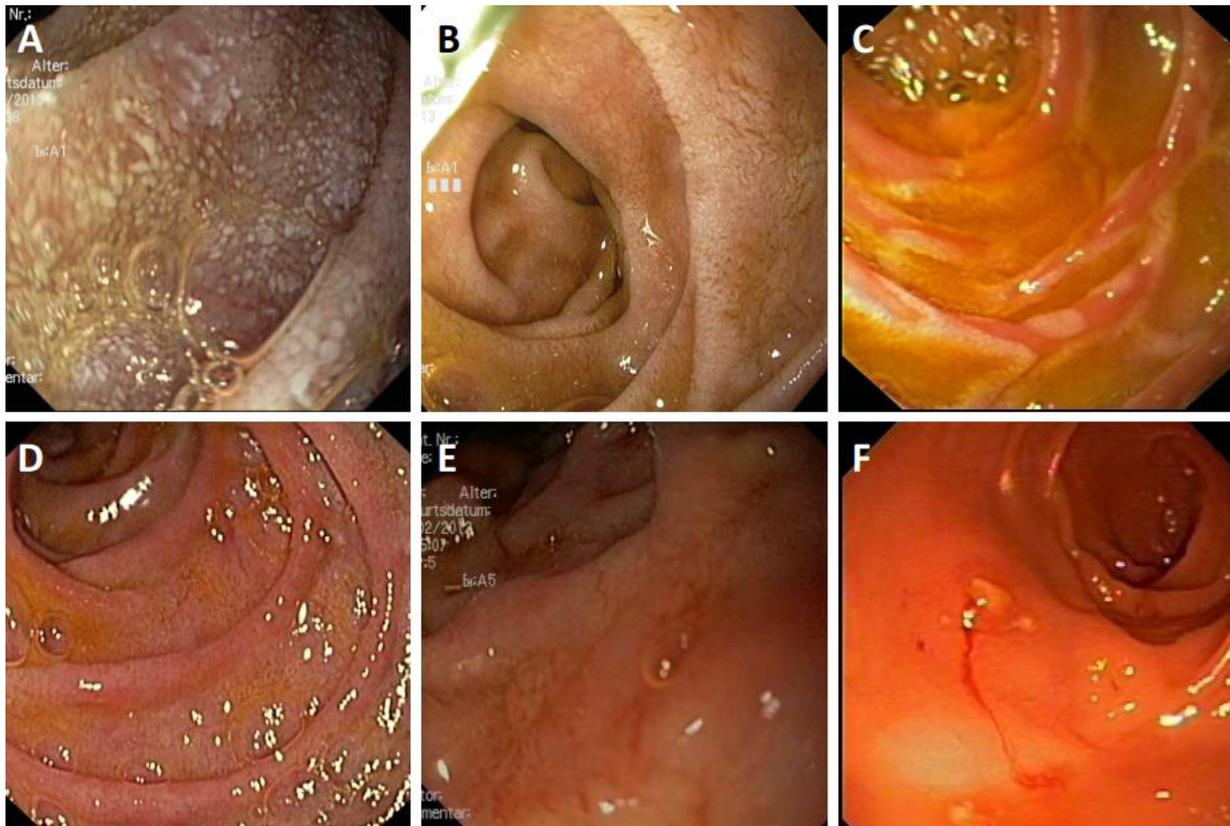


Abbildung 2, siehe auch (94): Unterschiedliche makroskopische Befunde im Duodenum bei Diagnosestellung

- A: Charakteristischer, aber seltener Befund mit verplumpten und dilatierten Zotten sowie ausgeprägten Lymphangiectasien.
- B: Diskreter Befund mit weißlichen Zottenspitzen.
- C: Duodenale Mucosa mit unspezifischer Duodenitis.
- D: Gerötete abgeflachte Zottenspitzen.
- E: Gerötete ödematöse Zotten.
- F: Ulcerierte duodenale Schleimhaut.

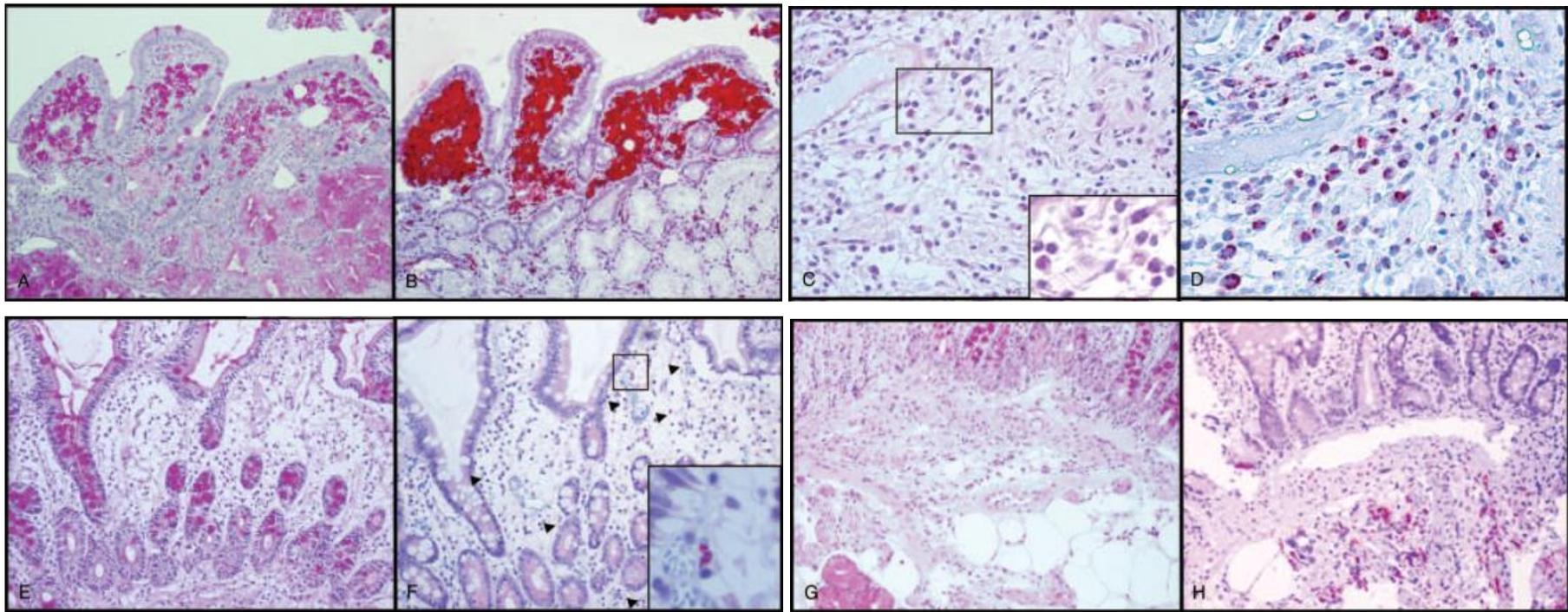


Abbildung 3, siehe auch (94): Histologische Befunde im Duodenum bei M. Whipple mittels PAS-Färbung (A, C, E, G) und spezifischer IHC (B, D, F, H)

A: Typischer histologischer Ausgangsbefund mit verplumpten Zotten und Lymphangiectasien sowie zahlreichen PAS-positiven Makrophagen vom Typ 1 nach von Herbay (29; 78). B: Kräftig positive Reaktion gegen *Tropheryma whipplei*.

C: Atypischer PAS-positiver Befund nur der Submucosa (Vergrößerung der schwach PAS-positiven Zellen). D: Bestätigung durch die IHC in der Submucosa.

E: Negative PAS-Färbung in der Lamina propria. F: Wenige IHC-positive Zellen, siehe auch Pfeilspitzen und in Vergrößerung.

G: Negative PAS-Färbung in der Submucosa. H: Nachweis von *Tropheryma whipplei* in der Submucosa nur durch die IHC.

M.: Morbus, PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion, IHC: Immunhistochemie.

3.1.2.2 Liquor-PCR

Bei 135 von 191 (70,7%) Patienten wurde bei Diagnosestellung vor geplanter Therapieeinleitung eine Liquorpunktion durchgeführt (**Tabelle 5**). Bei 56 von 191 (29,3%) Patienten wurde bei Diagnose keine Lumbalpunktion durchgeführt, lag kein Ergebnis vor oder erfolgte diese erst nach Therapiebeginn. 56 von 135 Untersuchten (41,5%) hatten eine positive PCR, 79 von 135 (58,5%) waren negativ.

Tabelle 5: Liquor-Punktionen vor geplanter Therapie

PCR: Polymerase-Kettenreaktion.

Liquor-PCR	durchgeführt n (%)	135/191 (70,7%)
	nicht durchgeführt n (%)	56/191 (29,3%)
	positiv n (%)	56/135 (41,5%)
	negativ n (%)	79/135 (58,5%)

3.1.3 Wertigkeiten der Diagnostik und Vergleiche

Wertigkeit der GI-Diagnostik für die Diagnosestellung:

Von 190 gastro-duodenoskopierte Patienten war alleine die PAS-Färbung bei 92,6% der Patienten (176/190) wegweisend, davon 168 Patienten mit pathognomonischem Typ-I-Befund der PAS-Färbung in der Mucosa, drei positive PAS-Färbungen in der Submucosa und fünf (vorbehandelte) Patienten mit positiven PAS-Befunden > I bis < III (**Tabelle 6**).

Tabelle 6: Wertigkeit histologischer Untersuchungen/PCR nach gastrokopischen Biopsien bei Patienten mit M. Whipple

PCR: Polymerase-Kettenreaktion, PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion, M.: Morbus.

Untersuchungsmethode	Ergebnis
PAS-Färbung wegweisend	176/190 (92,6%)
PAS-Färbung negativ	14/190 (7,4%)
Mind. zwei positive Befunde duodenal	178/190 (93,7%)
Mind. zwei positive Befunde gastroduodenal	179/190 (94,2%)
Mind. ein positiver Befund duodenal	182/190 (95,8%)

178 von 190 Patienten (93,7%) wiesen zwei verschiedene positive duodenale Befunde auf, 179 von 190 Patienten (94,2%) wiesen mindestens zwei positive gastroduodenale Befunde auf. Bei 182 von 190 (95,8%) der Patienten, bei denen ein M. Whipple festgestellt werden konnte, erbrachte die duodenale Diagnostik zumindest einen positiven Befund auf dem Weg zur Diagnosestellung.

Vergleich positiver bzw. auffälliger Befunde im GI-Trakt (Tabelle 7):

Patienten, bei den PAS-positive Zellen vom Typ I nachgewiesen werden konnten, waren zu 96,3% (77/80) auch in der PCR positiv, 3 von 80 (3,8%) waren negativ. Wenn eine immunhistochemische Untersuchung bei Patienten mit PAS-Ergebnissen vom Typ I durchgeführt wurde, war diese zu 100% positiv (13/13 Patienten); die Korrelation im PAS-Befund bei negativer IHC war die zweite regelhaft vorliegende Befundkonstellation der gesamten Diagnostik, bei 8 von 8 Patienten (100%) mit negativer immunhistochemischer Untersuchung war der PAS-Befund ebenfalls negativ.

Bei Patienten mit einer positiven PCR lag zu 81,3% (78/96 Patienten) ein PAS-positiver Befund vom Typ I vor. Wenn zusätzlich bei PCR-positiven Patienten eine immunhistochemische Untersuchung durchgeführt wurde, war diese zu 84,6% (11/13 Patienten) ebenfalls positiv.

Bei den 19 in der Immunhistochemie positiven Patienten lag zu 68,4% (13/19 Patienten) ein Ergebnis, das nach von Herbay (29; 78) als PAS I klassifiziert wurde, vor. Zwei Patienten waren vermutlich vorbehandelt (PAS I/II bzw. PAS II), zwei Patienten waren in der Submucosa PAS-positiv, so dass 16 von 19 (84,2%) der IHC-positiven Patienten auch einen auffälligen duodenalen PAS-Befund hatten. 3 von 19 (15,8%) der IHC-positiven Patienten hatten einen negativen PAS-Befund (siehe atypische Patienten in Kapitel 3.1.4). 11 von 13 immunhistochemisch positiven Patienten waren ebenso PCR-positiv (84,6%), dabei waren 2 von 13 (15,4%) wahrscheinlich vorbehandelt.

Tabelle 7: Gegenüberstellung auffälliger bzw. positiver Befunde

*: 2/13 wahrscheinlich vorbehandelt, **: 2/19 PAS-positive Submucosa.

PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion, PCR: Polymerase-Kettenreaktion,

IHC: Immunhistochemie.

Befund	Bezugsbefunde	Ergebnis
PAS I	PCR + IHC +	77/80 (96,3%) 13/13 (100%)
PCR +	PAS I IHC +*	78/96 (81,3%) 11/13 (84,6%)
IHC +	PAS I PAS auffällig** PCR +*	13/19 (68,4%) 16/19 (84,2%) 11/13 (84,6%)

Symptomatik vs. Histologie/Molekularbiologie Im GI-Trakt:

Tabelle 8 zeigt einen Überblick über das Korrelat klinischer Beschwerden zu den paraklinisch erhobenen Befunden.

Tabelle 8: Klinische Befunde vs. Histologie/Molekularbiologie im Gastrointestinaltrakt

*: bis auf drei vermutlich vorbehandelte Patienten (PAS II bzw. II/III)

mit typischem Typ PAS I nach von Herbay (29; 78) in der duodenalen Mucosa.

PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion, PCR: Polymerase-Kettenreaktion.

Symptomatik	Untersuchungsergebnisse
159/191 (83,2%) Patienten mit Diarrhoe und/oder Gewichtsverlust	158/159 (99,4%) mit auffälligem PAS-Ergebnis*, 1/159 (0,6%) PAS positiv in der Submucosa
32/191 (16,8%) Patienten: nur neurologische oder Gelenksbeschwerden	31/32 (96,9%) Gastroskopie erfolgt, 15/31 (48,4%) Histologie/PCR gastrointestinal auffällig

159 von 191 (83,2%) eingeschlossenen Patienten hatten Befunde einer Malabsorption im Sinne von Diarrhoe und/oder Gewichtsverlust ohne dass diese Beschwerden einer anderen Ursache zuzuordnen waren. 158 dieser 159 (99,4%) an M. Whipple Erkrankten wiesen einen typischen PAS-I-Befund nach von Herbay (29; 78) auf, darunter drei der vermutlich vorbehandelten (**Tabelle 8**), der eine verbliebene Patient der 159 (0,6%) war im Bereich der Submucosa PAS-positiv.

Im Gegensatz dazu wiesen 32 von 191 (16,8%) ausschließlich neurologische Beschwerden oder Arthralgien auf. Bei 31 dieser 32 Patienten wurde eine Gastroskopie durchgeführt und bei 15 von 31 (48,4%) war die Histologie/PCR auch ohne gastrointestinale Beschwerden auffällig.

Von allen endoskopisch untersuchten PCR-negativen Patienten (9 der 96 Untersuchten) (**Tabelle 4**) hatten vier keine Anzeichen für eine gastrointestinale Beteiligung und drei Patienten waren wahrscheinlich vorbehandelt.

Keiner der acht Patienten, die eine negative immunhistochemische Untersuchung aufwiesen (**Tabelle 4**), hatte gastrointestinale Beschwerden. Diese Patienten werden im Kapitel 3.1.4 betrachtet.

Symptomatik vs. Liquor-PCR (Abbildung 4):

Im Folgenden werden die 135 von 191 (70,7%) per Liquor-PCR Untersuchten (**Tabelle 5**) aus zwei verschiedenen Perspektiven aufgeschlüsselt.

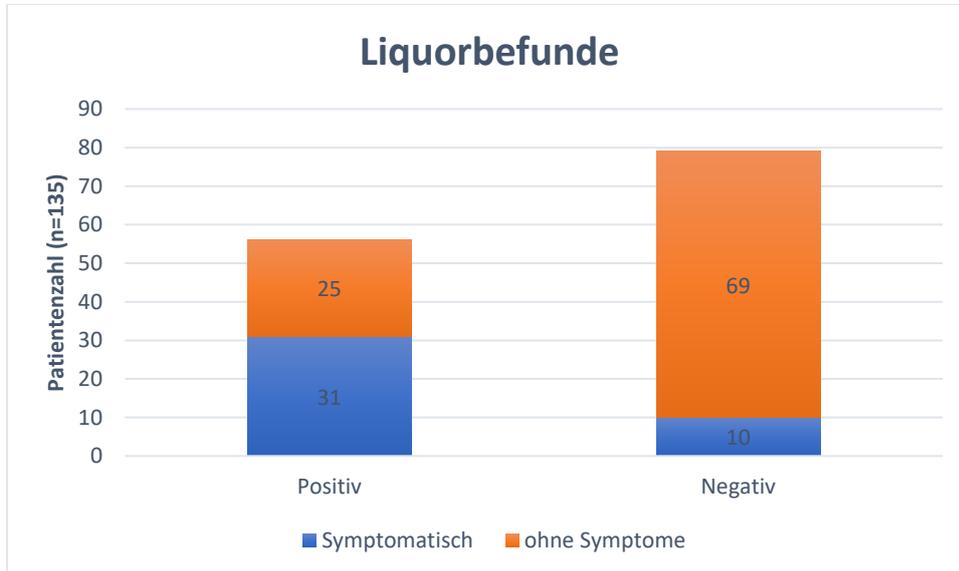


Abbildung 4: Neurologische Beschwerden vs. Liquorbefunde

Symptomatisch: Kognitive Veränderungen, neu aufgetretene Nystagmen, Myoklonien, Ophthalmoplegien, Ataxien, periphere Neuropathien etc.
Positiv: PCR (Polymerase-Kettenreaktion).

Klinisch betrachtet waren etwa drei Viertel (31/41; 75,6%) der neurologisch symptomatischen Patienten PCR-positiv, die restlichen 10 von 41 (24,4%) symptomatischen Patienten waren negativ. 69 von 94 asymptomatischen Patienten (73,4%) wiesen im Liquor einen negativen Befund auf, mehr als ein Viertel der Patienten (25/94; 26,6%) waren ohne Symptomatik positiv.

Molekularbiologisch betrachtet waren 31 von 56 (55,4%) der positiven Punktionsergebnisse von Patienten mit neurologischen Symptomen, entsprechend stammten 25 von 56 (44,6%) der positiven Liquor-PCRs von Patienten ohne objektivierbare Symptome. 69 von 79 (87,3%) negativen Liquorbefunden stammten von symptomfreien Patienten, 10 von 79 (12,7%) negativen PCR-Ergebnissen gehörten zu Patienten mit neurologischen Beschwerden.

3.1.4 Atypische Patienten

Unter dem Begriff „atypische Patienten“ erfolgt eine Darstellung der 23 von 191 (12%) Patienten, die abweichende Befunde von der insbesondere im Methodik-Abschnitt beschriebenen typischen Befundkonstellation aufwiesen (bzw. keine weitere Diagnostik erfolgen konnte), jedoch trotzdem an einer chronischen Infektion durch *T. whipplei* im Sinne der vorliegenden Arbeit litten.

Die fünf erwähnten wahrscheinlich vorbehandelten Patienten werden als solche detaillierter im Therapieverlauf in Kapitel 3.2.4, die anderen 18 Patienten werden bei Diagnosestellung im Folgenden betrachtet (**Tabelle 9**).

Die Übersicht zeigt neben der duodenalen Befundung, dem Diagnoseschema entsprechend den Liquorbefund, auch extraduodenale Nachweise im GI-Trakt im Rahmen der ÖGD sowie extraintestinale Manifestationen. In der letzten Spalte erfolgt die Bewertung der Nachweise im GI-Trakt bzw. in anderen Organen als (bestätigte) Manifestation oder nur als einzelne Nachweise.

Bei den Patienten 1-6 konnten mindestens zwei gastrointestinale Nachweise erfolgen.

Drei Patienten hatten PAS-positive Befunde (Patienten 2, 3 und 5), jedoch in der Submucosa (siehe auch Abschnitt 3.1.2).

Tabelle 9: 18 atypische Patienten, duodener Befund, Liquorergebnis und ggf. weitere Manifestationen

Patienten 1-6 mit mind. zwei gastrointestinalen Nachweisen (bis auf Patient 2 ohne GI-Beschwerden), Patient 7-18 max. ein duodener Nachweis.

PAS (+) = nur Submucosa positiv; + = positiv; - = negativ bzw. unauffällig; >< = nicht erfolgt bzw. nicht vorliegend.

*: 1. Ggf. bestätigter (atypischer) GI-Trakt-Nachweis + 2. Ggf. bestätigte Nachweise in anderen Organen bzw. Organsystemen.

GI: Gastrointestinal, PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion, PCR: Polymerase-Kettenreaktion, IHC: Immunhistochemie.

Patient	Besonderheiten	PAS	PCR	IHC	Liquor-PCR	Weiterer Organbefall	Bewertung*
1		-	-	-	+	Antrum (PAS und PCR)	1. Magen-Manifestation 2. ZNS
2	Symptome (GI-Trakt), makroskopisch auffällig	(+)	+	+	-	Knie Synovia (PAS und IHC)	1. Duodenum-Manifestation 2. Gelenk Knie
3		(+)	+	+	-	Knie Synovialflüssigkeit (PCR)	1. Duodenum-Manifestation 2. Gelenk Knie
4		-	+	+	+	Knie Synovia (PAS und IHC)	1. Duodenum-Manifestation 2. ZNS, Gelenk Knie
5		(+)	+	><	-		1. Duodenum-Manifestation
6		-	+	+	><		1. Duodenum-Manifestation

Tabelle 9: 18 atypische Patienten, duodener Befund, Liquorergebnis und ggf. weitere Manifestationen

Patienten 1-6 mit mind. zwei gastrointestinalen Nachweisen (bis auf Patient 2 ohne GI-Beschwerden), Patient 7-18 max. ein duodener Nachweis.

PAS (+) = nur Submucosa positiv; + = positiv; - = negativ bzw. unauffällig; >< = nicht erfolgt bzw. nicht vorliegend.

*: 1. Ggf. bestätigter (atypischer) GI-Trakt-Nachweis + 2. Ggf. bestätigte Nachweise in anderen Organen bzw. Organsystemen.

GI: Gastrointestinal, PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion, PCR: Polymerase-Kettenreaktion, IHC: Immunhistochemie.

Patient	Besonderheiten	PAS	PCR	IHC	Liquor-PCR	Weiterer Organbefall	Bewertung*
7		><	><	><	><	Lymphknoten (PAS und IHC)	2. Lymphknoten
8		-	><	-	+		2. ZNS
9	GI-Nachweis im Verlauf	-	><	-	+	Tränenflüssigkeit (PCR)	2. ZNS, Tränendrüse
10		-	><	-	+		2. ZNS
11		-	-	+	><		1. IHC Duodenum
12		-	-	><	-	Lymphknoten (PAS und IHC)	2. Lymphknoten
13	im Verlauf verstorben	-	-	-	-	Femurkopf (PCR)	2. Femur
14		-	><	-	+		2. ZNS
15		-	><	+	+		1. IHC Duodenum 2. ZNS
16		-	+	-	+	Haut (IHC)	1. PCR Duodenum 2. ZNS, IHC Haut
17	GI-Nachweis im Verlauf	-	-	-	><	Gelenk Synovialflüssigkeit (PCR)	2. Gelenk
18		-	+	><	-	Gelenk Synovialflüssigkeit (PCR)	1. PCR Duodenum 2. Gelenk

Die Patienten 7-18 wiesen lediglich maximal einen duodenalen Nachweis auf. Einer dieser Patienten (Patient 7) lehnte nach Diagnosestellung aus einem Lymphknoten die weitere endoskopische Diagnostik wie auch weitere Untersuchungen im Verlauf ab.

14 Patienten (Patienten 1, 4, 6 und 8-18) waren PAS-negativ nach von Herbay (29; 78).

Von den 18 Patienten hatten 17 von 18 (94,4%) keine gastrointestinale Symptomatik, lediglich ein Patient wies entsprechende Beschwerden auf. Dieser Patient (Patient 2) litt unter wässriger Diarrhoe (4-5 x am Tag) und 15-20 kg Gewichtsverlust. Darüber hinaus zeigte dieser Patient zusätzlich makroskopisch eine erosive Duodenitis und verplumpte Zotten mit dem entsprechenden histologischen Äquivalent der Zottenatrophie. Die PAS-Untersuchung war ausschließlich in der Submucosa positiv.

Zusätzlich zur positiven Immunhistochemie lag bei diesem wie bei den beiden anderen in der Submucosa PAS-positiven Patienten ein positives PCR-Ergebnis im Duodenum vor. Bei zwei dieser drei Submuco-Patienten konnten positive Ergebnisse in weiteren Organen nachgewiesen werden, in der Synovia bzw. in der Synovialflüssigkeit des Knies.

1 von 18 Patienten hatte im Gastrointestinaltrakt lediglich im Magen positive Nachweise (Patient 1) sowie extraintestinal im ZNS.

Die zwölf Patienten mit maximal einem duodenalen Nachweis (Patienten 7-18) setzten sich wie folgt zusammen:

Bei vier dieser Patienten 7-18 konnte jeweils ein duodenaler Nachweis erfolgen. Bei zwei Patienten war nur die duodenale PCR positiv, dort konnte die Diagnose einmal aus dem ZNS (Patient 16) sowie zusätzlich positivem Ergebnis der IHC der Haut gestellt werden, einmal mittels positiver PCR von Synovialflüssigkeit (Patient 18). Patient 11 hatte ausschließlich eine positive IHC duodenal ohne weitere Nachweise, bei einem Patienten (Patient 15) konnte zur positiven duodenalen IHC-Untersuchung noch ein positiver Liquorbefund ermittelt werden.

Bei acht dieser zwölf Fälle konnte gar kein gastrointestinaler Nachweis erfolgen (Patienten 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 17), die Diagnosestellung erfolgte über die Lumbalpunktion (Patienten 8, 10, 14), einen Lymphknoten (Patienten 7, 12), die Tränenflüssigkeit (Patient 9), über Synovialflüssigkeit (Patient 17) oder Material aus dem Femur (Patient 13).

Bei den 18 atypischen Patienten ließen sich folgende isolierte oder mehrere gleichzeitig bestehende extraduodenale Manifestationen nachweisen: 8 von 18 (44,4%) im ZNS, 5 von 18 (27,8%) in Gelenken, 2 von 18 (11,1%) in Lymphknoten, 3 von 18 (16,7%) in sonstigen Geweben (Haut, Auge, Knochen).

3.1.5 Die Entität des M. Whipple

In der Einleitung wurde beschrieben, dass verschiedene Bezeichnungen und Befundzuordnungen bis heute unterschiedlich und nicht einheitlich verwendet werden. Anhand der dargestellten Befunde und deren Konstellationen werden mit (Abbildung 5) zur Diagnosestellung typische oder atypische Befunde mit definierten Bezeichnungen und Abstufungen zusammengefasst. Nach heutigem Stand werden damit die T. whipplei unabhängig vom Genotyp zuzuordnenden Krankheitsentitäten erfasst und dessen breitem Manifestationsspektrum unter einem Überbegriff Rechnung getragen. Damit werden über die Begriffe „klassischer M. Whipple (CWD) oder intestinale Lipodystrophie“, „M. Whipple“ und „Isolierter Whipple“ hinaus, bisher nicht erfasste Befundkonstellationen unmittelbar abgebildet. Unter den vorgeschlagenen paraklinischen Abstufungen wird der Begriff klassischer M. Whipple (CWD) definiert bzw. enger gefasst und in den Oberbegriff M. Whipple integriert.

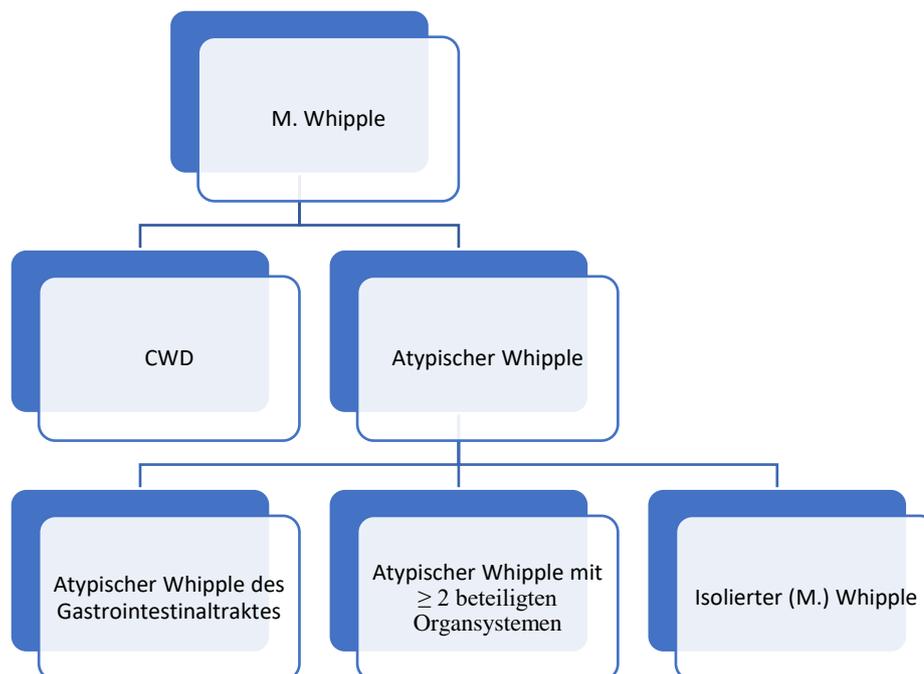


Abbildung 5: Gliederung und Abstufungen des M. (Morbus) Whipple

CWD: classical Whipple's disease: Makrophagen im Duodenum (Dünndarm) mit Diastase-positiven Einschlüssen und typischer PAS-Reaktion mit positiven Zellen vom Typ I nach von Herbay (29; 78), unabhängig von zusätzlichen Manifestationen.

Der M. Whipple wird anhand der möglichen Konstellationen und mithilfe der vorliegenden Daten in zwei Hauptgruppen untergliedert, zum einen in den klassischen M. Whipple („CWD“) und zum anderen in den „Atypischen Whipple“. Im Gegensatz zum Atypischen Whipple liegt im Sinne dieser Arbeit ein klassischer M. Whipple vor, wenn die Patienten bei Diagnosestellung im Duodenum (Dünndarm) in der PAS-Untersuchung einen typischen PAS-I-Befund nach von Herbay aufweisen (29; 78).

Diesen Befund zeigten 168 von 190 (88,4%) aller Patienten. Bei der PAS-Reaktion handelt es sich um eine Standard-Untersuchung, deren Befund mit positiven Zellen vom Typ I pathognomonisch für die gastrointestinale Manifestation der Erkrankung ist, zu > 97% (155 bzw. 158/159 Patienten) den typischen Beschwerden (Diarrhoe und/oder Gewichtsverlust) eines unbehandelten Patienten zuzuordnen ist und in der Gegenüberstellung der Befunde als Ausgangsbefund die PCR in 96,3% (77/80) und die Immunhistochemie in 100% (13/13) der Fälle bestätigt (**Tabelle 7**).

Der Atypische Whipple wird in drei Untergruppen unterteilt, um den möglichen Befundkonstellationen gerecht zu werden sowie diese damit genauer zu beschreiben.

Beim „Atypischen Whipple des Gastrointestinaltraktes“ lässt sich die Diagnose dort anhand des Diagnoseschemas stellen, jedoch ohne den klassischen PAS-Befund. Ebenso fallen darunter Patienten, bei denen andere nicht typische Teile des Magen-Darm-Traktes befallen sind, wie beispielsweise das Antrum ventriculi.

Beim „Atypischen Whipple mit \geq zwei beteiligten Organsystemen“ sind mindestens zwei Organe bzw. Organsysteme betroffen, beispielsweise ein Gelenk und der Gastrointestinaltrakt. Der Gastrointestinaltrakt muss dabei jedoch nicht betroffen sein.

Unter dem Begriff „Isolierter (M.) Whipple“ werden Patienten subsummiert, bei denen positive Befunde gemäß dem Diagnoseschema nur in einem Organ und außerhalb des typischerweise betroffenen Gastrointestinaltraktes nachgewiesen wurden, beispielsweise ein „Isolierter Whipple des ZNS“.

3.1.6 Therapien

Abbildung 6 zeigt die bei den 191 betrachteten Patienten angewendeten Therapien. 98 von 191 (51,3%) betrachteten Patienten wurden mit einer 14-tägigen Induktionstherapie mittels 1 x 2 g/Tag intravenösem Ceftriaxon und anschließender zwölfmonatiger oraler Dauertherapie mit zweimal täglichem Cotrimoxazol (Trimethoprim/Sulfamethoxazol 160 mg/800 mg) behandelt. 18 Patienten (9,4%) erhielten 3 x 1 g Meronem oder Imipenem und jeweils eine anschließende zwölfmonatige

orale Dauertherapie mit zweimal täglichem Cotrimoxazol (Trimethoprim/Sulfamethoxazol 160 mg/800 mg). Dazu zählten jeweils auch die Patienten der SIMW-Studie, in der diese beiden Therapien miteinander verglichen wurden.

35 Patienten (18,3%) wurden nach 14-tägiger Ceftriaxon-Behandlung drei Monate mit Cotrimoxazol in vorbeschriebener Dosierung per os zur Erhaltung therapiert, worunter auch die Patienten des dritten Armes der SIMW-Studie fielen.

40 Patienten (20,9%) fielen unter Sonstiges bzw. andere Therapien. Dabei handelte es sich unter anderem um Kombinations- oder Monotherapien (32/40) wie Doxycyclin/Hydroxychloroquin oder mit Doxycyclin bzw. Cotrimoxazol alleine.

Darüber hinaus fanden (noch) keine Therapien statt (2/40), waren diese nicht eindeutig eruierbar (2/40) oder bei Patienten war die Dauer der eingesetzten Therapie bzw. die Umstellung der Induktionstherapie auf die Erhaltungstherapie nicht (mehr) nachvollziehbar (4/40).

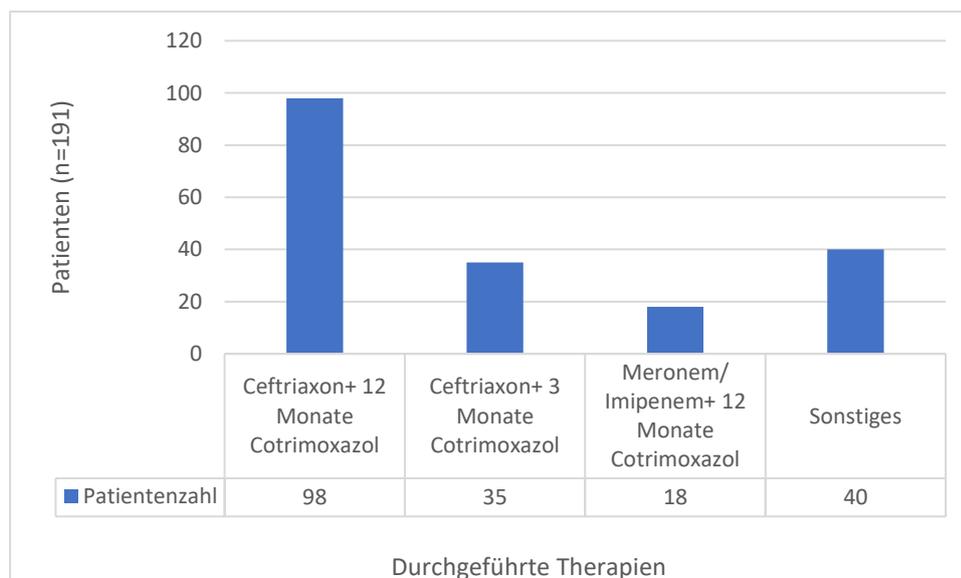


Abbildung 6: Art und Dauer der durchgeführten Therapien

3.1.7 Auswertung des Therapieverlaufes

Die Auswertung der histologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Parameter bei Diagnose erfolgte im Therapieverlauf wie folgt.

Für die PAS-Färbung im Rahmen der histologischen Untersuchungen und die Regredienz der Befunde als Therapieansprechen im Sinne einer Konversion der Makrophagen vom Typ I zum

Typ \geq III bzw. ggf. bis hin zu negativen PAS-Befunden, erfolgte eine Einteilung in Gruppen. Für deren Bildung auf Grundlage der Ausgangsbefunde und dem Therapieverlauf entsprechend wurden vier Gradationen gewählt. Gruppe 1 entspricht PAS-Befunden vom Typ I, Gruppe 2 PAS $>$ I bis $<$ III, Gruppe 3 PAS III-IV, Gruppe 4 waren PAS-negative Patienten.

Für PCR und IHC erfolgte keine Gruppierung. Bei der molekularbiologischen Diagnostik galt die Negativierung positiver Untersuchungsbefunde als Therapieerfolg, auf den angenommenen Verlauf immunhistochemischer Befunde wurde in den vorangegangenen Kapiteln eingegangen.

3.2 Therapieverlauf

3.2.1 Exemplarischer Verlauf bei klassischem M. Whipple

Abbildung 7 zeigt exemplarisch anhand eines CWD-Patienten mit klinisch unauffälligem Verlauf die makroskopischen, histologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Befunderhebungen unter Therapie mit Ceftriaxon und 3 Monaten Cotrimoxazol im Beobachtungszeitraum von 36 Monaten ab Therapieeinleitung.

Der makroskopische Ausgangsbefund zeigte die typischen Veränderungen im Sinne von Lymphangiectasien und Zottenatrophien, welche sich in der 6-Monatsuntersuchung rückläufig zeigten. Nach 12 Monaten wies der Patient dann eine unauffällige makroskopische Untersuchung auf.

Die PAS-Untersuchung zeigte vom Typ I bei Diagnose 36 Monate nach Therapiebeginn einen Therapiefortschritt auf Typ III/IV.

Die initial positive PCR-Untersuchung war nach 6 Monaten negativ und blieb es im gesamten Nachbeobachtungszeitraum.

Die immunhistochemische Untersuchung zeigte initial ein positives Ergebnis, auch nach 36 Monaten ergab sich ein positiver Befund.

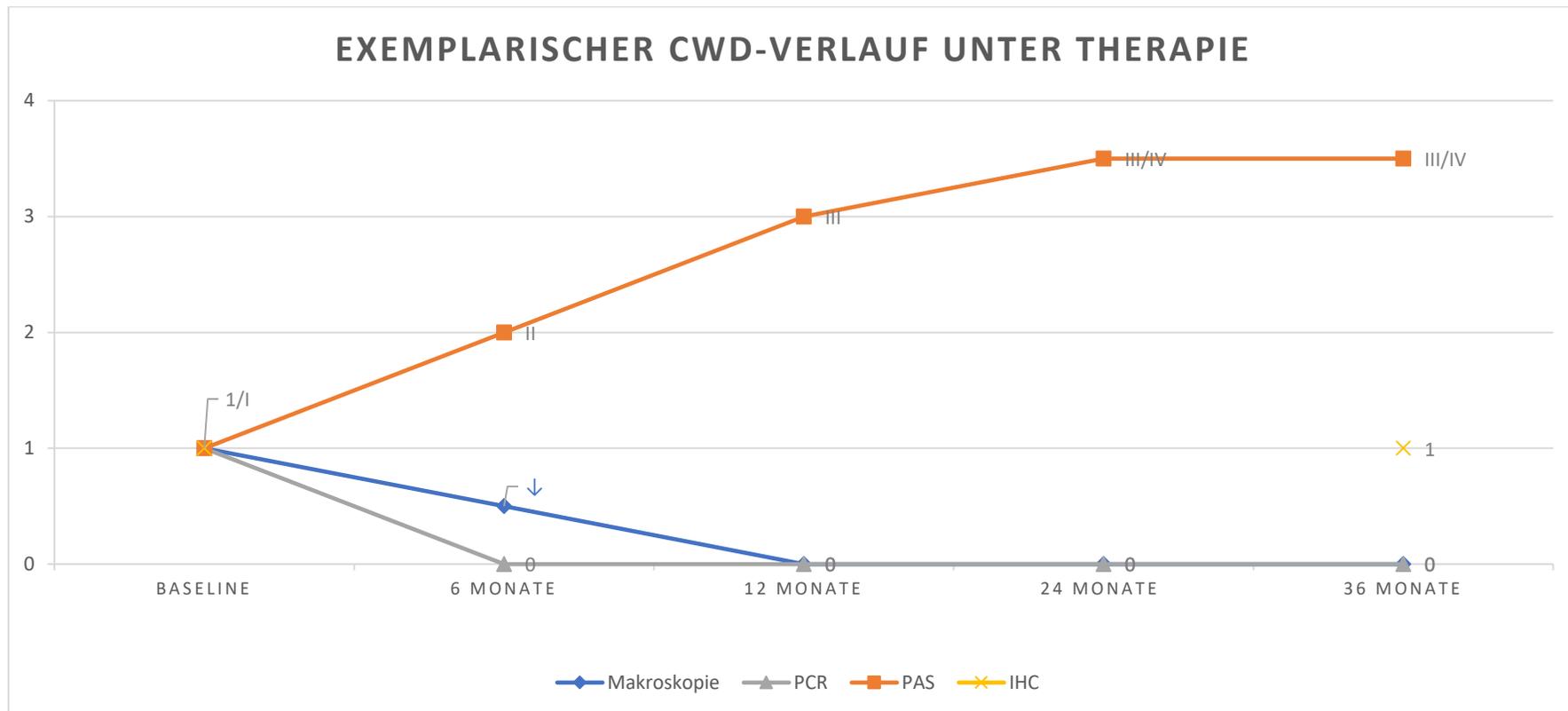


Abbildung 7: Exemplarischer Therapieverlauf eines Patienten unter Ceftriaxon und 3 Monaten Cotrimoxazol von Baseline bis 36 Monate

Makroskopie: 1= auffällig; 0,5 bzw. ↓= Befund rückläufig; 0= unauffällig; PCR: 1= positiv; 0= negativ;

PAS: I-IV nach von Herbay (29; 78) ; IHC: 1= positiv, 0 = negativ, 6-, 12- und 24 Monatsbefund: nicht erfolgt.

CWD= classical Whipple´s disease, PCR= polymerase chain reaction, PAS= periodic acid-Schiff, IHC= immunohistochemistry.

3.2.2 Detaillierte Verlaufsbetrachtung

3.2.2.1 Histologie und Molekularbiologie

Abbildung 8 zeigt zunächst einen Überblick über die Ergebnisse der PAS-Färbungen im Dünndarm nach von Herbay (29; 78) im Therapieverlauf aller Patienten. Die 3 von 190 (1,6%) nicht nach von Herbay klassifizierten Patienten, die bei Diagnose lediglich in der Submucosa eine positive PAS-Reaktion hatten, zeigten, sofern vorliegend, in den anschließenden Untersuchungen direkt PAS-negative Befunde (siehe hierzu auch Kapitel 3.2.4).

Abbildung 9 zeigt einen Überblick über die molekularbiologischen Verlaufsbefunde der Patienten. Darunter fielen neben negativen und positiven Befunden auch nicht eindeutige.

In der 6-Monatsuntersuchung war bei zwei der drei nicht eindeutigen Befunde die Erhebung bereits nach drei Monaten erfolgt. Einer der beiden war beim nächsten regulären Kontrollintervall negativ, von dem anderen Patienten lag kein weiterer Befund mehr vor.

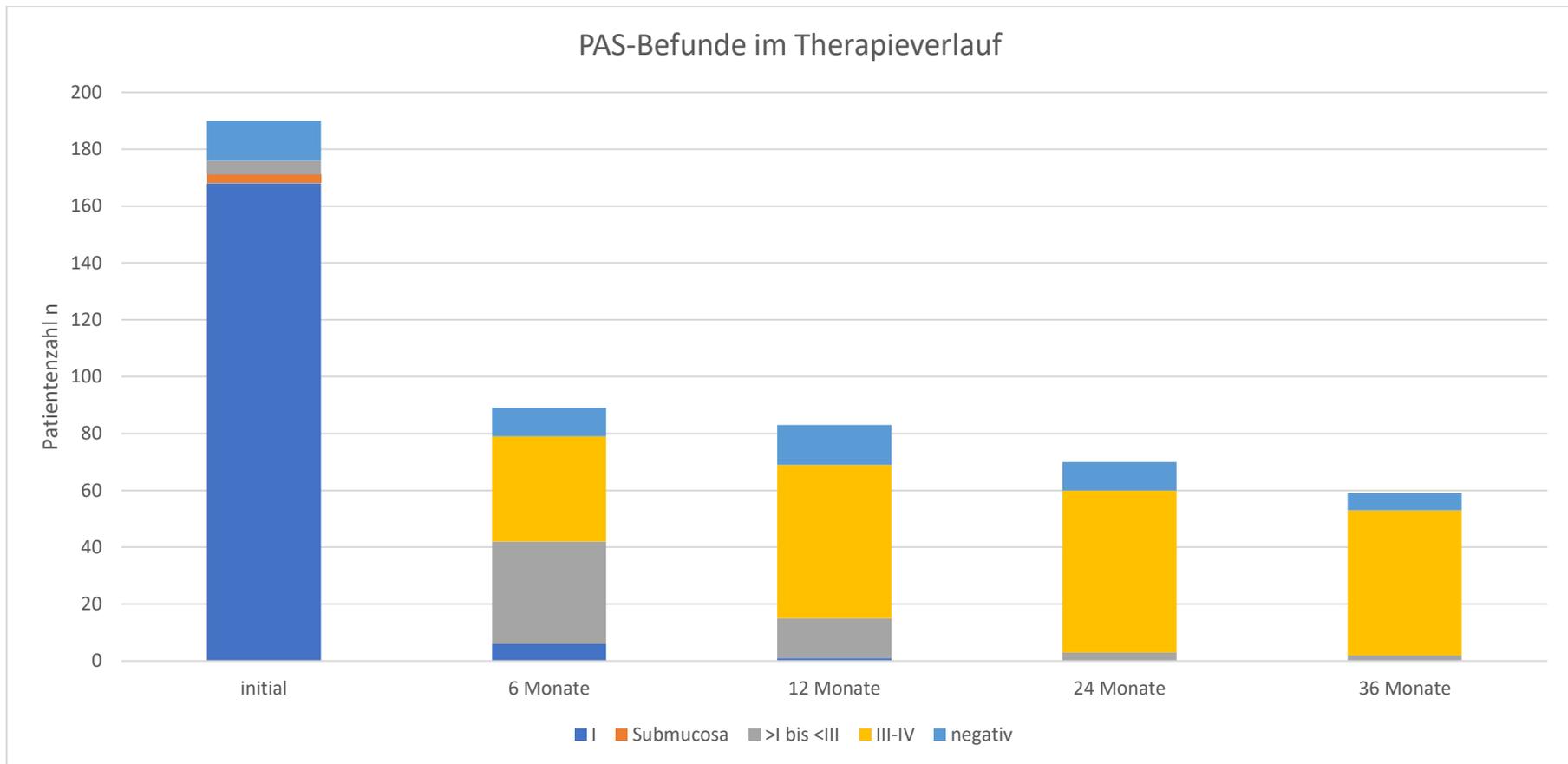


Abbildung 8: Übersicht über den histologischen Verlauf (PAS-Färbung) im Dünndarm im Therapieverlauf bei M. Whipple

PAS I-IV sowie PAS negativ: Klassifikation nach von Herbay (29; 78) in der Mucosa.

Submucosa: PAS-Färbung nur in der Submucosa positiv.

PAS: periodic acid-Schiff, M.: Morbus.

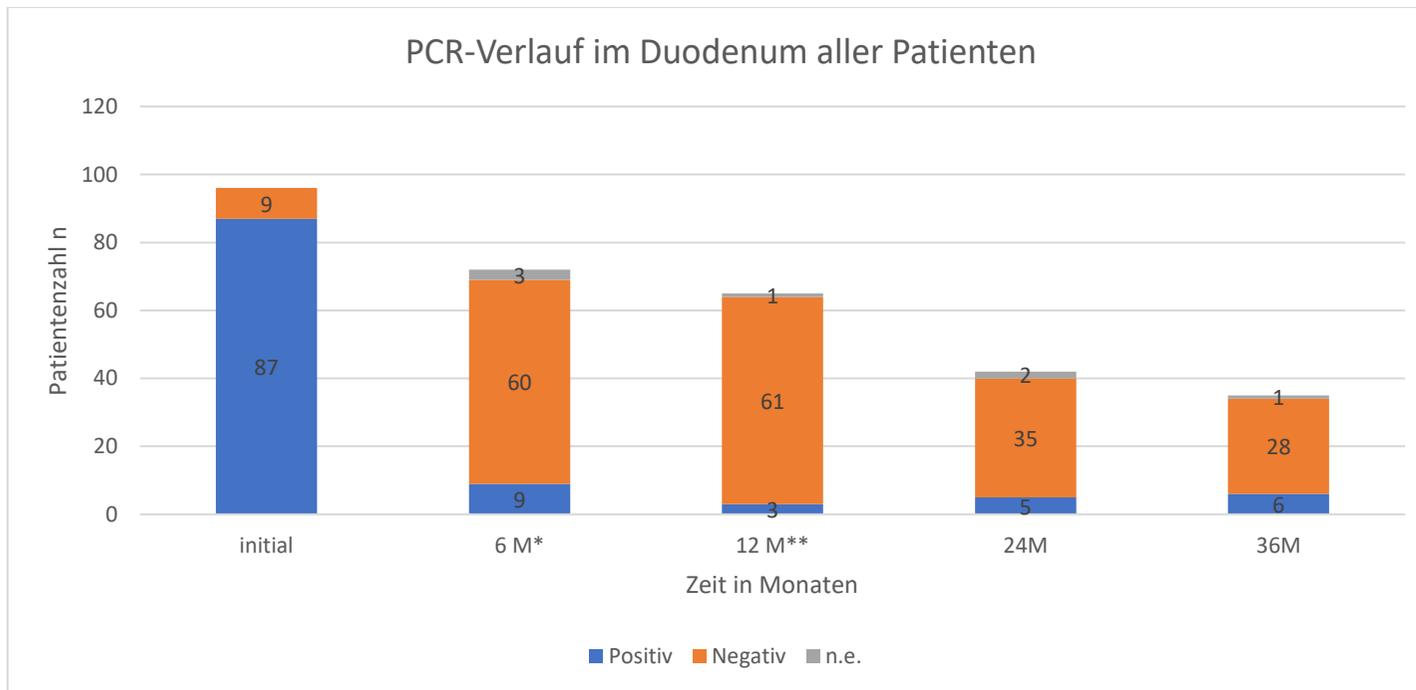


Abbildung 9: Molekularbiologischer Verlauf bei M. Whipple unter Therapie

n.e.= nicht eindeutig oder nur fraglich positiv.

* Bei 2/3 nicht eindeutigen Patienten erfolgte die Befundung bereits nach 3 Monaten.

** Einer der drei positiven Befunde war nur schwach positiv.

PCR: polymerase chain reaction, M.: Morbus.

In (**Tabelle 10**) werden die Befunde der PAS-Untersuchungen und der PCR-Befunde einander gegenüber gestellt.

Die statistische Auswertung der PAS-Befunde im Therapieverlauf erfolgte sowohl für die zur Darstellung gewählten PAS-Gruppen 1-4 als auch für die um den Effekt der Gruppierung bereinigten PAS-Befunde. Somit ergaben sich Minima/Maxima für die Berechnung von Lage und Streuung von $1/4$ für die gruppierten bzw. $1/8$ für die ungruppierten Befunde, siehe auch Legende von (**Tabelle 11**).

Die Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit auf Gleichheit des Lageparameters der verbundenen Stichproben mittels Skillings-Mack-Test (in Bezug auf den gesamten Therapieverlauf) ergab $p < 0,001$. Die Berechnung erfolgte sowohl für die nicht gruppierten PAS-Ergebnisse als auch für die klassierten Daten. Für die Berechnung wurden jeweils die 3 von 190 (1,6%) Submucosa-Patienten nicht berücksichtigt, da kein äquivalenter Wert zu den anderen Befunden zugrunde gelegt werden und dessen Bezugsbefund auch nicht in eine Gradation für eine Auswertung nach von Herbay eingeordnet werden kann.

Nach 6 Monaten hatten noch 6,8% (6/88) unverändert einen PAS-Befund vom Typ I nach von Herbay sowie 12,5% (9/72) eine positive PCR.

Nach 12 Monaten Therapie waren es noch 1,2% (1/88) mit einem persistierenden PAS-I-Befund, 4,6% (3/65) waren noch PCR-positiv. Bei einem dieser drei Patienten war diese nur noch schwach positiv.

Nach 24 Monaten haben noch 4,3% (3/70) PAS-Befunde $< III$, nach 36 Monaten sind es noch 3,4% (2/59), bei der PCR haben noch 11,9% (5/42) nach 24 Monaten und 17,1% (6/35) nach 36 Monaten positive Befunde. Insbesondere bei negativen Vorbefunden erfolgten in den späteren Untersuchungen weniger PCR-Kontrollen.

Alle Patienten, die nach 6 bzw. 12 Monaten noch PAS-Befunde vom Typ I aufwiesen bzw. nach 24 oder 36 Monaten noch PAS-Ergebnisse $< III$ hatten sowie alle Patienten, die nach > 6 Monaten noch eine positive PCR zeigten, werden in den Kapiteln 3.2.3 und 3.2.4 näher betrachtet. Unter diese Betrachtung fallen auch alle Patienten im Therapieverlauf mit zunehmenden Befunden in der PAS-Färbung bzw. wieder positiven PCR-Befunden. Alle der knapp 10% (9/96) der Patienten, die initial negative PCR-Befunde aufwiesen, blieben auch in den erfolgten Kontrollen negativ

Tabelle 10: Verlauf der histologischen (mittels PAS-Ergebnissen nach von Herbay) und molekularbiologischen Befunde unter der Therapie

¹: PAS-Gruppierung 1-4: 1 = PAS I, 2 = PAS >I bis <III, 3 = PAS III-IV, 4 = PAS negativ.

²: Berechnung PAS ungruppiert (ohne Submucosa): 1= PAS I, 2 = I/II, 3 = II, 4 = II/III, 5 = III, 6 = III/IV, 7= IV, 8 = PAS negativ.

³: Untersuchung auf Gleichheit des Lageparameters bei PAS¹ und PAS ² mittels Skillings-Mack-Test.

*: 2/3 bereits nach 3 Monaten erfolgt; **: 1/3 nur schwach positiv.

PAS: periodic acid-Schiff, PCR: polymerase chain reaction; Abweichungen von 100% rundungsbedingt.

		Baseline (BL)	6 Monate	12 Monate	24 Monate	36 Monate	p-Wert ³
PAS ¹	I n (%)	168/190 (88,4%)	6 (6,8%)	1 (1,2%)	0	0	
	>I bis <III n (%)	5/190 (2,6%)	36 (40,9%)	14 (17,1%)	3 (4,3%)	2 (3,4%)	
	III-IV n (%)	0	37 (42%)	54 (65,9%)	57 (81,4%)	51 (86,4%)	
	negativ n (%)	14/190 (7,4%)	9 (10,2%)	13 (15,9%)	10 (14,3%)	6 (10,2%)	
	1-4 n (%)	187/190 (98,4%)	88/88 (100%)	82/82 (100%)	70/70 (100%)	59/59 (100%)	
	Submucosa n (%)	3/190 (1,6%)	0	0	0	0	
	PAS 1-4						p<0,001
	Minimum/Maximum	1/4	1/4	1/4	2/4	2/4	
	25%-Perzentil	1	2	3	3	3	
	Median	1	3	3	3	3	
	75%-Perzentil	1	3	3	3	3	
	Interquartilsabstand	0	1	0	0	0	
PAS ²	PAS 1-8						p<0,001
	Minimum/Maximum	1/8	1/8	3/8	3/8	3/8	
	25%-Perzentil	1	3	5	5	5	
	Median	1	5	5	5	5	
	75%-Perzentil	1	5	6	7	6	
	Interquartilsabstand	0	2	1	2	1	
PCR	Positiv (%)	87/96 (90,6%)	9/72 (12,5%)	3/65** (4,6%)	5/42 (11,9%)	6/35 (17,1%)	
	Negativ (%)	9/96 (9,4%)	60/72 (83,3%)	61/65 (93,8%)	35/42 (83,3%)	28/35(80%)	
	n.e. n (%)	0	3/72* (4,2%)	1/65 (1,5%)	2/42 (4,8%)	1/35 (2,9%)	

In **Tabelle 11** werden nun nach Prüfung auf Gleichheit des Lageparameters die Wahrscheinlichkeiten für Unterschiede aller PAS-Kontrolluntersuchungen unter Therapie gegen Baseline sowie untereinander berechnet, unter der Annahme dass die Nullhypothese wahr ist (kein Unterschied zwischen den verbundenen Stichproben).

Die Berechnungen erfolgten wieder sowohl für die gruppierten Patienten als auch für die nicht gruppierten. In beiden Konstellationen sind alle Nachuntersuchungen gegen Baseline signifikant (jeweils $p < 0,001$). Gleiches gilt für alle PAS-Kontrollen vs. 6 Monate (jeweils $p < 0,001$).

Die Wahrscheinlichkeiten für 12 vs. 24 Monate gruppiert und ungruppiert liegen bei $p = 0,0017$ und $p = 0,0092$ sowie für 12 vs. 36 Monate bei $p = 0,0156$ und $p = 0,0097$.

In der Betrachtung 24 vs. 36 Monate zeigt die PAS-Gruppierung keine Signifikanz für die Ergebnisse ($p > 0,9999$), wohingegen bei den nicht gruppierten Patienten der p-Wert bei $p < 0,00469$ liegt.

Tabelle 11: PAS-Befunde im Therapieverlauf

p-Wert-Berechnung mittels Vorzeichen-Rang-Test nach Wilcoxon.

Berechnung nach Gruppierung der PAS-Befunde in 1-4 (ohne Submucosa): PAS 1 = I, 2 = PAS >I bis <III, 3 = PAS III-IV, 4 = PAS negativ.

Berechnung PAS ungruppiert (ohne Submucosa): 1= I, 2 = I/II, 3 = II, 4 = II/III, 5 = III, 6 = III/IV, 7= IV, 8 = PAS negativ.

PAS: Perjodsäure-Schiff-Reaktion.

	Baseline	6 Monate	12 Monate	24 Monate	36 Monate
Baseline		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
6 Monate	p<0,001		p<0,001	p<0,001	p<0,001
12 Monate	p<0,001	p<0,001		p=0,0017	p=0,0156
24 Monate	p<0,001	p<0,001	p=0,0092		p>0,9999
36 Monate	p<0,001	p<0,001	p=0,0097	p=0,00469	

Zur weiteren Betrachtung des PCR-Verlaufes zeigt **Tabelle 12** eine Gegenüberstellung aller Verläufe gegenüber denen der Patienten mit Baseline-Befund. Entsprechend wurden im zweiten Fall Verlaufsbefunde der Patienten, bei denen kein Ausgangsbefund vor Therapiebeginn vorlag, nicht berücksichtigt. Bei beiden Verlaufsbetrachtungen erfolgte der Vergleich aller Kontrolluntersuchungen vs. Baseline, jeweils mit dem Ergebnis $p < 0,001$. Dabei wurden nicht eindeutige Befunde für die Berechnung nicht berücksichtigt.

In einem zweiten Schritt wurden alle nicht eindeutigen Ergebnisse als (noch) positiv berechnet, also als noch ohne Therapieerfolg respektive keine Konvertierung in der PCR-Untersuchung. Die Irrtumswahrscheinlichkeit (Nullhypothese: kein Unterschied im Verlauf) gegen Baseline liegt auch hier unter Berücksichtigung aller Befunde sowie nur derer mit Initialbefund jeweils bei $p < 0,001$.

Tabelle 12: PCR-Verlauf mit allen Befunden vs. PCR-Verlauf der Patienten mit Baseline-Befund

*: alle Befunde berücksichtigt; **: nur Patienten mit Baseline-Befund.

¹: Zwei der drei Befunde nach 3 Monaten nicht eindeutig, ²: Einer der drei positiven Befunde schwach positiv (+).

p-Werte mittels McNemar-Test.

³: nicht eindeutige Befunde wurden nicht berücksichtigt.

⁴ nicht eindeutige Befunde wurden als positiv bzw. nicht konvertiert berechnet (kein Therapieerfolg).

PCR: Polymerase-Kettenreaktion, BL: Baseline.

		BL	6 Monate	12 Monate	24 Monate	36 Monate	p-Wert BL vs. 6/12/24/36 Monate ³	p-Wert BL vs. 6/12/24/36 Monate ⁴
PCR*	positiv n (%)	87/96 (90,6%)	9/72 (12,5%)	3/65 ² (4,6%)	5/42 (11,9%)	6/35 (17,1%)	jeweils p<0,001	jeweils p<0,001
	negativ n (%)	9/96 (9,4%)	60/72 (83,3%)	61/65 (93,8%)	35/42 (83,3%)	28/35 (80%)		
	nicht eindeutig n (%)	0	3/72 ¹ (4,2%)	1/65 (1,5%)	2/42 (4,8%)	1/35 (2,9%)		
PCR**	positiv n (%)	87/96 (90,6%)	7/58 (12,1%)	3/51 ² (5,9%)	3/29 (10,3%)	4/20 (20%)	jeweils p<0,001	jeweils p<0,001
	negativ n (%)	9/96 (9,4%)	48/58 (82,8%)	47/51 (92,2%)	26/29 (89,7%)	15/20 (75%)		
	nicht eindeutig n (%)	0	3/58 ¹ (5,2%)	1/51 (2%)	0	1/20 (5%)		

3.2.2.2 IHC

Bei 39 Patienten lagen Verlaufsbefunde nach der Baseline-Untersuchung vor. 37 von 39 (94,9%) hatten bei der ersten individuellen Verlaufsuntersuchung zumindest schwach positive oder positive Befunde. 2 von 39 (5,1%) Patienten hatten zu keinem Zeitpunkt positive immunhistochemische Befunde, dabei handelte sich um einen atypischen gastrointestinalen Patienten (Antrum-Befall) sowie einen Patienten mit reinem (duodenalen) Submucosa-Befall.

Die 37 im Verlauf zumindest schwach oder fokal positiven Patienten setzten sich wie folgt zusammen: 35 von 37 (95,6%) waren CWD-Patienten mit initialem PAS-Befund vom Typ I, einer der 37 Patienten (2,7%) war ein atypischer Patient mit initial PAS-negativem Befund, ein Patient mit rein submucösem Befall (2,7%).

10 dieser 39 Patienten waren wiederholt zumindest schwach positiv, bei keinem dieser Patienten zeigte sich klinisch oder bei den anderen paraklinischen Untersuchungen ein Hinweis für ein Rezidiv oder eine Befundverschlechterung.

Insgesamt gab es unter allen Patienten nur einen, bei dem ein IHC-positiver Befund im Beobachtungszeitraum negativ wurde. Dieser Patient war ein Submucosa-Fall, bei dem initial vor allem die Submucosa in der immunhistochemischen Färbung positiv war und nach 6 Monaten ein negativer IHC-Befund vorlag.

3.2.2.3 Liquor

Tabelle 13 zeigt die Verläufe der vor Therapiebeginn positiven Patienten. Für 37 von 56 (66,1%) liegen weitere Befunde vor, bei 19 von 56 Patienten nicht (33,9%). Mehr als drei Viertel der Patienten mit weiteren vorliegenden Befunden (28/37; 75,7%) waren bei der nächsten vorliegenden Untersuchung negativ, darunter fällt auch ein Patient, der zwar in der ersten Kontrolle weiter positiv war, diese fand jedoch bereits nach 3 Monaten statt, die erste „reguläre“ Kontrolle war negativ. Die Zeitpunkte der nächsten Untersuchung des ZNS variierten (bei allen Patienten im Allgemeinen und bei positiven im Besonderen) jedoch sehr stark. 14,3% (4/28) der konvertierten Patienten wurden teils mehrfach im weiteren Verlauf mit ebenso negativen Ergebnissen nachkontrolliert.

Etwa ein Viertel (9/37; 24,3%) zeigte lange bzw. persistierend positive Befunde, siehe dazu die Kapitel 3.2.3 und 3.2.4. Alle Patienten, die im Verlauf eine positive Liquor-PCR aufwiesen, hatten diese bereits bei der Baseline-Untersuchung.

Für 4 von 56 (7,1%) Patienten ohne Liquor-Ausgangsbefund lagen Befunde im Verlauf vor, jeweils mit negativem Ergebnis. Für 52 von 56 (92,9%) lagen keine Befunde vor.

Von den 79 von 135 (58,5%) bei Baseline unauffälligen Befunden erfolgten bei 7 von 79 (8,9%) weitere Verlaufskontrollen, 6 von 7 mit negativem und 1 von 7 mit nicht beurteilbarem Ergebnis. 72 von 79 (91,1%) der initial unauffälligen Befunden wurden nicht nachkontrolliert.

Es gab im Verlauf des Untersuchungszeitraumes von 36 Monaten keine Patienten, die erfolgreich liquorkonvertiert waren und innerhalb dieses Zeitraumes wieder positiv wurden (mit Ausnahme von zwei fraglichen Fällen, deren Befunde sich bei Referenzkontrollen nicht bestätigten).

In Kapitel 3.2.3 werden jedoch Patienten beschrieben, die mehrere Jahre später ZNS-Rezidive erlitten.

Tabelle 13: Verlauf der 56 Patienten mit initial positivem Liquor-Befund

¹: in einem Fall war der Liquor nach 3 Monaten noch positiv, in der regulären 6-Monats-Untersuchung dann negativ.

²: Erhebung bereits <6 Monate: je 1x nach 6, 8, 11 bzw. 12 Wochen.

³: >36 Monate oder Zeitpunkt unklar.

PCR: Polymerase-Kettenreaktion.

Liquor-PCR	Anzahl n (%)	Folgebefunde n (%)	Zeitpunkt nächste Kontrolle	Weitere Kontrollen nach neg. Befunden n (%): Ergebnis
Kontrolliert	37/56 (66,1%)	28/37 (75,7%) negativ bei nächster Kontrolle ¹	4/28 (14,3%): < 6 Monate ² 11/28 (39,3%): 6 Monate 6/28 (21,4%): 12 Monate 1/28 (3,6%): 24 Monate 6/28 (21,4%): ²	4/28 (14,3%) teils mehrfach kontrolliert: immer negativ 24/28 (85,7%): keine weiteren Kontrollen
		9/37 (24,3%) persistierend bzw. lange positiv	Verlauf, siehe 4.2.3 bzw. 4.2.4	
Nicht kontrolliert bzw. nicht dokumentiert	19/56 (33,9%)			

3.2.3 Komplikationen

3.2.3.1 Tödliche Verläufe, IRIS und Rezidive/Persistenz

Die Anzahl schwerwiegender Komplikationen, welche im regulären Nachbeobachtungszeitraum von 36 Monaten ab Therapieeinleitung zumindest als Komplikation begannen, sind in **Abbildung 10** dargestellt. Davon waren 11% (21/191) und unter Einbezug der IRIS-Fälle insgesamt etwa ein Viertel aller Patienten (49/191 Patienten; 25,7%) betroffen.

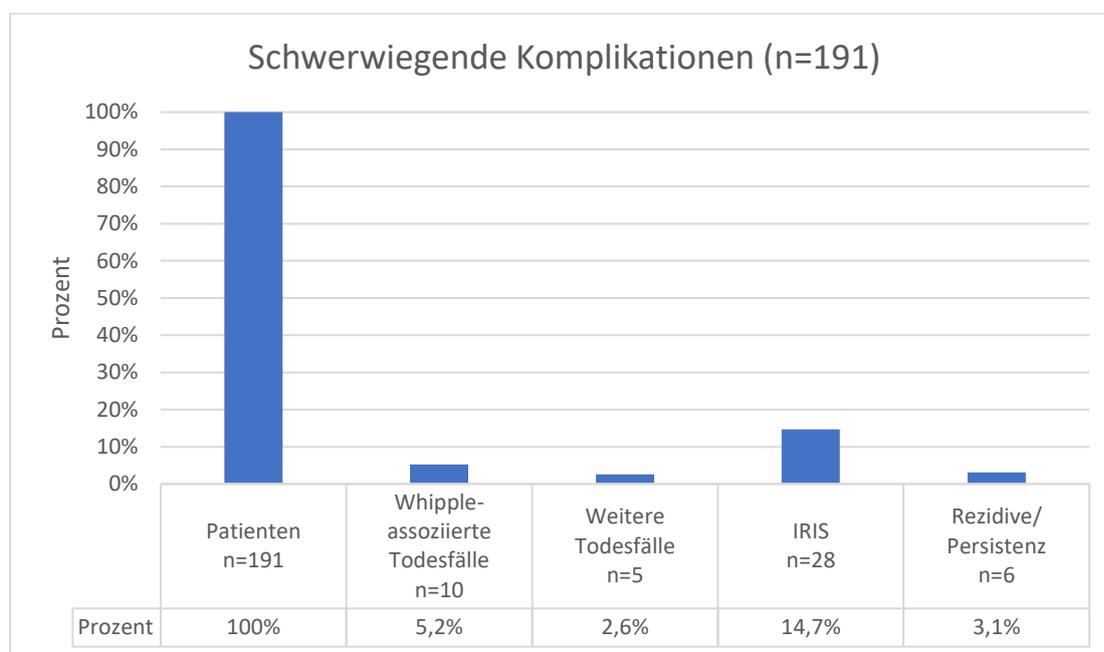


Abbildung 10: Schwerwiegende Komplikationen bis Visit 5 (36 Monate)

Rezidive: bis \leq 36 Monate ab Therapiebeginn. IRIS: Immunrekonstitutionssyndrom.

Todesfälle:

Im Beobachtungszeitraum von 36 Monaten ab Baseline kam es zu 15 dokumentierten Todesfällen der 191 eingeschlossenen Patienten (7,9%); in einem Fall begannen die Komplikationen als persistierend positiver Liquor, der Patient verstarb jedoch erst Jahre später.

Bei fünf der Todesfälle (2,6%) konnte kein unmittelbarer Zusammenhang zum M. Whipple hergestellt, jedoch auch nicht definitiv ausgeschlossen werden bzw. liegen keine näheren Informationen vor (u.a. „atypischer“ Patient 13).

Unter den zehn Patienten (5,2%), bei denen eine Assoziation zum M. Whipple hergestellt werden kann (**Tabelle 14**), starb ein Patient noch vor Therapieeinleitung an der infektionsassoziierten Symptomatik u.a. mit Elektrolytentgleisung, histologisch und immunhistochemisch ausgeprägtem Befall der gesamten Darmwand, Lymphknotenbefall und Herzversagen (Befund der Autopsie) bei Whipple-Pankarditis.

Ein Patient starb an einer sekundären Pneumonie kurz nach Therapiebeginn.

Vier Patienten erlitten neuronale Komplikationen. Zwei der ZNS-bedingten Todesfälle wurden mit Ceftriaxon und Cotrimoxazol bis zu ihrem Tod (≤ 12 Monate ab Diagnose) behandelt, ein Patient nur mit Ceftriaxon, Zwischenbefunde lagen nicht vor. Beim vierten an ZNS-Komplikationen verstorbenen Patienten waren die PCR-Untersuchungen des Liquor persistierend positiv. Die Behandlung nach der Diagnose ist nicht sicher nachvollziehbar, auch unter einem Therapieversuch mit Interferon fand keine Konversion statt, daraufhin erfolgte keine Therapie, bei Hydrocephalus wegen Liquorabflussstörung und weiter positiver PCR Therapieversuch mit Minocyclin und Hydroxychloroquin. Darunter wurde der Liquor erstmals negativ. Innerhalb von weniger als einem Jahr erneute neuronale Beschwerden, auch unter Gabe von Doxycyclin und Hydroxychloroquin keine Befundbesserung, der Patient verstarb schließlich im späteren Verlauf. Die restlichen vier Patienten verstarben an den Folgen eines schwer verlaufenden Immunrekonstitutionssyndrom (IRIS) nach Therapieeinleitung.

IRIS: Bei insgesamt 28 (28/191; 14,7%) Patienten kam es als Komplikation der Behandlung zu einem IRIS.

Tabelle 14: Ursachen Whipple-assoziiertes Todesfälle

ZNS: Zentrales Nervensystem, IRIS: Immunrekonstitutionssyndrom.

Anzahl n (%)	Todesursache
1/10 (10%)	Primäre Organbeteiligung
1/10 (10%)	Sekundäre Infektion
4/10 (40%)	ZNS-Komplikationen
4/10 (40%)	Schweres IRIS

Rezidive/Persistenz:

Persistierende Infektionen bzw. Rezidive, die sich bereits als solche im Nachbeobachtungszeitraum der 36 Monate zeigten, traten bei sechs Patienten (6/191; 3,1%) auf. Fünf Patienten wurden mit Ceftriaxon und Cotrimoxazol behandelt, einer nur mit Cotrimoxazol. Fünf Patienten zeigten ZNS-Persistenzen, ein Patient ein gastrointestinales Rezidiv (letzterer: Therapie mit Ceftriaxon und 12 Monate Cotrimoxazol).

Vier der fünf ZNS-Persistenzen betrafen CWD-Patienten mit ZNS-Beteiligung, ein Patient war ein atypischer Patient. Der Patient mit dem gastrointestinales Rezidiv war ein CWD-Patient.

Einer der fünf ZNS-Patienten zeigte im Verlauf zusätzlich positive gastrointestinale Befunde nach initial negativen, siehe zu diesem Patienten Kapitel 3.2.4 („atypischer Patient 9“). Die zweiten positiven ZNS-Nachweise der Patienten liegen für die Untersuchungen nach 12 bzw. 24 Monaten ab Therapiebeginn vor. Es sind jeweils keine temporär negativen Befunde oder frühere Nachuntersuchungen dokumentiert.

Bei allen fünf ZNS-Komplikationen wurde die Therapie im Verlauf umgestellt. Soweit nachvollziehbar, wurden zwei der Patienten, die unter Ceftriaxon und Cotrimoxazol rezidivierend positive Befunde aufwiesen unter Minocyclin bzw. Doxycyclin mit Hydroxychloroquin negativ in der Liquor-PCR. Einer der beiden letztgenannten erhielt initial Ceftriaxon und nur drei Monate Cotrimoxazol, wurde dann aber auch nach Umstellung auf Meronem und > 12 Monate Cotrimoxazol nicht Liquor-negativ.

Der sechste Patient (Ceftriaxon und 12 Monate Cotrimoxazol), wies nach 21 Monaten ein klinisches gastrointestinales Rezidiv auf. In der anschließenden Diagnostik bei unauffälliger Makroskopie war der PAS-Befund bei Typ II.

Gesamtverlauf im Beobachtungszeitraum:

Abgesehen von den ZNS-bedingten Todesfällen (4/10; 40%) haben sich alle anderen Todesfälle (6/10; 60%), bei denen ein Whipple-bedingter Zusammenhang wahrscheinlich war, unmittelbar nach der Diagnose bzw. noch vor der 6-Monatsuntersuchung ereignet (fulminanter Verlauf/kardiale Beteiligung, IRIS). Auf die Besonderheit der ZNS-Kontrollen wurde bereits hingewiesen.

3.2.3.2 Spätkomplikationen > 36 Monate

Durch die weitere Betreuung vieler Patienten und die Weiterführung der Daten liegen auch über den Zeitraum von 36 Monaten ab Therapiebeginn hinaus bei entsprechenden Beschwerden ggf. weitere Befunde vor. Zur ergänzenden Abbildung möglicher, zum Teil deutlich später auftretender Komplikationen des M. Whipple, stehen fünf Patienten, bei denen Komplikationen zwischen vier und über 25 Jahre nach Erstdiagnose auftraten.

Drei Spätkomplikationen betrafen neuronale Rezidive (initiale Therapien zweimal mit Ceftriaxon und 12 Monaten Cotrimoxazol, einmal nur mit Doxycyclin). Dabei traten teils klinische, teils paraklinisch auffällige Befunde auf, welche ca. vier, zehn bzw. zwölf Jahre nach Erstdiagnose (jeweils auch mit initialer ZNS-Beteiligung) manifest wurden. Bei einem der drei Patienten (initial mit Ceftriaxon und 12 Monaten Cotrimoxazol behandelt) waren temporär trotz intermittierender neuronaler klinischer Befunde negative Liquor-Befunde verzeichnet. Unter progredienten therapierefraktären klinischen Befunden zeigten sich dann aber auch wieder positive Befunde. Der Patient (initial CWD-Fall mit ZNS-Manifestation) mit ausschließlicher Doxycyclin-Therapie zeigte 10 Jahre nach der Behandlung neuronale Ausfälle mit positiver Liquor-PCR. In der duodenalen Untersuchung ohne gastrointestinale Symptomatik ergab sich ein PAS-IV-Befund nach von Herbay, eine negative PCR und eine positive Immunhistochemie.

Der vierte Patient erlitt nach mehr als 25 Jahren ein Rezidiv eines klassischen M. Whipple (ohne ZNS-Manifestation). Die erste Behandlung war ausschließlich mit Doxycyclin erfolgt.

Der fünfte Fall (initial CWD-Patient mit positiver PCR und IHC im Duodenum sowie ZNS-Manifestation) erlitt mehr als fünf Jahre (63 Monate) nach initialer Therapie mit Ceftriaxon und 12 Monaten Cotrimoxazol erneut Gelenksbeschwerden mit PCR-Nachweis in der Synovialflüssigkeit. Im Verlauf der Initialtherapie waren weder im PAS-Verlauf noch bei der PCR im Duodenum oder dem Liquor (nach 12 Monaten in der ersten Kontrolle negativ) Auffälligkeiten dokumentiert.

3.2.4 Abweichende CWD-Verläufe im GI-Trakt und atypische Patienten

Die Patienten aller 168 CWD-Fälle, die bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes gastrointestinal untersucht werden konnten, die zwar keine gastrointestinale klinische

Beschwerdezunahme bzw. keine Symptomatik aufwiesen, bei denen jedoch einzelne Verlaufsbefunde im Vergleich aller auffällig waren oder individuell eine Befundverschlechterung zeigten, werden hier erläutert und im Zusammenhang von PAS und PCR betrachtet.

Zusätzlich wird für alle Patienten erhoben, ob weitere Fälle mit individueller Befundzunahme vorlagen, die nicht aus **Tabelle 10** hervorgehen.

Darüber hinaus werden die fünf wahrscheinlich vorbehandelten Fälle sowie die Verläufe der atypischen Patienten erläutert.

3.2.4.1 CWD-Verläufe gastrointestinal

Dazu wurden aus **Tabelle 10** zunächst die Patienten rausgerechnet, die atypische Patienten sind. Zur Betrachtung wurden alle Nachuntersuchungen herangezogen. Als auffällig werden anhand der prozentualen Verteilung Patienten bewertet, die nach 6 und 12 Monaten noch PAS-Befunde mit positiven Zellen vom Typ I aufwiesen oder nach 12 Monaten noch PCR-positiv waren. Nach 24 und 36 Monaten werden Befunde PAS < III bzw. positive PCR-Ergebnisse näher betrachtet.

Individuell progrediente Befunde mit diesen Kriterien, aber in der Tabelle nicht erfasste, werden gesondert beschrieben.

6 und 12 Monate (10/168 Patienten; 6%):

Nach 6 Monaten hatten noch 6 von 82 (7,3%) CWD-Patienten mit vorliegenden PAS-Befunden einen Typ-I-Befund (**Tabelle 10**). Vier Patienten wurden mit Meronem und 12 Monaten Cotrimoxazol, zwei Patienten mit Ceftriaxon und 12 Monaten Cotrimoxazol behandelt. Bei allen sechs Patienten wurde die Befundbesserung ab der nächsten Untersuchung (nach 12 Monaten ab Baseline) mit einem Typ-III-Ergebnis der PAS-Färbung angegeben. Zwei der sechs Patienten hatten nach 36 Monaten noch oder wieder ein positives PCR-Resultat, bei dreien lag nach 36 Monaten kein PCR-Ergebnis vor, bei einem Patienten war es negativ.

Die Therapie des Patienten, der nach 12 Monaten in der PAS-Reaktion noch positive Zellen vom Typ I aufwies (1/78; 1,3%), war mit Meronem und 12 Monaten Cotrimoxazol erfolgt. In den beiden anschließenden noch ausstehenden Untersuchungen nach 24 bzw. 36 Monaten erfolgte dann der Befundrückgang auf ein PAS-Befund vom Typ III. Die vorliegenden PCR-Ergebnisse waren initial positiv und nach 36 Monaten negativ.

Zwei der drei nach 12 Monaten in der PCR noch positiven Patienten waren nach 24 bzw. 36 Monaten erneut oder noch immer positiv (siehe dort), einer war schwach positiv.

24 und 36 Monate (15 Befunde von 13/168 Patienten; 7,7%):

Eine positive PCR nach 24 Monaten gehörte zu einem atypischen Patienten. Somit verblieben fünf PAS- und zehn auffällige wieder oder persistierend positive PCR-Befunde. Nur einer dieser Patienten wies gleichzeitig eine positive PCR und PAS-Befunde < Typ III auf und/oder (dokumentierte) klinische Beschwerden. Dieser Patient wurde unter Komplikationen beschrieben. Bei mindestens zwei der Patienten war im Verlauf eine Therapieumstellung aufgrund unerwünschter Arzneimittelwirkungen vorgenommen worden.

Zusätzlich individuell progrediente Verläufe (5/168; 3%):

Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Patienten hatten weitere fünf Patienten temporär progrediente PAS-Befunde, bei einem Patienten musste eine Therapieumstellung aufgrund von Arzneimittelnebenwirkungen vorgenommen werden, drei waren klinisch unauffällig, beim fünften liegen bei negativer PCR keine Angaben vor. Bei vier dieser fünf Patienten war die jeweils folgende Untersuchung wieder rückläufig, bei einem erfolgte keine Kontrolle mehr.

3.2.4.2 Vorbehandelte Patienten

Die PAS-Befunde der Patienten (5/191; 3%) lagen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zwischen Typ I/II und II/III, eine PCR war positiv, zwei negativ, zwei nicht vorliegend.

Bei zwei Patienten (initial Typ I/II bzw. II, jeweils ohne PCR-Resultat) lag kein weiterer duodenaler Verlauf vor.

Bei zwei Patienten (initial Typ II/III, PCR positiv bzw. Typ II, PCR negativ) kam es zu einer PAS-Negativierung nach 12 Monaten bzw. einem Typ-IV-Befund nach 24 Monaten und jeweils negativen PCR-Verläufen.

Der fünfte Patient (initial PAS-Reaktion vom Typ II, PCR negativ) war nach 6 Monaten bereits PAS-negativ.

Zusammengefasst kam es, sofern vorliegend, dem fortgeschrittenen PAS-Stadium entsprechend zu schnell rückläufigen histologischen Befunden sowie unauffälligen molekularbiologischen Verläufen.

3.2.4.3 Atypische Patienten

Auffällig bei der Betrachtung aller in dieser Arbeit eingeschlossenen Patienten war, dass bei drei Patienten, die initial negative PAS-Befunde im Duodenum aufwiesen, im Therapieverlauf dort PAS-positives Untersuchungsmaterial gewonnen wurde.

Dabei handelte es sich zusätzlich zu den hier beschriebenen Patienten 9 und 17 der atypischen Fälle, um den Patienten der initial nur im terminalen Ileum eine PAS-Färbung mit Typ I zeigte.

Im Folgenden werden die Verläufe der im Kapitel 3.1.4 beschriebenen atypischen Patienten (18/191; 9,4%) betrachtet.

Antrum/ZNS (Patient 1): Die PCR im Antrum war bei der ersten Kontrolle nach 3 Monaten noch positiv, der PAS-Befund reduzierte sich im Verlauf sukzessive auf ein negatives Ergebnis. Der Liquorbefund war in der Untersuchung nach drei Monaten noch positiv, in der Untersuchung nach 12 Monaten negativ und blieb es bei weiteren anschließenden Untersuchungen. Duodenal gab es auch im Verlauf keine auffälligen Befunde.

Submucosa-Formen (3 Patienten): Sofern vorliegend, waren die duodenalen PAS- und PCR-Befunde bei der nächsten vorliegenden Kontrolluntersuchung (6 bzw. 12 Monate) direkt negativ, bei weiteren vorliegenden Befunden blieben diese negativ.

In einem Fall wurde auch die initial positive IHC-Untersuchung nach 6 Monaten negativ.

Der einzige der 18 Patienten mit gastrointestinalen Symptomen (Patient 2), der auch initial makroskopisch verplumpte Zotten und zumindest im Verlauf noch geringgradig beschriebene Lymphangiectasien mit dem entsprechenden histologischen Äquivalent aufwies, verzeichnete im Verlauf einen Beschwerderückgang. Nach 12 Monaten waren makroskopisch bei dann sonst unauffälligem Befund wenige Lymphangiectasien beschrieben worden. Die initial positive PCR-Untersuchung war zum nächsten Kontrollpunkt nach 6 Monaten negativ und blieb es äquivalent zum PAS-Verlauf. 12 Monate nach Therapieende mit Ceftriaxon und 12 Monaten Cotrimoxazol (24 Monate ab Diagnose) gab der Patient Beschwerdefreiheit an.

Patienten mit ZNS-Befall: Liquor-Konversionen konnten inklusive dem oben genannten Patienten mit dem Antrum-Befall bei vier Patienten, bei denen Verläufe diesbezüglich vorlagen, nach jeweils zweimal drei bzw. 12 Monaten nachgewiesen werden. Patient 9 wird unten beschrieben.

Patient 13 (mit Femur-Nachweis): Verlaufsuntersuchungen fanden nicht statt, der Patient verstarb vor der geplanten ersten Kontrolluntersuchung.

Patienten 9 und 17: Diese beiden Patienten zeigten unter Therapie (jeweils Ceftriaxon und 12 Monate Cotrimoxazol) bei initial negativen PAS-Färbungen (Patient 17 mit negativer PCR, Patient 9 mit nicht dokumentierter PCR) nach 12 bzw. 24 Monaten positive Befunde.

Bei Patient 17 zeigte sich nach 24 Monaten ein PAS-Befund vom Typ III bei negativer PCR, weitere Verlaufsdokumentationen lagen nicht vor.

Bei Patient 9 mit Uveitis und ZNS-Beteiligung wurde nach 12 Monaten ein PAS-IV-Ergebnis festgestellt. Neben dem PAS-Befund vom Typ IV zeigte sich nach 12 Monaten ein erneut positives Liquor-Ergebnis. Es erfolgte daraufhin eine Therapieumstellung auf Minocyclin/Hydroxychloroquin. Nach 24 Monaten war nach negativer PCR bei der Voruntersuchung die PCR im Duodenum wieder positiv geworden. Bei der histologischen Kontrolle nach 24 Monaten war ein negativer PAS-Befund zu verzeichnen, eine duodenale PCR- und Liquorkontrolle war später nicht mehr dokumentiert.

Duodenale Verläufe der anderen Patienten: Bei den anderen atypischen Patienten zeigten vorliegende Verlaufsuntersuchungen (4 Patienten) in Bezug auf die duodenalen Befunde keine Befundänderungen bzw. initial nicht vorliegende Untersuchungen waren im Verlauf negativ.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit können im Vergleich zu früheren großen Untersuchungen (27) mit heutigen Diagnostikmöglichkeiten, u.a. in der Molekularbiologie, Befundkonstellationen klarer zugeordnet, Krankheitsentitäten differenziert und Verläufe detaillierter verglichen werden. Die hier untersuchten Fallzahlen des seltenen M. Whipple, die unterschiedlichen Manifestationsformen sowie die beschriebenen Schwierigkeiten in der Diagnosestellung ergeben im Literaturvergleich sehr hohe Patientenzahlen in der vorliegenden Arbeit. Arbeiten mit größeren Fallzahlen liegen länger zurück (27), andere beschäftigen sich häufig in kleineren Fallstudien mit Teilaspekten. Teilergebnisse anderer Studien/Arbeiten sind darüber hinaus mit anderen Untersuchungsmethoden wegen unterschiedlicher Einschlusskriterien und Diagnosedefinitionen bedingt vergleichbar.

In der Pubmed-Datenbanksuche lassen sich im August 2018 1975 Arbeiten mit dem MeSH-Term „Whipple Disease“ [Mesh] finden.

In den Kapiteln 4.1 und 4.2 werden die Zielsetzungen aus der Einleitung zu den Wertigkeiten der Untersuchungen für die jeweiligen Krankheitsstadien sowie die vorgeschlagene systematische Gliederung des M. Whipple aufgegriffen und dort sowie in den weiteren Kapiteln anhand der gezeigten Zusammenhänge bzw. Ergebnisse aktuelle Empfehlungen für die Diagnose des M. Whipple, den Therapieverlauf und die weitere Patientenbetreuung diskutiert.

4.1 Diagnose

4.1.1 Patienten und klinische Befunde

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich die in der Literatur beschriebene Verschiebung der Geschlechtsverteilung im Sinne einer Reduzierung des jedoch weiterhin häufiger betroffenen männlichen Geschlechtes, der Männeranteil liegt mit etwa 3,5:1 zwischen 7-8:1 von 1987 (27) und 2,5-3:1 bei Lagier et al. (2).

Das in der Literatur angegebene durchschnittliche Alter der Patienten liegt bei ca. 55 Jahren (30-60 Jahre) (27; 28; 29). Das entspricht dem Mittelwert dieser Arbeit von 56,35 Jahren, vergleichbar

mit 56,64 Jahren bei 113 vorwiegend französischen Patienten mit systemischem M. Whipple (2). Der Zeitraum vom Symptombeginn bis zur Diagnosestellung ist durch das wie in der Einleitung erläuterte unspezifische Prodromalstadium schwierig zu objektivieren, in der Literatur werden im Schnitt 6-8 Jahre angegeben (44). In dieser Arbeit wurde auch aus vorgenannten Gründen die Mediandarstellung gewählt, wobei das 50%-Quartil entsprechend bei 5 Jahren lag, der Mittelwert entspräche der Literaturspanne.

Die klinischen Symptome der untersuchten Patienten lagen insgesamt im Bereich der Literaturangaben (27; 28; 29). Prozentual waren dabei jedoch nicht Gewichtsverlust (52% vs. 75-100%) und Gelenksymptomatik (68% vs. 67 bzw. 70-100%) die Hauptbeschwerden, sondern Diarrhoe mit 76% der hier untersuchten Patienten (70-85%). Daneben waren weniger Patienten von Fieber betroffen (26% vs. 35-60%).

4.1.2 Paraklinik und Zusammenhänge

Im Folgenden wird die Wertigkeit der jeweiligen initialen Diagnostik für den M. Whipple insgesamt betrachtet, unabhängig von typischen oder untypischen Befundkonstellationen. Soweit nötig wird dem Verlauf vorgegriffen.

PAS-Reaktion: Als wegweisende Untersuchung zur Diagnosestellung in dieser Arbeit im Rahmen des verwendeten Schemas (**Abbildung 1**) wird die PAS-Reaktion angesehen (**Tabelle 6**). In 92,6% der Fälle (176/190 Patienten) konnte damit der entscheidende Schritt in der Diagnostik erfolgen. Im Fall einer charakteristischen PAS-Färbung vom Typ I nach von Herbay (knapp 89%) ist eine zweite positive Untersuchung zur Bestätigung für die Diagnose beinahe nur noch formaler Natur. In der Veröffentlichung von von Herbay (78) wiesen 74% der 48 Patienten bei Diagnose ein PAS-Ergebnis vom Typ I nach von Herbay auf. Die weitere Diagnostik kann dennoch u.a. zur sicheren Bestätigung vor Behandlungseinleitung z.B. zum Ausschluss teils aufgeführter Ursachen falsch positiver Ergebnisse relevant sein oder auch für den weiteren Verlauf von Bedeutung sein. Bei der PAS-Untersuchung ist Folgendes zu beachten:

Das Ergebnis vom Typ I nach von Herbay kann, wie in dieser Arbeit, außerhalb des Duodenums liegen (im Antrum, Jejunum oder terminalen Ileum), es könnten Ergebnisse vom Typ I/II oder größer nachgewiesen werden (z.B. antibiotische Vorbehandlung anderer Ursache) oder eine Konstellation vorliegen, dass nur die Submucosa PAS-positiv ist. Diese seltene Konstellation des

ausschließlichen Submucosa-Befalles lag jedoch bei nur drei von 190 Patienten (< 2%) vor, bei von Herbay (78) bei zwei von 48 Patienten (etwa 4%).

In allen diesen Fällen stellt die PAS-Reaktion dennoch die Grundlage für die weiteren Untersuchungen dar und liefert wichtige Informationen. Bei entsprechender Klinik oder makroskopischen Hinweisen muss aber auch an einen intestinalen Befall außerhalb des Duodenums gedacht werden.

Zusätzlich müssen duodenal auch herdförmige lückenhafte Infektionen in Betracht gezogen werden (2), die eine Erklärung für die erst im Verlauf positiven PAS-Befunde der atypischen Patienten dieser Arbeit bei initial negativen PAS-Reaktionen sein könnten. Diese hier aufgeführten Konstellationen unterstreichen noch einmal die Wichtigkeit und die Grundlage für die Entnahme multipler Biopsien bei der Durchführung der Diagnostik vor Diagnosestellung im Allgemeinen, wenn an einen M. Whipple gedacht werden muss. Im Besonderen muss diese Problematik auch bei Kontrolluntersuchungen nach 6 Monaten bei untypischen Ausgangsbefunden angemessen berücksichtigt werden.

Für den klinischen Alltag maßgeblich und unabhängig von Studienkriterien ist der dargestellte Zusammenhang zwischen Symptomatik und der gastrointestinalen Diagnostik (**Tabelle 8**). Dabei konnte bei allen Patienten, bei denen ein M. Whipple diagnostiziert werden konnte, die unter Gewichtsverlust und/oder Diarrhoe gelitten hatten, ein auffälliger PAS-Befund nachgewiesen werden, in 158 von 159 Patienten (99,4%) ein charakteristisches Ergebnis vom Typ I (oder vermutlich vorbehandelt), bei 1 von 159 Patienten (0,6%) ein positiver Submucosa-Befund.

Weitere gastrointestinale Diagnostik und Zusammenhang:

Die PCR und/oder IHC wurde in dieser Arbeit als ergänzende Untersuchungen zur PAS-Reaktion angewendet, dabei zeigte sich bei charakteristischem PAS-Befund die PCR zu 96,3% (77/80 Fälle positiv) und die IHC zu 100% (13/13 Patienten positiv) dazu passend. Gestützt von diesen Ergebnissen wird in dieser Arbeit ein Dünndarm-Befund in der PAS-Reaktion vom Typ I als pathognomonisch angesehen. Auf mögliche falsch positive Befunde der PAS-Reaktion in anderen Organen wurde in der Einleitung und im Methodenteil eingegangen.

In der Veröffentlichung von Lagier et al. (2) wurden vergleichbare Ergebnisse für den Zusammenhang der PAS-Reaktion aus Dünndarm-Biopsien im Allgemeinen mit der PCR und der IHC, jedoch ohne weitere Gradation der PAS-Ergebnisse, gezeigt. Dort litten 29 Patienten an einem lokalen, nicht-systemischen M. Whipple (inkl. der kardialen Patienten) und 113 Patienten an einem klassischen M. Whipple. Letzterer war dort als solcher definiert, wenn in einer

Dünndarm-Biopsie ein PAS-positives Ergebnis oder ein positives Resultat in der IHC vorlag. Die lokalen Whipple-Patienten waren alle PAS-negativ im Duodenum, einer hatte dort eine positive PCR. Bei den 113 in der PAS-Reaktion positiven Patienten hatten 81/84 eine positive PCR (96%) und 83/84 (99%) eine positive IHC.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen unter Berücksichtigung der im Methodik-Abschnitt erläuterten Gründe positiver Ergebnisse ohne Krankheitsbedeutung eine Wertigkeit der PCR als ergänzende bzw. bestätigende Untersuchung zur PAS-Reaktion im Rahmen der Diagnosefindung. Die Bedeutung der Immunhistochemie als hoch spezifische und sensitive Untersuchung (24; 80) konnte auch im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden, sodass zu einem Untersuchungsergebnis vom Typ PAS I nach von Herbay nur eine positive IHC als passend angesehen werden muss. Hinsichtlich der quantitativen Differenzierung der IHC, siehe Kapitel 4.2.

Eine der beiden Untersuchungen kann als ergänzende Untersuchung nicht nur bei unklarem PAS-Befund befürwortet werden, auf deren Notwendigkeit wird in Kapitel 4.2 eingegangen.

Die Wichtigkeit der (gastrointestinalen) histologischen/molekularbiologischen Diagnostik konnte bei Patienten, die nur neurologische und/oder Gelenkbeschwerden haben, unterstrichen werden. Fast 50% (15/31 Patienten) dieser Patienten wiesen auffällige gastrointestinale Befunde (Histologie/PCR) auf. Bei dieser seltenen, jedoch ohne adäquate Behandlung potentiell fatal verlaufenden Erkrankung ist das insbesondere von hoher Relevanz für die Patienten, die sich zuerst neurologisch oder rheumatologisch vorstellen. Für behandelnde Ärzte dieser Fachrichtungen sind entsprechende lokalisierte Symptome ohne gastrointestinale Beschwerden noch schwieriger einem M. Whipple zuzuordnen, dieser sollte aber dennoch in einer Umfelddiagnostik unklarer Befunde vor Einleitung einer immunsuppressiven Therapie in Erwägung gezogen werden. Im klinischen Alltag aller Fachrichtungen und im hausärztlichen Bereich sollte spätestens nach Ausschluss anderer Ursachen bei Gelenkbeschwerden mit Gewichtsverlust und/oder chronischer Diarrhoe, bei seronegativer Arthritis, Kultur-negativer Endokarditis und unklaren ZNS-Beschwerden an einen M. Whipple gedacht werden (81).

Bei retrospektiver Betrachtung aller Befunde (Diagnose und Verlauf) der „atypischen Patienten“ wird die Bedeutung des beschriebenen Vorgehens für jeden Patienten zum Ausschluss oder bei Verdacht auf M. Whipple noch einmal verdeutlicht. Bei 17 von 190 gastroskopierten Patienten (8,9%) handelte es sich um Patienten, die keinen Typ I in der PAS-Reaktion nach von Herbay

aufwiesen und nicht vorbehandelt waren. Bei diesen ließ sich die Diagnose nach der PAS-Färbung entsprechend noch nicht als sehr wahrscheinlich stellen.

Bei sechs dieser Patienten konnte aber noch intestinal anhand des Diagnoseschemas (**Tabelle 9**) mit zwei unabhängigen Untersuchungen ein M. Whipple festgestellt werden, einmal jedoch im Antrum.

Nur bei 11 von 190 gastroskopierten Patienten (5,8%) konnte die Diagnose dort nicht direkt gestellt werden. Darunter fielen jedoch auch die beiden Patienten, bei denen sich später positive Befunde nachweisen ließen, deren Verläufe jedoch dafür sprechen, dass auch initial das Duodenum befallen war, dies aber aufgrund eines fokalen Befalls nicht nachgewiesen werden konnte.

Vier weitere Patienten hatten zumindest einen positiven duodenalen Befund, so dass sich, wenn man die Patienten mit den Nachweisen im Verlauf als initial positiv einstufen würde, nur bei 5 von 190 gastroskopierten Patienten (2,6%) im Rahmen der Gastroskopie gar kein positiver Befund hätte erheben lassen.

Die Schwierigkeiten, die bei der endoskopischen Diagnostik auftreten können, liegen insbesondere im makroskopisch selten auffälligen Befund begründet (13). Der Anteil auffälliger Befunde in dieser Arbeit lag bei nur bei etwas mehr als einem Viertel der Patienten. Vergleichbare systematische Untersuchungen mit entsprechenden Patientenzahlen liegen im Literaturvergleich nicht vor. Im Gegensatz dazu stehen deutlich über 90% wegweisende histologische Befunde, weshalb dem makroskopischen Befund zur Diagnosestellung des M. Whipple eine geringe Bedeutung beigemessen werden muss, jedoch aber Hinweise auch auf andere Erkrankungen liefern kann.

ZNS bzw. andere extraintestinale Diagnostik: Die Ergebnisse dieser Arbeit bekräftigen die in den vorangegangenen Kapiteln erläuterten Gründe, eine Liquor-Diagnostik durchzuführen, unabhängig von neurologischen Symptomen (29). In der Einleitung und im Methodenteil wurde auf die generelle Bedeutung der PCR im Liquor für die ZNS-Diagnostik eingegangen (PAS-gefärbte Biopsien können wie im Colon häufiger unspezifisch positiv sein), von Herbay postulierte die Molekularbiologie bereits 1996 (zu diesem Zeitpunkt noch neben der Zytologie) als Methode der Wahl (78).

Die in der Literatur angegebenen Werte mit unterschiedlichen Diagnosekriterien für ZNS-Manifestationen befinden sich im Bereich von etwa 20% bis unter 50% (2; 54; 64; 65; 66). Die in

der vorliegenden Arbeit gezeigten Ergebnisse von insgesamt 41% ZNS-Beteiligung in Form von positiven Liquor-PCRs liegen damit auch im Bereich der Arbeit von Lagier et al. mit ca. 40% (2). Dabei ist insbesondere die Diskrepanz zwischen Symptomatik und PCR-Ergebnis von Bedeutung für den klinischen Alltag. Hierbei zeigten in dieser Arbeit 26,6% der Patienten (25/94) eine positive Liquor-PCR ohne neurologische Beschwerden. Lagier et al. (2) dokumentierten sogar 38,7% der Patienten mit einer positiven Liquor-PCR als diesbezüglich beschwerdefrei (12/31 Fälle).

Ergänzend zu der in dieser Arbeit beschriebenen Anwendbarkeit der unterschiedlichen initialen Diagnostik in extraintestinalen Organen ist die hohe Wertigkeit der PCR für Körperflüssigkeiten, die nicht regelhaft im Kontakt mit der Umwelt stehen, bei antibiotisch unvorbehandelten Patienten eindeutig belegt (81). Gleiches gilt als ergänzende Untersuchung in verschiedenen Geweben, in denen eine PAS-Reaktion durchgeführt wird (81). Für die Bedeutung der Diagnostik außerhalb des ZNS für den Verlauf, siehe Kontrollempfehlungen in Abschnitt 4.2.

4.1.3 Definition der Entität des M. Whipple

Bis zum heutigen Zeitpunkt gibt es in der Literatur keine einheitliche Sprachregelung bezüglich der Begriffe M. Whipple, classical Whipple's disease (CWD), isolierter (M.) Whipple oder atypischer (M.) Whipple respektive ähnlicher Bezeichnungen. Diese neben dem ursprünglichen „M. Whipple“ bestehenden Begriffe beschreiben einerseits unterschiedliche individuelle Manifestationen der Infektion und andererseits den Versuch der Differenzierung unterschiedlicher Befundkonstellationen. Zusätzlich liegen den unterschiedlichen Begriffen sowohl erweiterte Diagnosemöglichkeiten als auch verschiedene Ansichten über die Befundzusammensetzung eines klassischen durch *T. whipplei* chronisch infizierten Patienten zugrunde.

Einigkeit besteht über die grundsätzliche Beteiligung des Gastrointestinaltraktes bei einem klassischen M. Whipple (CWD), nicht jedoch über die genaue Lokalisation oder ob und welche Befundkonstellationen die gastrointestinalen Untersuchungsmethoden aufweisen müssen. Die in dieser Arbeit definierten Bezeichnungen, die u.a. einen entsprechenden PAS-Befund vom Typ I nach von Herbay bei einem typischen bzw. klassischen M. Whipple beinhalten, wurden in Kapitel 3.1.5 erläutert. Uneinheitlich werden darüber hinaus unterschiedliche, teils ungenaue Bezeichnungen für betroffene Patienten mit untypischen Befunden oder isoliert befallenen Organen bzw. Organsystemen wie atypischer Whipple oder isolierter (M.) Whipple verwendet.

Die hier verwendeten Bezeichnungen sollen den M. Whipple auf der Grundlage der verwendeten Methoden systematisch mit den Ergebnissen dieser Arbeit gliedern bzw. definieren. Anhand der Begriffe sollen auch zugeordnete Befunde erkennbar sein.

4.2 Verlauf und Übersicht

Die PAS-Untersuchung wurde als wegweisende Untersuchung für die Diagnosestellung beschrieben und zeigt sich auch anhand der gezeigten Ergebnisse der untersuchten paraklinischen Parameter in Bezug auf den Informationsgehalt im Therapieverlauf und darüber hinaus hinsichtlich Durchführbarkeit und Kosten den anderen Untersuchungen überlegen.

Sie ermöglicht durch die Gradation neben differenzierteren Aussagen zum Therapiefortschritt im Verlauf auch eine grobe Einordnung des Krankheitsstadiums bei Erkrankten ohne Vorbefunde oder für einen bestimmten Zeitraum die Identifizierung unerkannt kalkulierte Vorbehandelter.

PAS-Reaktion, PCR und IHC im Gastrointestinaltrakt:

Die statistische Auswertung zeigt im PAS- bzw. PCR-Verlauf gegen Baseline (**Tabelle 10 und Tabelle 11**) jeweils signifikante Ergebnisse im Vorzeichen-Rang-Test nach Wilcoxon bzw. unter Verwendung des McNemar-Tests ($p < 0,001$). Für den PAS-Verlauf wurden signifikante Ergebnisse auch für mehrere Visits untereinander gezeigt (**Tabelle 11**). Die Ergebnisse der deskriptiven Statistik erlauben Schlussfolgerungen für den zu erwartenden Verlauf und Aussagen über die jeweilige Untersuchung, müssen jedoch differenziert und im Gesamtzusammenhang betrachtet werden.

In der ersten Kontrolle von Patienten, die an einem klassischen M. Whipple leiden, ist im Normalverlauf nach 6 Monaten eine Verbesserung des PAS-Befundes nach von Herbay und eine PCR-Negativierung zu erwarten (**Tabelle 10, Tabelle 11 und Tabelle 12**). Nach zwölf bzw. 24 Monaten zeigen diese Patienten einen Therapiefortschritt auf einen PAS-Befund $> I$ bzw. $\geq III$ nach von Herbay.

In der Arbeit von von Herbay (78) wiesen bei deutlich geringerer Fallzahl (48 Patienten) nach 6 Monaten noch etwa 13% ein Ergebnis vom Typ I nach von Herbay auf, in der vorliegenden Arbeit nur etwas mehr als 6% der Patienten. Nach 12 Monaten konnten in beiden Arbeiten gezeigt werden, dass unter adäquater Therapie regelhaft keine Ergebnisse vom Typ I nach von Herbay vorkommen sollten (ein Patient in dieser Arbeit, kein Patient bei von Herbay et al. (78)), dabei

wiesen bei von Herbay mehr als 80% ein PAS-Ergebnis vom Typ III auf, in der vorliegenden Arbeit wiesen ca. 80% mind. Typ III und besser auf. 24 bzw. 36 Monate ab Therapiebeginn waren in dieser Arbeit mehr als 95% bzw. mehr als 96% in der PAS-Untersuchung \geq III nach von Herbay. Diese Ergebnisse stützen die in der statistischen Auswertung vorgenommenen Gradationen der Therapieerfolge.

Ein Ergebnis vom Typ III nach von Herbay zeigt einen ausreichenden Therapieerfolg auch ohne restitutio ad integrum, dem defekte Makrophagen-Funktionen zugrunde liegen können (78).

Von Herbay konnte darüber hinaus zeigen (78), dass auch zwölf Jahre nach Therapie bei sieben von neun untersuchten Patienten ein Typ \leq III nach von Herbay vorlag ohne dass sich Hinweise auf ein Rezidiv ergaben und nur zwei der neun Patienten kein PAS-positives Material mehr aufwiesen.

Bei den entsprechend im Gesamtkollektiv auffälligen Patienten im regulären Beobachtungszeitraum dieser Arbeit wurden die weiteren Verläufe in Kapitel 3.2.4 beschrieben. Dabei hatten sich ebenso wie in der klinischen Symptomatik keine Hinweise für ein Rezidiv ergeben. Patienten, die bei den im Folgenden erläuterten und empfohlenen endoskopischen Kontrollintervallen von den genannten Ergebnissen abweichen (für die PAS-Reaktion ein Befund vom Typ $<$ III nach von Herbay), sollten jedoch genauer betrachtet und zumindest engmaschig klinisch und laborchemisch nachverfolgt werden.

Die PCR zeigte sich in mehr als 80% der Fälle nach 6 Monaten bzw. in mehr als 90% nach 12 Monaten negativ (**Tabelle 10 und Tabelle 12**). Auch bei der Verwendung einer quantitativen PCR hat diese eine nur eingeschränkte Aussagefähigkeit, insbesondere über den Infektionsstatus. Eine negativ gewordene PCR kann zwar einen Therapiefortschritt anzeigen, erlaubt jedoch keine Aussage über die weitere Therapiebedürftigkeit, welche durch die PAS-Untersuchung und die jeweiligen Gradationen in Ergänzung betrachtet werden muss.

Die statistische Auswertung erfolgte jeweils gegen Baseline, dabei zeigten sich für beide Gruppen (mit und ohne Baseline-Befund) signifikante Ergebnisse für den gesamten Verlauf ($p < 0,001$ mittels McNemar-Test). Die weiteren Kontrollen der Befunde erfolgten individuell unterschiedlich, weitere statistische Auswertungen erfolgte aus genannten und noch erläuterten Gründen nicht.

In der Veröffentlichung von von Herbay (78) konnte im Therapieverlauf im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit bei den Patienten ab einem PAS-Ergebnis vom Typ III nach von Herbay gezeigt werden, dass zu diesem Zeitpunkt die PCR-Untersuchungen negativ waren. Für die

betroffenen Patienten dieser Arbeit (**Tabelle 12**) ergaben sich jedoch weder klinisch noch in den weiteren Untersuchungen Hinweise auf ein behandlungsbedürftiges gastrointestinales Rezidiv.

Die dargelegten Einschränkungen bei der Aussagekraft, vor allem bei einem noch oder wieder positiven Ergebnis im Verlauf, stellen das Kosten-Nutzen-Verhältnis der PCR-Untersuchung infrage, welches umstritten ist und kontrovers diskutiert wird (81).

Die Argumentation gegen generelle PCR-Untersuchungen kann mit der vorliegenden Arbeit grundsätzlich geteilt werden, da damit lediglich eine luminale Kolonisierung eines in der Umwelt vorkommenden Keimes nachgewiesen und damit (alleine) keine hinreichende Aussage für die Diagnosestellung oder über ein Rezidiv und damit über eine ggf. erneute Therapiebedürftigkeit bzw. den Infektionsstatus getroffen werden kann bzw. könne (81).

Ergänzend zum Kapitel 4.1 und in Bezug auf das Diagnoseschema, kann die PCR u.a. bei unklaren Konstellationen (unklare bzw. unspezifisch positive PAS-Reaktionen oder unklare Befundkonstellationen durch unbekannte Einflüsse zunehmend eingesetzter Biologika oder anderer immunmodulierender Medikamente) für die Diagnosebestätigung sinnvoll sein.

Ebenso kann die PCR auch als Kontrolle bei der ersten Verlaufsuntersuchung nach 6 Monaten, sofern sie bei der Diagnosestellung neben dem PAS-Befund verwendet wurde, mit den vorliegenden Ergebnissen befürwortet werden. Bei initial PCR-positiven Patienten ohne Auffälligkeiten im Gesamtverlauf konnte damit durch einen negativen PCR-Befund nach 6 Monaten bei zu diesem Zeitpunkt noch nachhängendem PAS-Befund vom Typ I nach von Herbay ein Informationsgewinn hinsichtlich eines Therapieeffektes erzielt werden. Da für die PCR jedoch immer eine ergänzende Untersuchung vonnöten ist und im weiteren Verlauf mit zunehmender Wahrscheinlichkeit eine Änderung des PAS-Ergebnisses eintritt, sollte ihre Anwendung dann unklaren Konstellationen vorbehalten sein.

Die Immunhistochemie eignet sich für eine Verlaufsbeurteilung nicht. Bis auf einen einzigen Patienten, blieben alle anderen initial positiven Befunde unabhängig vom Therapieerfolg positiv. Bei diesem einen Patienten handelte es sich nicht um einen mucosalen Patienten, sondern nur um einen reinen Submucosa-Befall. Auch im Falle nicht (mehr) behandlungsbedürftiger nachgewiesener Bakterienwandbestandteile kommt es zu einem, wenn auch weniger ausgeprägtem positiven Ergebnis. Bei ausgeprägtem Befall wie bei einem Patienten, der an einer Pankarditis verstarb und im Bereich der gesamten Darmwand befallen war (siehe Kapitel 3.2.3) kam es zwar zu einem stark positiven Ergebnis, eine quantitative Differenzierung erscheint jedoch wenig praktikabel und als kaum objektivierbar.

Die immunhistochemische Untersuchung kann auch Jahre nach einem abgelaufenen M. Whipple nachweisen, dass eine entsprechende Erkrankung vorgelegen hat.

ZNS:

Als eine der vielen Besonderheiten, durch die an einem M. Whipple erkrankte Patienten sowohl für die Diagnosestellung als auch für den Therapieverlauf und die weitere Nachbeobachtung an spezialisierte Zentren angebunden bzw. zumindest in Abstimmung mit erfahrenen Therapeuten behandelt (81) werden sollten, gilt nicht zuletzt die ZNS-Problematik. Dabei spielt nicht nur die Diskrepanz zwischen Symptomatik und paraklinischem Befund eine Rolle, sondern auch die Bedeutung von Rezidiven aufgrund der Organrelevanz und die erhöhte Gefahr für Spätkomplikationen betroffener Patienten.

Die individuell unterschiedlich vorliegenden Liquorkontrollen initial positiver Patienten (**Tabelle 13** sowie Kapitel 3.2.3 und 3.2.4) erlauben u.a. folgende Schlussfolgerungen: Kontrollen bereits nach 3 Monaten (ohne Symptomatik) bringen keinen zusätzlichen Nutzen, einmal negative Befunde müssen nicht ohne Anlass erneut kontrolliert werden, persistierend positive bzw. symptomatische Patienten bedürfen in besonderem Maße eines individuell abgestimmten Therapie- und Kontrollschemas und für jeweilige Risikofaktoren in Bezug auf Spätrezidive vs. Reinfektionen gibt es aktuell keine klaren Hinweise.

4.2.1 Komplikationen vs. protrahierte Verläufe, Spätrezidive

Wie vorbeschrieben und in den Ergebnissen gezeigt, rechtfertigen im Vergleich (signifikant) auffällig nachhängende PAS-Befunde oder wieder bzw. persistierend positive PCR-Befunde alleine keine Therapieumstellung oder die Entscheidung zum erneuten Therapiebeginn. Im nächsten Schritt sollte in diesen Fällen zur Unterscheidung zwischen einem protrahierten Verlauf oder einem Rezidiv bzw. einer Komplikation zunächst auf eine äquivalente Befundentwicklung (PAS und PCR gleichermaßen) geachtet sowie eine klinische Reevaluation erfolgen, inklusive der Betrachtung von Faktoren wie Compliance und/oder Medikamentenunverträglichkeiten. Neben intensivierten klinischen Kontrollen sollten ggf. individuell engmaschigere Laboruntersuchungen erfolgen. Gibt es keine nachhaltigen Hinweise auf Komplikationen kann der weitere Verlauf abgewartet werden.

Neben einer klinischen Befundzunahme sollten bei wieder zunehmenden PAS-Befunden, jedoch insbesondere bei im Therapieverlauf nach Befundbesserung wieder auftretenden PAS-

Ergebnissen vom Typ I nach von Herbay an ein Rezidiv gedacht werden. Letzteres zeigte sich bei keinem der hier beschriebenen Patienten und wurde unter den heute anerkannten Therapien in der Nachbeobachtung von 36 Monaten bislang im Gastrointestinaltrakt auch nicht beschrieben.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich im Nachbeobachtungszeitraum von 36 Monaten gastrointestinal nur ein Patient, der als (klinisches) Rezidiv gewertet werden konnte (siehe Kapitel 3.2.3), alle anderen beschriebenen Patienten wurden anhand der erläuterten Kriterien als „abweichende Verläufe“ im Gesamtvergleich deklariert gewertet (Kapitel 3.2.4.)

Rezidivquoten für den M. Whipple in früheren Untersuchungen bzw. in Arbeiten, die sich auf entsprechende Zeiträume beziehen, zeigen eine große Streuung. In der Literatur finden sich Untersuchungen, die beispielsweise unter Cotrimoxazol oder Penicillin/Streptomycin bei 52 Patienten keine Rezidive aufwiesen (96) und Arbeiten mit Rezidivquoten von 35% (97). Werte von ca. 30% waren in den entsprechenden Untersuchungen jedoch nicht ungewöhnlich (25; 44; 98; 97). Insgesamt fallen darunter zum Teil deutlich geringere Fallzahlen, unterschiedliche Einschlussbedingungen, Arbeiten außerhalb von Studienbedingungen und mit nicht mehr angewendeten Therapieschemata (97). Belegte vergleichbare Daten nach heutigem Stand adäquat behandelter Patienten liegen nicht vor (81). In der vorliegenden Arbeit lag die Rezidivquote unter Einschluss der fünf ZNS-Persistenzen im Sinne eines Therapieversagens unter regelhafter Therapie mit Ceftriaxon und Cotrimoxazol (sowie einmal nur mit Cotrimoxazol) im regulären Beobachtungszeitraum bei etwa 3%, in der Gesamtzusammenschau der Komplikationen zuzüglich aller gesondert betrachteten IRIS-Patienten und Todesfälle (**Abbildung 10**).

In Bezug auf die Letalität sind neben schweren Verläufen der IRIS-Patienten und anderen beschriebenen fulminanten Verläufen, welche vor Wirkungseintritt einer begonnenen Therapie insbesondere bei fortgeschrittenem und/oder Befall lebenswichtiger Organe auftreten können, im späteren Therapieverlauf die ZNS-Komplikationen hervorzuheben. Diese gelten insgesamt als am meisten gefürchtete Komplikation verschiedener Ätiologien mit schweren bis zu 30% letalen Verläufen (3; 25; 44). In dieser Arbeit waren unter Einbezug der Spätkomplikationen (4/12 Patienten) vergleichbar etwas mehr als 30% (siehe Kapitel 3.2.3) der ZNS-Komplikationen tödlich verlaufen. Bei etwa einem Viertel (24,3% bzw. 9/37) der ZNS-Patienten wurden persistierend positive Befunde im regulären Nachbeobachtungszeitraum dokumentiert (**Tabelle 13**).

In Bezug auf das Auftreten von Komplikationen insgesamt kann hier bestätigt werden, dass diese am häufigsten das ZNS betreffen (81), dabei handelte es sich um vier von zehn Patienten (40%) der Whipple-assoziierten Todesfälle, fünf von sechs Persistenzen/Rezidive (83%), und drei von fünf Spätkomplikationen (60%) (**Abbildung 10** bzw. Kapitel 3.2.3).

Die Gefahr und Qualität der Spätrezidive (in der vorliegenden Arbeit wurde über drei ZNS-, einen Gastrointestinal- und einen Gelenkbefall berichtet) rechtfertigen beim M. Whipple eine lebenslange Anbindung der Patienten. Dabei ist nach heutigem Stand für Komplikationen und/oder Spätrezidive nicht eindeutig geklärt, ob die Ursachen in der ursprünglichen Therapie, der jeweiligen genetisch bedingten Ätiologie bzw. der Form des M. Whipple, einer Zweitinfektion eines anderen Genotyps, der nur durch zusätzliche Untersuchungen erkannt werden kann (99), oder in einer Kombination der genannten Faktoren, Resistenzen oder anderen unbekanntem Faktoren zu finden sind. Darüber hinaus ist im ZNS-Bereich zu beachten, dass sekundär bzw. reaktiv entstehende entzündliche Prozesse wie Vaskulitiden eine organbedingt hohe klinische Relevanz haben, die trotz erfolgreicher Therapie zu anhaltenden Beschwerden führen können. Auf jeden Fall muss bei Patienten, die einen M. Whipple haben bzw. hatten auch Jahre später an eine erneute Behandlungsbedürftigkeit gedacht werden, auch wenn es sich nicht wie bei Pneumonien oder Streptokokken-induzierten Erysipelen um eine klassisch mehrfach auftretende Erkrankung handelt.

Zusammenfassend, abgesehen von den Spätkomplikaionen, konnten die Ergebnisse dieser Arbeit jedoch zeigen, dass schwere ZNS-Komplikationen, die teilweise zu Todesfällen führten, in der Regel bereits innerhalb der ersten 12 Monate offenbar wurden und Todesfälle, welche nicht-neuronalen Ursachen zugrunde lagen, sogar innerhalb der ersten 6 Monaten auftraten.

4.2.2 Kontrollempfehlungen

In der Gesamtzusammenschau der gezeigten Ergebnisse unter Einordnung in den klinischen Kontext und der Aussagekraft der Untersuchungen sollten alle Patienten, bei denen ein M. Whipple diagnostiziert wurde, nach 6 sowie nach 12 bis 18 Monaten endoskopisch kontrolliert werden und bei ZNS-Befall nach 6 bis 12 Monaten mittels Liquor-PCR.

In der aktuell gültigen Leitlinie (81) heißt es dazu: „Zur Verlaufskontrolle soll die Befund gebende Primärdiagnostik wiederholt werden. [Konsensusstärke: starker Konsensus, starke Empfehlung]. Verlaufskontrollen sollten 6 und 12 Monate nach Behandlungsbeginn durchgeführt werden. [Konsensusstärke: starker Konsensus, Empfehlung]. Bei initial positivem Liquorbefund soll nach 12 Monaten eine Kontrolle erfolgen. [Konsensusstärke: starker Konsensus, starke Empfehlung]. Klinische Verlaufskontrollen sollten lebenslang erfolgen. [Konsensusstärke: starker Konsensus, Empfehlung].“

Wie in diesem Kapitel und anhand der Ergebnisse erläutert, sollte die PAS-Untersuchung generell erfolgen, die PCR in akkreditierten Laboren, sofern bei der Diagnose eingesetzt, in der 6-Monatskontrolle, darüber hinaus kann sie der Therapiekontrolle dienen.

Die Empfehlungen sollten unabhängig von den aktuell angewendeten Therapien gelten. Für mögliche neue Therapien in Zukunft müssten entsprechende Untersuchungen erfolgen.

Die in der vorliegenden Arbeit gezeigten Ergebnisse zeigen, dass eine Kontrolle, die insbesondere zur Reevaluation nach Therapieabschluss bei Behandlungen über insgesamt drei Monate zwar wünschenswert scheint, aber generell zu früh wäre und durch häufig langsame Befundbesserungen nicht regelhaft sinnvoll ist.

Die gezeigten Ergebnisse belegen jedoch auch, dass die zweite Kontrolle auch nach 18 Monaten ausreichend wäre. Vorteilhaft wäre zum einen, dass wahrscheinlich auch letzte auffällig nachhängende PAS-Befunde in einem Bereich vom Typ III nach von Herbay lägen (**Tabelle 11** zu Daten zwischen 12 und 24 Monaten) und zum anderen die gezeigten paraklinische Befunde zum Zeitpunkt von 12 Monaten bei Symptombefreiheit kaum therapeutische Konsequenzen haben. Der Abstand von eineinhalb Jahren nach Therapiebeginn sollte für geplant lebenslang angebundene Patienten auch außerhalb von Studien nicht zu lang gewählt sein. Mit 12 bis 18 Monaten für die zweite und geplant abschließende endoskopische Kontrolle könnte auch individueller (außerhalb von Studien) auf den jeweiligen 6-Monatsbefund reagiert werden.

Weitere Kontrollen, für die eine statistische Signifikanz ($p < 0,05$ mittels Vorzeichen-Rang-Test nach Wilcoxon) nur für die ungruppierten Patienten vorlag (**Tabelle 11**), sind im klinischen Alltag als nicht zielführend zu bewerten.

Indikationen für Abweichungen von den empfohlenen Intervallen bzw. verlängerte Kontrollzeiträume liegen bei entsprechender Symptomatik oder unklaren (z.B. progredienten) Befundkonstellationen vor.

Für die Patienten mit ZNS-Beteiligung und initial positivem Befund reicht im Verlauf eine negative Kontrolle aus (**Tabelle 13** und Kapitel 3.2.3 und 3.2.4). Im dargestellten Beobachtungszeitraum wurden keine erneut positiven Befunde nach negativen PCR-Ergebnissen dokumentiert. Bei den ZNS-Persistenzen lagen zu dem entsprechenden Zeitpunkt positive PCR-Befunde oder Beschwerden und eine konsekutiv positive PCR vor. Eine regelhafte Kontrolle nach drei Monaten scheint zu früh, über drei dokumentierte Fälle, bei denen nach drei Monaten noch ein nicht eindeutiges Ergebnis und nach sechs Monaten ein negatives vorlag, wurde berichtet. Das sollte für betroffene Patienten, die neben dem Therapeuten im sensiblen ZNS-Bereich eine

schnelle Befundbesserung auch paraklinisch nachgewiesen haben möchten, beachtet werden. Die Ergebnisse belegen aber, dass in diesem relevanten Organsystem eine Kontrolle nach sechs, spätestens nach zwölf Monaten, erfolgen können sollte. Hinsichtlich weiterer Kontrollen gilt wie auch im Gastrointestinaltrakt: nur bei Auffälligkeiten respektive klinischen Beschwerden.

Für die Kontrollen anderer singulär oder zusätzlich betroffener Organe sollten klinische Kontrollen, ggf. soweit im Rahmen der Strahlenhygiene möglich, auch bildgebende Kontrollen erfolgen. Eine invasive Diagnostik sollte nur in Ausnahmefällen im Sinne einer Nutzen-Risiko-Abwägung erfolgen.

In der aktuellen Leitlinie lautet die Empfehlung (81): „Bei Lymphknotenvergrößerung oder bei Endokarditis sollten neben klinischer und laborchemischer Verlaufsbeobachtung auch sonographische bzw. echokardiographische Kontrollen durchgeführt werden. Die Verlaufsbeurteilung einer T. whipplei-Arthritis erfolgt ebenfalls klinisch und laborchemisch durch Messung der Entzündungsparameter. Eine Kontrolle mittels T. whipplei-spezifischer PCR entfällt, wenn Lymphknoten nicht mehr vergrößert sind, bzw. keine Gelenkergüsse mehr bestehen.“

Schlussendlich sollten alle an der langwierig zu behandelnden und komplexen Infektionskrankheit M. Whipple Erkrankte nicht nur von erfahrenen Behandlern betreut werden, idealerweise an Zentren mit den jeweiligen Vorbefunden, sondern lebenslang mit klinischen Kontrollen angebunden werden (99).

4.3 Studienlimitierungen und Fehlermöglichkeiten

Die Limitationen dieser Arbeit liegen zum einen im retrospektiven Design begründet.

Die Compliance hinsichtlich einer regelmäßigen Medikationseinnahme stellt eine weitere Fehlermöglichkeit bei der Betrachtung von Verlaufsbefunden im Rahmen der langen antibiotischen Therapie beim M. Whipple dar, insbesondere bei unklaren Befundverläufen und/oder wenn es zu einer klinischen Beschwerdefreiheit bzw. -reduktion kommt, die Therapie jedoch noch lange fortgeführt werden muss. Dazu zählt auch eine unregelmäßige Einnahme der Medikation gerade bei Patienten außerhalb von Studien.

Der nicht regelhaft flächig auftretende Befall bzw. die beschriebenen Patienten mit erst im Verlauf festgestellten positiven duodenalen Befunden schließen weitere Befunde bzw. Patienten bei der Diagnosestellung oder im Verlauf, die bei der Entnahme der Biopsien nicht erfasst wurden, nicht

aus. Gleiches gilt für einen extraduodenalen gastrointestinalen Befall, etwa im Antrum oder im Ileum.

Es ist zwar nicht mit Sicherheit auszuschließen, dass initial duodenal negative Patienten erst im Verlauf positiv wurden bzw. werden können, ist jedoch, in Bezug auf die weiteren hier beschriebenen Behandlungsverläufe, als sehr unwahrscheinlich zu bewerten.

Bei der Betrachtung der intestinalen Diagnostik kann nach heutigem Stand der Einfluss immunmodulatorischer bzw. immunsuppressiver Vortherapien entsprechender Patientengruppen auf die Befunde nicht abschließend beurteilt werden, exemplarisch seien hier Fälle negativer Ergebnisse der PAS-Reaktion bei (richtig) positiven PCR-Ergebnissen genannt (43; 44).

Die Manifestation an Organen außerhalb des GI-Traktes in der vorliegenden Arbeit bzw. beim M. Whipple insgesamt könnte häufiger vorgelegen haben bzw. vorliegen. Bei einem zusätzlichen Befall könnten entsprechende Beschwerden im Vergleich zu beispielsweise gastrointestinalen Symptomen für eine Diagnostik als nachrangig empfunden worden oder unbemerkt geblieben (z.B. bei einem Lymphknotenbefall) und/oder schwieriger zu diagnostizieren gewesen sein. Darüber hinaus ist in Betracht zu ziehen, dass bei Patienten, bei denen die Diagnose bereits gestellt wurde, vor allem außerhalb von Studien, eine weitere invasive Diagnostik (außerhalb des ZNS) hinsichtlich der therapeutischen Konsequenz oder möglichen Komplikationen nicht durchgeführt wurde.

Wie auch anhand der Fehldiagnosen beschrieben wurde, könnten gerade bei isolierten extraintestinalen Manifestationen mehr Patienten an einem M. Whipple leiden als bisher angenommen.

Zu den zusätzlich beschriebene Spätrezidiven, die über den untersuchten Beobachtungszeitraum hinaus erfasst wurden, ist zu ergänzen, dass es sich dabei nicht um eine systematische Auswertung aller Patienten handelte, da diese nicht entsprechend erfasst wurden.

4.4 Untersuchungsbedarf und ungeklärte Fragen

In dieser Arbeit wurden verschiedene Ursachen u.a. für die bis heute nicht abschließend geklärte epidemiologische und ätiologische Situation erläutert.

Dadurch zeigt sich nicht nur der Forschungsbedarf, sondern auch die Notwendigkeit sich im klinischen Alltag mit dieser relevanten Erkrankung interdisziplinär in verschiedenen Szenarien auseinanderzusetzen.

Die komplexen Mechanismen und Zusammenhänge von Immundefekten, Suszeptibilitäten und Co-Faktoren stellen nicht nur für den M. Whipple Ansatzpunkte weiterführender Forschung im Rahmen der heutigen Möglichkeiten dar, beispielsweise im Bereich der Molekulargenetik oder Gentechnik. Dabei stellt sich nicht zuletzt die Frage, ob die erläuterten Immundefekte und HLA-Assoziationen das breite und individuelle Manifestationsspektrum abschließend begründen.

Für die Diagnosestellung geht es neben der Rolle bekannter und unbekannter Faktoren, z.B. durch den Einfluss iatrogenen Immunsuppression oder -modulation auf die Untersuchungsergebnisse (43), um entsprechende Zusammenhänge von Ursache, Wirkung und/oder Wechselwirkung verschiedener Erkrankungen. Der M. Whipple als Folge des oder der Immundefekte, umgekehrt als Folge von chronischen Entzündungen oder Immunsuppression verschiedener Genesen oder im Rahmen wechselseitiger Abhängigkeiten anderer Krankheiten, die auch diagnostiziert oder ausgeschlossen werden müssen. Argumentationen gibt es in mehrere Richtungen, die sich auch im ungewöhnlichen Verhalten und Ähnlichkeiten zu unten genannten Erkrankungen zeigen (44), zu denen der M. Whipple im Gegensatz zu den meisten sonstigen Infektionskrankheiten Parallelen aufweist.

Dazu zählen mögliche Assoziationen des M. Whipple zu Lymphomen (55) mit Kasuistiken zu parallelem (100) und sekundärem Vorkommen (101), z.B. durch den M. Whipple an sich oder durch Erkennung spezifischer Epitope bei T. whipplei durch T-Zellen, wodurch es zur klonalen B-Zell-Expansion bei Vorliegen genetischer Polymorphismen in Toll-like-Rezeptoren kommen kann, ähnlich wie bei reaktiven MALT-Lymphomen nach Helicobacter-pylori-Infektion (44; 88). Demgegenüber stehen das Auftreten bzw. die Diagnosestellung eines M. Whipple und/oder von T. whipplei nach Immunsuppression verschiedener Genese, z.B. iatrogen oder durch maligne Erkrankungen. Beschrieben wurden u.a. Falldarstellungen nach Transplantationen (102) oder signifikant erhöhte Nachweise von T. whipplei bei HIV-Patienten (41).

Daneben gibt es Veröffentlichungen zum Auftreten in Assoziation mit anderen Infektionen, z.B. durch Parasiten und M. Whipple (103).

Andere Autoren untersuchten und beschrieben gehäuft ungewöhnliche Verläufe für eine Infektionskrankheit und stellten Verbindungen zu Autoimmunerkrankungen her (104).

Hinsichtlich der in der vorliegenden Arbeit und der Literatur beschriebenen verschiedenen Manifestationsformen oder Verläufe des M. Whipple stellt sich die Frage ihrer tatsächlichen Existenz oder welchen Anteil der Faktor Zeit respektive der Therapiebeginn hat, ob und wann z.B. isolierte in systemische Formen übergehen bzw. mehr Patienten an anderen Organen asymptomatisch betroffen sind als bekannt.

In diesem Zusammenhang könnten genetische Variabilitäten über die bekannten HLA-Assoziationen hinaus dazu beitragen, welche Form ausgelöst oder welche Organe befallen werden. Daraus könnten sich neben benötigten Forschungen an neuen, im Vergleich zur Standardtherapie kürzeren Antibiotikaregimen auch Ansätze im Bereich der in der Regel sehr kostenintensiven Immuntherapie ergeben, von denen betroffene Patienten mit entsprechenden Immundefizienzen über den M. Whipple hinaus profitieren könnten.

Für den klinischen interdisziplinären Alltag stellt (pathophysiologisch) insbesondere das Patientenklientel eine Herausforderung dar, das immunsuppressiv vorbehandelt wurde. Dabei könnte bei einer Suszeptibilität ein zusätzlicher Co-Faktor wie eine Immunsuppression Bedingung für einen Krankheitsausbruch sein oder ihn beschleunigen. Für Marth stellt diese Form eine eigene Entität des M. Whipple dar, wobei die Immunsuppression als „second hit“ bei entsprechender Suszeptibilität den Krankheitsausbruch bewirke und auch Einfluss auf die Manifestationsform, z.B. als lokalisierter M. Whipple (LMW), haben könnte (44).

Insbesondere bei weiteren entsprechenden Hinweisen, gerade wegen des erhöhten Risikos eines IRIS und dessen schwerer Konsequenzen sollte bei unklarer Symptomatik bzw. Risikofaktoren v.a. bei rheumatischen Verdachtsdiagnosen eine Diagnostik vor Einleitung einer immunsuppressiven Therapie zum Ausschluss eines M. Whipple nachdrücklich erwogen werden. In der Kosten-Nutzen-Abwägung in Bezug auf die Häufigkeit der Erkrankung gegenüber den Konsequenzen für die Patienten durch Fehldiagnosen wären bei der im Vergleich beispielsweise zu HIV oder Tuberkulose deutlich selteneren Infektionserkrankung kostengünstige, einfach anwendbare und wenig invasive Screening-Methoden wünschenswert.

Möglicherweise könnte hierbei künftig die Urin-Untersuchung eine Rolle spielen.

Moter et al. untersuchten in ihrer Studie (105) u.a. mittels Urin-PCR zwölf unbehandelt an M. Whipple Erkrankte sowie 31 behandelte Patienten mit M. Whipple. Als Kontrollen fungierten 110 nicht erkrankte Probanden. Die verwendete Urin-PCR erwies sich als hoch spezifisch, alle Kontrolluntersuchungen der entsprechenden 110 Probanden inklusive elf gesunder Träger mit positiven Stuhlproben zeigten sich negativ. In Bezug auf die Sensitivität der PCR waren jedoch nur neun von zwölf unbehandelten Patienten positiv, bei drei Patienten konnte T. whipplei molekularzytogenetisch mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) nachgewiesen werden (105). Es konnte gezeigt werden, dass der Nachweis von T. whipplei im Urin in allen Fällen mit einer Erkrankung an einem M. Whipple einherging (105).

PCR-Untersuchungen von Stuhl und Speichel sind umstritten, bei der Diagnosestellung werden sie in der aktuellen Leitlinie abgelehnt (81), die weitere Diagnostik muss bei Verdacht in jedem

Fall durchgeführt werden. Fenollar et al. zeigten in ihrer Arbeit (22) bei 71 diagnostizierten Patienten einen positiven prädiktiven Wert von 95,2% (Stuhl und Speichel), einen negativen prädiktiven Wert von 99,2% (Stuhl oder Speichel) für den Fall positiver bzw. negativer Ergebnisse der entsprechenden PCR-Untersuchungen für die Diagnose eines systemischen M. Whipple. Bei lokalen Formen lag die Sensitivität jedoch bei nur 58% im Vergleich zu 94% der systemischen Manifestationsform.

Möglicherweise könnten die PCR-Untersuchungen im Stuhl und Speichel als Screeningmethode für bestimmte Patienten angewendet werden, der jeweilige Nutzen müsste z.B. bei zu definierenden Hochrisikopatienten vor Einleitung einer immunsuppressiven Therapie untersucht werden.

Insbesondere hinsichtlich extraintestinaler Formen des M. Whipple könnten möglicherweise in der Zukunft für die initiale Diagnostik Urin-Untersuchungen verwendet werden (105).

Bei Untersuchungen zur PCR im Blut (2) bei systemischem M. Whipple (113 Patienten) konnte nur in gut 50% der Fälle T. whipplei per PCR nachgewiesen werden (32/61 Patienten), wohingegen die duodenale PAS-Reaktion zu 100% (113/113 Patienten), die IHC zu 98,8% (83/84 Fälle) und die lokale PCR in 96% (81/84 Patienten) der Fälle positiv war. Bei lokalen Manifestationen war die PCR im Blut bei allen Patienten negativ, bis auf die Fälle von dort inkludierten kardialen Patienten (2). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass durch Aufreinigung von mononukleären Zellen die Detektionsrate aus dem peripheren Blut unter Verwendung einer rpoB-real-time-PCR für T. whipplei insbesondere für atypische Patienten erhöht werden konnte (106). Dabei handelte es sich größtenteils um an einem M. Whipple Erkrankte (35 von 60 Präparate bzw. 58,3% bei 16 von 20 betroffenen Patienten) ohne gastrointestinale Hinweise respektive typische PAS-positive duodenale Makrophagen (106).

Abschließend soll an dieser Stelle die Bedeutung von Rezidiven im Allgemeinen und Spätkomplikationen im Besonderen betont werden. Hierbei scheint die Bedeutung der verschiedenen Genotypen im Sinne einer Neuinfektion gegenüber echten Rezidiven nicht abschließend geklärt zu sein.

Die Komplexität des M. Whipple ermöglicht über 100 Jahre nach der Entdeckung auch in Zukunft noch verschiedene Forschungsansätze von der Entstehung, dem Ausbruch der Erkrankung und bis über die Phase hinaus, in der sie überstanden scheint.

5 Literaturverzeichnis

1. Fenollar F, Raoult D. Whipple's disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2003;5(5):379-85.
2. 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 (Baltimore)* 2010;89(5):337-45.
3. Schneider T, Moos V, Loddenkemper C, Marth T, Fenollar F, Raoult D. Whipple's disease: new aspects of pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis* 2008;8(3):179-90.
4. Allchin WH, Hebb RG. Lymphangiectasis intestini. *Trans Path Soc Lond* 1895;46:221-3.
5. Whipple GH. 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;18:382-93.
6. Black-Schaffer B. The tinctoral demonstration of a glycoprotein in Whipple's disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;72(1):225-7.
7. Hendrix JP, Black-Schaffer B, Withers RW, Handler P. Whipple's intestinal lipodystrophy; report of four cases and discussion of possible pathogenic factors. *Arch Intern Med (Chic)* 1950;85(1):91-131.
8. Bolt RJ, Pollard HM, Standaert L. Transoral small-bowel biopsy as an aid in the diagnosis of malabsorption states. *N Engl J Med* 1958;259(1):32-4.
9. Paulley JW. A case of Whipple's disease (intestinal lipodystrophy). *Gastroenterology* 1952;22(1):128-33.
10. Yardley JH, Hendrix TR. Combined electron and light microscopy in Whipple's disease. Demonstration of "bacillary bodies" in the intestine. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1961;109:80-98.
11. Relman DA, Schmidt TM, MacDermott RP, Falkow S. Identification of the uncultured bacillus of Whipple's disease. *N Engl J Med* 1992;327(5):293-301.
12. La Scola B, Fenollar F, Fournier PE, Altwegg M, Mallet MN, Raoult D. Description of *Tropheryma whipplei* gen. nov., sp. nov., the Whipple's disease bacillus. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001;51(4):1471-9.
13. Schneider T, Moos V. *Tropheryma whipplei*: Erreger verschiedener Infektionen und Pathogen des Morbus Whipple. *Dtsch med Wochenschr* 2015;140(6):428-32.

14. Schoedon G, Goldenberger D, Forrer R, Gunz A, Dutly F, Höchli M, Altwegg M, Schaffner A. Deactivation of macrophages with interleukin-4 is the key to the isolation of *Tropheryma whippelii*. *J Infect Dis* 1997;176(3):672-7.
15. Raoult D, Birg ML, La Scola B, Fournier PE, Enea M, Lepidi H, Roux V, Piette JC, Vandenesch F, Vital-Durand D, Marrie TJ. Cultivation of the bacillus of Whipple's disease. *N Engl J Med* 2000;342(9):620-5.
16. Marth T, Feurle GE. Infektion mit *Tropheryma whippelii*: Diagnose, Pathogenese, Therapie. *Dtsch Arztebl* 2002;99(48):A 3265–71.
17. Bentley SD, Maiwald M, Murphy LD, Pallen MJ, Yeats CA, Dover LG, Norbertczak HT, Besra GS, Quail MA, Harris DE, von Herbay A, Goble A, Rutter S, Squares R, Squares S, Barrell BG, Parkhill J, Relman DA. Sequencing and analysis of the genome of the Whipple's disease bacterium *Tropheryma whippelii*. *Lancet* 2003;361(9358):637-44.
18. Raoult D, Ogata H, Audic S, Robert C, Suhre K, Drancourt M, Claverie JM. *Tropheryma whippelii* Twist: a human pathogenic Actinobacteria with a reduced genome. *Genome Res* 2003;13(8):1800-9.
19. Boulos A, Rolain JM, Mallet MN, Raoult D. Molecular evaluation of antibiotic susceptibility of *Tropheryma whippelii* in axenic medium. *J Antimicrob Chemother* 2005;55(2):178-81.
20. Li W, Fenollar F, Rolain JM, Fournier PE, Feurle GE, Müller C, Moos V, Marth T, Altwegg M, Calligaris-Maibach RC, Schneider T, Biagi F, La Scola B, Raoult D. Genotyping reveals a wide heterogeneity of *Tropheryma whippelii*. *Microbiology* 2008;154(2):521-7.
21. 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(1):401-3.
22. 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. *Clin Infect Dis* 2008;47(5):659-67.
23. Moter A, Schmiedel D, Petrich A, Wiessner A, Kikhney J, Schneider T, Moos V, Göbel UB, Reischl U. Validation of an *rpoB* gene PCR assay for detection of *Tropheryma whippelii*: 10 years' experience in a National Reference Laboratory. *J Clin Microbiol* 2013;51(11):3858-61.
24. Baisden BL, Lepidi H, Raoult D, Argani P, Yardley JH, Dumler JS. Diagnosis of Whipple disease by immunohistochemical analysis: a sensitive and specific method for the detection of *Tropheryma whippelii* (the Whipple bacillus) in paraffin-embedded tissue. *Am J Clin Pathol* 2002;118(5):742-8.

25. Fenollar F, Puéchal X, Raoult D. Whipple's disease. *N Engl J Med* 2007;356(1):55-66.
26. Mittermayer H, Allerberger F. Spektrum der Infektionskrankheiten: Diagnostik, Verlauf und zeitgemäße Therapie. In: Dusch H, Altwegg M. Band 1 Allgemeine Infektiologie und Krankheitserreger: *Tropheryma whipplei*. Balingen: Spitta-Verlag, 2006.
27. Dobbins WO 3rd. Whipple's disease. Springfield, Ill: Charles C. Thomas, 1987.
28. Marth T. *Tropheryma whipplei*, Immunosuppression and Whipple's Disease: From a Low-Pathogenic, Environmental Infectious Organism to a Rare, Multifaceted Inflammatory Complex. *Dig Dis* 2015;33(2):190-9.
29. von Herbay A. Morbus Whipple: Histologische Diagnostik nach der Entdeckung von *Tropheryma whippelii*. *Pathologe* 2001;22(1):82-8.
30. 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(6):2033-5.
31. Keita AK, Bassene H, Tall A, Sokhna C, Ratmanov P, Trape JF, Raoult D, Fenollar F. *Tropheryma whipplei*: a common bacterium in rural Senegal. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5(12):e1403.
32. Raoult D, Fenollar F, Rolain JM, Minodier P, Bosdure E, Li W, Garnier JM, Richet H. *Tropheryma whipplei* in children with gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2010;16(5):776-82.
33. Fenollar F, Amphoux B, Raoult D. A paradoxical *Tropheryma whipplei* western blot differentiates patients with whipple disease from asymptomatic carriers. *Clin Infect Dis* 2009;49(5):717-23.
34. Moos V, Kunkel D, Marth T, Feurle GE, LaScola B, Ignatius R, Zeitz M, Schneider T. Reduced peripheral and mucosal *Tropheryma whipplei*-specific Th1 response in patients with Whipple's disease. *J Immunol* 2006;177(3):2015-22.
35. Raoult D, Fenollar F, Birg ML. Culture of *T. whipplei* from the stool of a patient with Whipple's disease. *N Engl J Med* 2006;355(14):1503-5.
36. Martinetti M, Biagi F, Badulli C, Feurle GE, Müller C, Moos V, Schneider T, Marth T, Marchese A, Trotta L, Sachetto S, Pasi A, De Silvestri A, Salvaneschi L, Corazza GR. The HLA alleles DRB1*13 and DQB1*06 are associated to Whipple's disease. *Gastroenterology* 2009;136(7):2289-94.
37. Biagi F, Badulli C, Feurle GE, Müller C, Moos V, Schneider T, Marth T, Mytilineos J, Garlaschelli F, Marchese A, Trotta L, Bianchi PI, Di Stefano M, Cremaschi AL, De Silvestri A,

- Salvaneschi L, Martinetti M, Corazza GR. Cytokine genetic profile in Whipple's disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(11):3145-50.
38. Fenollar F, Trani M, Davoust B, Salle B, Birg ML, Rolain JM, Raoult D. Prevalence of asymptomatic *Tropheryma whippelii* carriage among humans and nonhuman primates. *J Infect Dis* 2008;197(6):880-7.
39. Fenollar F, Keita AK, Buffet S, Raoult D. Intrafamilial circulation of *Tropheryma whippelii*, France. *Emerg Infect Dis* 2012;18(6):949-55.
40. Bousbia S, Papazian L, Auffray JP, Fenollar F, Martin C, Li W, Chiche L, La Scola B, Raoult D. *Tropheryma whippelii* in patients with pneumonia. *Emerg Infect Dis* 2010;16(2):258-63.
41. Lozupone C, Cota-Gomez A, Palmer BE, Linderman DJ, Charlson ES, Sodergren E, Mitreva M, Abubucker S, Martin J, Yao G, Campbell TB, Flores SC, Ackerman G, Stombaugh J, Ursell L, Beck JM, Curtis JL, Young VB, Lynch SV, Huang L, Weinstock GM, Knox KS, Twigg H, Morris A, Ghedin E, Bushman FD, Collman RG, Knight R, Fontenot AP; Lung HIV Microbiome Project. Widespread colonization of the lung by *Tropheryma whippelii* in HIV infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187(10):1110-7.
42. Fenollar F, Mediannikov O, Socolovschi C, Bassene H, Diatta G, Richet H, Tall A, Sokhna C, Trape JF, Raoult D. *Tropheryma whippelii* bacteremia during fever in rural West Africa. *Clin Infect Dis* 2010;51(5):515-21.
43. Lehmann P, Ehrenstein B, Hartung W, Dragonas C, Reischl U, Fleck M. PCR analysis is superior to histology for diagnosis of Whipple's disease mimicking seronegative rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol* 2017;46(2):138-42.
44. Marth T. Klinische Verlaufsformen der *Tropheryma whippelii* Infektion und des Morbus Whipple - Bedeutung für die Rheumatologie. *Akt Rheumatol* 2015;40(03):209-18.
45. Fenollar F, Lepidi H, Raoult D. Whipple's endocarditis: review of the literature and comparisons with Q fever, Bartonella infection, and blood culture-positive endocarditis. *Clin Infect Dis* 2001;33(8):1309-16.
46. Geissdörfer W, Moos V, Moter A, Loddenkemper C, Jansen A, Tandler R, Morguet AJ, Fenollar F, Raoult D, Bogdan C, Schneider T. High frequency of *Tropheryma whippelii* in culture-negative endocarditis. *J Clin Microbiol* 2012;50(2):216-22.
47. Schneider T, Zeitz M. Krankheits- und Immunphänomene bei M. Whipple. *Internist (Berl)* 2003;44(2):184-90.
48. Dancygier H, Scharnke W. Morbus Whipple-eine seltene Systemerkrankung, Aktueller Stand der Diagnostik und Therapie. Bern: Verlag Hans Huber, 2002.

49. Fournier PE, Thuny F, Richet H, Lepidi H, Casalta JP, Arzouni JP, Maurin M, Célard M, Mainardi JL, Caus T, Collart F, Habib G, Raoult D. Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: a prospective study of 819 new cases. *Clin Infect Dis* 2010;51(2):131-40.
50. Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med* 1994;96(3):200-9.
51. Li JS, Sexton DJ, Mick N, Nettles R, Fowler VG Jr, Ryan T, Bashore T, Corey GR. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 2000;30(4):633-8.
52. Brouqui P, Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2001;14(1):177-207.
53. Fenollar F, Célard M, Lagier JC, Lepidi H, Fournier PE, Raoult D. *Tropheryma whippelii* endocarditis. *Emerg Infect Dis* 2013;19(11):1721-30.
54. Feurle GE, Moos V, Bläker H, Loddenkemper C, Moter A, Stroux A, Marth T, Schneider T. Intravenous ceftriaxone, followed by 12 or three months of oral treatment with trimethoprim-sulfamethoxazole in Whipple's disease. *J Infect* 2013;66(3):263-70.
55. Feurle GE, Junga NS, Marth T. Efficacy of ceftriaxone or meropenem as initial therapies in Whipple's disease. *Gastroenterology* 2010;138(2):478-86.
56. Marth T, Raoult D. Whipple's disease. *Lancet* 2003;361(9353):239-46.
57. Mahnel R, Kalt A, Ring S, Stallmach A, Strober W, Marth T. Immunosuppressive therapy in Whipple's disease patients is associated with the appearance of gastrointestinal manifestations. *Am J Gastroenterol* 2005;100(5):1167-73.
58. Böcker W, Denk H, Heitz PH, Moch H. *Pathologie*. Vierte Aufl. München: Elsevier-Verlag, 2008.
59. Remmele W. *Pathologie: Band 2 Verdauungstrakt*. Zweite Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1996.
60. Herold G. *Innere Medizin*. Köln: Dr. med. Gerd Herold, 2010.
61. Freeman HJ. *Tropheryma whippelii* infection. *World J Gastroenterol* 2009;15(17):2078-80.
62. Puéchal X. Whipple disease and arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13(1):74-9.
63. Meunier M, Puechal X, Hoppé E, Soubrier M, Dieudé P, Berthelot JM, Caramaschi P, Gottenberg JE, Gossec L, Morel J, Maury E, Wipff J, Kahan A, Allanore Y. Rheumatic and

- musculoskeletal features of Whipple disease: a report of 29 cases. *J Rheumatol* 2013;40(12):2061-6.
64. von Herbay A, Otto HF, Stolte M, Borchard F, Kirchner T, Ditton HJ, Maiwald M. Epidemiology of Whipple's disease in Germany. Analysis of 110 patients diagnosed in 1965-95. *Scand J Gastroenterol* 1997;32(1):52-7.
65. Gerard A, Sarrot-Reynauld F, Liozon E, Cathebras P, Besson G, Robin C, Vighetto A, Mosnier JF, Durieu I, Vital Durand D, Rousset H. Neurologic presentation of Whipple disease: report of 12 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2002;81(6):443-57.
66. Louis ED, Lynch T, Kaufmann P, Fahn S, Odel J. Diagnostic guidelines in central nervous system Whipple's disease. *Ann Neurol* 1996;40(4):561-8.
67. Compain C, Sacre K, Puéchal X, Klein I, Vital-Durand D, Houeto JL, De Broucker T, Raoult D, Papo T. Central nervous system involvement in Whipple disease: clinical study of 18 patients and long-term follow-up. *Medicine (Baltimore)* 2013;92(6):324-30.
68. Biagi F, Trotta L, Corazza GR. Whipple's disease. *Intern Emerg Med* 2012;7(3):209-13.
69. Desnues B, Ihrig M, Raoult D, Mege JL. Whipple's disease: a macrophage disease. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13(2):170-8.
70. Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Friebel J, Conrad K, Loddenkemper C, Kühl AA, Erben U, Ignatius R, Moos V, Schneider T. Role of dendritic cells in the pathogenesis of Whipple's disease. *Infect Immun* 2015;83(2):482-91.
71. Schebesch C, Kodelja V, Müller C, Hakij N, Bisson S, Orfanos CE, Goerdts S. Alternatively activated macrophages actively inhibit proliferation of peripheral blood lymphocytes and CD4+ T cells in vitro. *Immunology* 1997;92(4):478-86.
72. Lammas DA, De Heer E, Edgar JD, Novelli V, Ben-Smith A, Baretto R, Drysdale P, Binch J, MacLennan C, Kumararatne DS, Panchalingam S, Ottenhoff TH, Casanova JL, Emile JF. Heterogeneity in the granulomatous response to mycobacterial infection in patients with defined genetic mutations in the interleukin 12-dependent interferon-gamma production pathway. *Int J Exp Pathol* 2002;83(1):1-20.
73. Trotta L, Weigt K, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Oelkers G, Biagi F, Corazza GR, Allers K, Schneider T, Erben U, Moos V. Peripheral T-Cell Reactivity to Heat Shock Protein 70 and Its Cofactor GrpE from *Tropheryma whipplei* Is Reduced in Patients with Classical Whipple's Disease. *Infect Immun* 2017;85(8).

74. Moos V, Schmidt C, Geelhaar A, Kunkel D, Allers K, Schinnerling K, Loddenkemper C, Fenollar F, Moter A, Raoult D, Ignatius R, Schneider T. Impaired immune functions of monocytes and macrophages in Whipple's disease. *Gastroenterology* 2010;138(1):210-20.
75. Moos V, Schneider T. Changing paradigms in Whipple's disease and infection with *Tropheryma whippelii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011;30(10):1151-8.
76. Schinnerling K, Moos V, Geelhaar A, Allers K, Loddenkemper C, Friebel J, Conrad K, Kühl AA, Erben U, Schneider T. Regulatory T cells in patients with Whipple's disease. *J Immunol* 2011;187(8):4061-7.
77. Sieracki JC. Whipple's disease-observation on systemic involvement. I. Cytologic observations. *AMA Arch Pathol* 1958;66(4):464-7.
78. von Herbay A, Maiwald M, Ditton HJ, Otto HF. Histology of intestinal Whipple's disease revisited. A study of 48 patients. *Virchows Arch* 1996;429(6):335-43.
79. Lepidi H, Fenollar F, Gerolami R, Mege JL, Bonzi MF, Chappuis M, Sahel J, Raoult D. Whipple's disease: immunospecific and quantitative immunohistochemical study of intestinal biopsy specimens. *Hum Pathol* 2003;34(6):589-96.
80. Lepidi H, Costedoat N, Piette JC, Harlé JR, Raoult D. Immunohistological detection of *Tropheryma whippelii* (Whipple bacillus) in lymph nodes. *Am J Med* 2002;113(4):334-6.
81. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften. S2k-Leitlinie: Gastrointestinale Infektionen und Morbus Whipple. 31.01.2015, gültig nach Überprüfung am 07.08.2018 bis 30.01.2020. (https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/021-0241_S2k_Infektioese_Gastritis_2015-02-verlaengert.pdf).
82. Feurle GE, Marth T. An evaluation of antimicrobial treatment for Whipple's Disease. Tetracycline versus trimethoprim-sulfamethoxazole. *Dig Dis Sci* 1994;39(8):1642-8.
83. Feurle GE, Moos V, Schinnerling K, Geelhaar A, Allers K, Biagi F, Bläker H, Moter A, Loddenkemper C, Jansen A, Schneider T. The immune reconstitution inflammatory syndrome in whipple disease: a cohort study. *Ann Intern Med* 2010;153(11):710-7.
84. Lagier JC, Fenollar F, Lepidi H, Giorgi R, Million M, Raoult D. Treatment of classic Whipple's disease: from in vitro results to clinical outcome. *J Antimicrob Chemother* 2014;69(1):219-27.
85. Schneider T, Stallmach A, von Herbay A, Marth T, Strober W, Zeitz M. Treatment of refractory Whipple disease with interferon-gamma. *Ann Intern Med* 1998;129(11):875-7.
86. Schneider T, Moos, V. Morbus Whipple – neue Aspekte zu Pathogenese, Epidemiologie, Diagnostik und Therapie. Falk Gastro-Kolleg, 2014. (https://www.dr.falkpharma.de/uploads/tx_tocme2/FGK_3-14_Schneider_Web.pdf).

87. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften. S2k-Leitlinie: Tuberkulose im Erwachsenenalter. Stand: 30.06.2017, gültig bis 30.06.2021. (https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/020-019l_S2k_Tuberkulose_im_Erwachsenenalter_2017-11.pdf).
88. Wang S, Ernst LM, Smith BR, Tallini G, Howe JG, Crouch J, Cooper DL. Systemic *Tropheryma whippelii* infection associated with monoclonal B-cell proliferation: a *Helicobacter pylori*-type pathogenesis? *Arch Pathol Lab Med* 2003;127(12):1619-22.
89. Maibach RC, Altwegg M. Cloning and sequencing an unknown gene of *Tropheryma whippelii* and development of two LightCycler PCR assays. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;46(3):181-7.
90. Drancourt M, Carlioz A, Raoult D. *rpoB* sequence analysis of cultured *Tropheryma whippelii*. *J Clin Microbiol* 2001;39(7):2425-30.
91. Hinrikson HP, Dutly F, Nair S, Altwegg M. Detection of three different types of '*Tropheryma whippelii*' directly from clinical specimens by sequencing, single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and type-specific PCR of their 16S-23S ribosomal intergenic spacer region. *Int J Syst Bacteriol* 1999;49:1701-6.
92. Sloan LM, Rosenblatt JE, Cockerill FR 3rd. Detection of *Tropheryma whippelii* DNA in clinical specimens by LightCycler real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2005;43(7):3516-8.
93. Fenollar F, Fournier PE, Raoult D, Gérolami R, Lepidi H, Poyart C. Quantitative detection of *Tropheryma whippelii* DNA by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2002;40(3):1119-20.
94. Günther U, Moos V, Offenmüller G, Oelkers G, Heise W, Moter A, Loddenkemper C, Schneider T. Gastrointestinal diagnosis of classical Whipple disease: clinical, endoscopic, and histopathologic features in 191 patients. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(15):e714.
95. Bejarano PA, Aranda-Michel J, Fenoglio-Preiser C. Histochemical and immunohistochemical characterization of foamy histiocytes (muciphages and xanthelasma) of the rectum. *Am J Surg Pathol* 2000;24(7):1009-15.
96. Durand DV, Lecomte C, Cathébras P, Rousset H, Godeau P. Whipple disease. Clinical review of 52 cases. The SNFMI Research Group on Whipple Disease. Société Nationale Française de Médecine Interne. *Medicine (Baltimore)* 1997;76(3):170-84.
97. Keinath RD, Merrell DE, Vliestra R, Dobbins WO 3rd. Antibiotic treatment and relapse in Whipple' disease. Long-term follow-up of 88 patients. *Gastroenterology* 1985;88(6):1867-73.
98. Fleming JL, Wiesner RH, Shorter RG. Whipple's disease: clinical, biochemical, and histopathologic features and assessment of treatment in 29 patients. *Mayo Clin Proc* 1988;63(6):539-51.

99. Lagier JC, Fenollar F, Lepidi H, Raoult D. Evidence of lifetime susceptibility to *Tropheryma whipplei* in patients with Whipple's disease. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(5):1188-9.
100. Gillen CD, Coddington R, Monteith PG, Taylor RH. Extraintestinal lymphoma in association with Whipple's disease. *Gut* 1993;34(11):1627-9.
101. Gruner U, Goesch P, Donner A, Peters U. Whipple disease and non-Hodgkin lymphoma. *Z Gastroenterol* 2001;39(4):305-9.
102. Razonable RR, Pulido JS, Deziel PJ, Dev S, Salomao, Walker RC. Chorioretinitis and vitreitis due to *Tropheryma whipplei* after transplantation: case report and review. *Transpl Infect Dis* 2008;10(6):413-8.
103. Fenollar F, Lepidi H, Gerolami R, Drancourt M, Raoult D. Whipple disease associated with giardiasis. *J Infect Dis* 2003;188(6):828-34.
104. Arnold CA, Moreira RK, Lam-Himlin D, De Petris G, Montgomery E. Whipple disease a century after the initial description: increased recognition of unusual presentations, autoimmune comorbidities, and therapy effects. *Am J Surg Pathol* 2012;36(7):1066-73.
105. Moter A, Janneck M, Wolters M, Iking-Konert C, Wiessner A, Loddenkemper C, Hartleben B, Lütgehetmann M, Schmidt J, Langbehn U, Janssen S, Geelhaar-Karsch A, Schneider T, Moos V, Rohde H, Kikhney J, Wiech T. Potential Role for Urine Polymerase Chain. Reaction in the Diagnosis of Whipple's Disease. *Clin Infect Dis* 2018. doi: 10.1093/cid/ciy664. (Epub ahead of print).
106. Weigt K, Wiessner A, Moter A, Fenollar F, Raoult D, Allers K, Schneider T, Moos V. Whipple's Disease: Diagnostic Value of *rpoB* Gene PCR from Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Mol Diagn Ther* 2018. doi: 10.1007/s40291-018-0339-7. (Epub ahead of print).

Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Günther U, Moos V, Offenmüller G, Oelkers G, Heise W, Moter A, Loddenkemper C, Schneider T. Gastrointestinal diagnosis of classical Whipple disease: clinical, endoscopic, and histopathologic features in 191 patients. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(15):e714.

Offenmüller G, Hartmann R. 18-jährige Patientin mit unklarem Haarausfall - Kasuistik. *Derm* 2017;23:328-32.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Gabriel Offenmüller, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *„Wertigkeit histologischer und molekularbiologischer Untersuchungen bei Diagnose und im Therapieverlauf des Morbus Whipple“*, selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Gabriel Offenmüller hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Günther U, Moos V, Offenmüller G, Oelkers G, Heise W, Moter A, Loddenkemper C, Schneider T. Gastrointestinal diagnosis of classical Whipple disease: clinical, endoscopic, and histopathologic features in 191 patients. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(15):e714.

Beitrag im Einzelnen:

Datenerhebung, statistische Auswertung, Mitwirken beim Erstellen des Diagnoseschemas und Verfassen des Manuskriptes.

Aus meiner statistischen Auswertung sind die Tabellen 1 und 3 entstanden.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Danksagung

Mein primärer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Thomas Schneider für das interessante Thema, die Betreuung der Dissertation und das entgegen gebrachte Vertrauen.

Ganz besonders danken möchte ich Frau Dr. Verena Moos für die hervorragende Unterstützung und ständige Diskussionsbereitschaft über den gesamten Zeitraum. Ihre hochqualifizierte Mitarbeit und wertvollen Anregungen haben sehr zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei Alice Schneider, Dipl.-Biomath. (FH) vom Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, für die statistische Beratung.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und Großeltern für ihre stetige Motivation und Förderung. Ohne ihren Rückhalt und ihre Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.