



# **Doença de Whipple: Abordagem Diagnóstica**

## **Revisão**

Realizado no âmbito da conclusão do Curso de Mestrado Integrado em  
Medicina  
Clínica Universitária de Gastroenterologia

**Orientador:** Dr. Luís Correia

**Elaborado por:** João Pedro Pinto da Costa Rodrigues dos Santos

LISBOA  
2015/2016

## Índice

1. Lista de Acrónimos	3
2. Resumo	4
3. Abstract	4
4. Introdução	5
5. Manifestações Clínicas	7
6. Abordagem Diagnóstica	9
6.1. EDA – Exame Macroscópico	9
6.2. EDA Biopsia com Análise Histológica e Coloração com PAS	10
6.3. Microscopia Electrónica	11
6.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)	11
6.5. Fluorescence <i>in situ</i> hybridization (FISH)	12
6.6. Imunohistoquímica	12
6.7. Serologia e Análises Laboratoriais	12
6.8. Cultura de <i>Tropheryma whipplei</i>	13
6.9. Exames Imagiológicos	13
6.10. Diagnóstico Diferencial	14
7. Discussão	16
8. Conclusão	21
9. Referências Bibliográficas	22

## 1. Lista de Acrónimos

AAM	Alternative Activated Macrophages
CD	Cluster of Diferenciation
DC	Dendritic Cells
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DW	Doença de Whipple
EDA	Endoscopia Digestiva Alta
FICE	Fujinon Intelligent Chromo-Endoscopy
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization
HEL	Human Embrionic Lung
HLA	Human Leukocyte Antigen
IL	Interleucina
IFN- $\gamma$	Interferon Gamma
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MOE	Mioarritmia Oculofacioesquelética
MOM	Mioarritmia Oculomastigatória
NBI	Narrow-Band Imaging
PAS	Periodic Acid-Schiff
PCR	Polymerase Chain Reaction
qPCR	Quantitative real-time Polymerase Chain Reaction
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
rRNA	Ribossomal Ribonucleic Acid
SNC	Sistema Nervoso Central
TAC	Tomografia Axial Computorizada
<i>T.whipplei</i>	<i>Tropheryma whipplei</i>
VPP	Valor Preditivo Positivo
VPN	Valor Preditivo Negativo
VS	Velocidade de Sedimentação

## 2. Resumo

A Doença de Whipple (DW) é uma patologia rara causada pelo *Tropheryma whipplei*. Afecta, primordialmente, o sistema gastrointestinal podendo haver um envolvimento multissistémico. Quando se suspeita desta doença deve-se recorrer à combinação de exames complementares de diagnóstico clássicos e alternativos, sendo o exame de primeira linha a realização de EDA, seguida de análise histológica, de pelo menos 5 biópsias duodenais, com coloração de PAS, imunohistoquímica e análise por PCR. Para se confirmar o diagnóstico da doença deve haver dois testes com resultado positivo. Como objectivo deste trabalho pretendo realizar uma revisão sobre a abordagem diagnóstica na Doença de Whipple, de uma forma mais aprofundada, e destacar a importância de novos métodos diagnósticos no contexto desta patologia.

## 3. Abstract

Whipple's disease is a rare infectious disease caused by *Tropheryma whipplei*. Whipple's disease most often affects the gastrointestinal system but also can infect any organ in the body becoming a multisystemic disorder. The process of diagnosing Whipple disease typically includes a combination of classic and alternative tests. The first line test for the diagnosis of Whipple disease is made by a sequence of five biopsies of the duodenum during an upper gastrointestinal endoscopy. Histological analysis reveals PAS-positive, non-acid fast organisms within the macrophages and immunohistochemical staining methods and molecular tests, such as polymerized chain reaction (PCR) can be performed for confirmation of the diagnosis. This diagnosis can only be made if two of the tests confirm positive. The main purpose of this paper is to perform a revision of the several methods used in the diagnosis of Whipple' disease emphasizing the new diagnosis methods.

## 4. Introdução

A Doença de Whipple clássica é uma infecção crónica multissistémica rara causada pelo *Tropheryma Whipplei*<sup>1,2</sup>, descrita pela primeira vez, em 1907, por George Hoyt Whipple, um jovem anatomopatologista licenciado na Universidade Johns Hopkins<sup>3</sup>. Estima-se que a sua incidência seja inferior a 1/1.000.000<sup>1,2</sup>. Afecta maioritariamente caucasianos, preferencialmente do sexo masculino (aproximadamente 85%) com uma média de idade de cerca de 55 anos no momento do diagnóstico<sup>3,2</sup>.

Este bacilo gram-positivo, com reduzida capacidade de metabolismo energético e autonomia<sup>3</sup>, tem uma presença ubíqua no ambiente<sup>2,4,5</sup> sendo que ainda não foi definido com exactidão o seu habitat natural<sup>3,4</sup>. No entanto, vê a sua prevalência aumentar em amostras de fezes de trabalhadores em contacto com o esgoto e de pessoas em condições de higiene precárias<sup>2</sup>, sugerindo uma maior presença em águas de esgoto e no solo<sup>3</sup>.

Coloca-se a hipótese de este microorganismo ser um agente comensal do ser humano adquirido por transmissão fecal-oral<sup>2,3,4,5,6</sup>. Apesar da contaminação por este agente, o indivíduo raramente desenvolve a doença, uma vez que a prevalência do bacilo é muito superior à sua incidência<sup>1,4,7</sup>. Assim, o aparecimento da patologia parece estar relacionado com factores do hospedeiro, nomeadamente com uma resposta imunitária imatura que torna o organismo mais susceptível à infecção<sup>1,2,4,8,9,10</sup>. Suspeita-se que factores genéticos possam constituir um factor de risco, tendo sido apenas determinado até agora a relação entre os alelos de HLA DRB1\*13 e DQB1\*06 e a DW<sup>11,12</sup>.

Estes doentes apresentam um aumento da diferenciação de células mieloides em AAM<sup>13</sup>, macrófagos incapazes de degradar o microorganismo a nível intracelular<sup>3</sup> e uma deficiente produção de citocinas que contribuem para a sobrevivência e replicação intra-celular do agente *T. Whipplei*<sup>13</sup>. A presença de IL-10 e IL-16, a diminuição da produção de IL-12 e a produção reduzida ou ausente de IFN- $\gamma$  desempenham um papel fundamental na fisiopatologia da doença<sup>3,10</sup>. A IL-16 foi identificada como factor de

crescimento para o *T. Whipplei*, ao impedir a correcta maturação dos fagolisossomas e induzir a apoptose dos macrófagos<sup>9,10</sup>.

O ambiente de citocinas produzido, a presença de uma imunidade celular deficitária e a presença de células macrofágicas, incapazes de degradar o bacilo, explicam o achado anatomofisiopatológico característico da doença de Whipple: invasão de macrófagos PAS-positivos da lâmina própria da mucosa duodenal e intestinal<sup>13</sup>.

## 5. Manifestações Clínicas

A DW clássica é caracteristicamente uma doença infecciosa crónica de envolvimento multissistémico, com maior acometimento do sistema gastrointestinal, nomeadamente do intestino delgado, sistema nervoso central e sistema articular<sup>3,2,14</sup>. O quadro clínico tem um início tipicamente insidioso, com um intervalo de tempo médio entre o aparecimento do primeiro sintoma, geralmente sintomas articulares<sup>3,14</sup>, e a confirmação do diagnóstico de cerca de sete anos e meio<sup>15</sup>.

As manifestações clínicas mais frequentes são diarreia, perda de peso e artralgia<sup>3,15,12</sup>. A artralgia/artrite é habitualmente migratória, intermitente, com afecção oligo ou poliarticular, ocorrendo principalmente nas articulações periféricas (joelhos, pulsos e tornozelos) e com episódios agudos de duração de horas a dias<sup>3,14</sup>. A diarreia é frequentemente do tipo esteatorreia com fezes volumosas<sup>3</sup>. Este quadro clínico, de apresentação típica de síndrome de má absorção, podendo originar estados de caquexia se não for tratado<sup>3</sup>, é acompanhado de desconforto abdominal, linfadenopatias, febre e hiperpigmentação da pele, embora estes sejam menos comuns<sup>3,12</sup>.

Como referido anteriormente, a DW clássica apresenta frequentemente um envolvimento sistémico, podendo ainda envolver o sistema cardíaco (na forma de endocardite, miocardite ou pericardite), o sistema oftalmológico (uveíte), e o aparelho respiratório inferior<sup>3,14,16</sup>.

O SNC é atingido pela infecção em cerca de 45% dos doentes com DW<sup>17</sup> e trata-se da afecção mais grave desta patologia que pode cursar com alterações neurológicas irreversíveis, resultantes de um eventual atraso no diagnóstico<sup>3</sup>. As alterações neurológicas mais comuns são: alterações cognitivas, cefaleias, oftalmoplegia supranuclear, alterações do estado de consciência, manifestações hipotalâmicas, mioclonias, ataxia, MOM e MOE<sup>2,17</sup>. A presença de MOM e MOE, ou a associação destes com oftalmoplegia supranuclear progressiva é considerada patognomónica de DW<sup>2,18</sup>. Outras manifestações incluem: apatia, depressão, ansiedade, hipomania, alterações da personalidade, psicose, convulsões, amenorreia, hemiparésia,

envolvimento dos pares cranianos, neuropatia periférica, alterações extrapiramidais <sup>12</sup>.

Contudo, existem formas atípicas de infecção por este agente que se afastam do modelo clássico de DW <sup>2,14</sup>. Apesar da sua reduzida frequência, relativamente à DW clássica, o *T.whipplei* pode ser responsável por uma DW localizada (ex: endocardite, DW neurológica isolada, uveíte, pneumonia), por uma infecção aguda auto-limitada e pode ainda surgir associada a casos de imunossupressão <sup>2,14,19,20</sup>. A endocardite infecciosa com hemoculturas negativas é a entidade clínica mais frequente dentro do espectro de patologias resultantes do envolvimento cardíaco da DW <sup>14</sup>.

## 6. Abordagem diagnóstica

Em caso de suspeita clínica de DW o procedimento imediato de diagnóstico é a EDA, procedendo-se à colheita de pelo menos 5 biópsias ao longo da mucosa duodenal proximal, distal e do jejuno proximal, seguida de análise histológica com coloração de PAS, análise imunohistoquímica e teste de PCR<sup>3,2,15,12</sup>. O diagnóstico é confirmado na presença de dois testes positivos<sup>15,12</sup>.

Nos casos atípicos, inconclusivos ou em situações de forte suspeita clínica com resultados dos testes anteriores negativos, deve-se proceder à colectânea de amostras dos tecidos afectados e posterior análise com coloração PAS, teste de PCR e imunohistoquímica<sup>15</sup>. Dois testes positivos, ou um teste positivo de cada amostra (intestinal e tecido/fluido extra-intestinal) confirma o diagnóstico de DW<sup>15</sup>.

No entanto, a combinação de exames complementares de diagnóstico clássicos e alternativos deve ser colocada em prática, com o desígnio final de chegar ao diagnóstico de DW<sup>2</sup>.

### 6.1. EDA – Exame Macroscópico

Actualmente, existe um conjunto de técnicas endoscópicas que permitem ao clínico aperfeiçoar a procura de sinais clínicos relevantes e característicos de certas e determinadas patologias. Exemplos dessas técnicas são a cromoendoscopia (NBI,FICE) e a endocitoscopia (endomicroscopia confocal), que foram realizadas como método auxiliar diagnóstico para a pesquisa de DW<sup>21,22,23</sup>.

Na mucosa duodenal destes doentes, em caso de doença avançada<sup>2</sup>, é frequente observar: uma coloração pálida-amarelada de limites mal definidos, vilosidades aumentadas e achatadas, vasos linfáticos ectasiados<sup>2,21,24</sup>, espessamento das pregas da mucosa, exsudados esbranquiçados confluentes alternando com erosões e áreas de friabilidade da mucosa<sup>3</sup>. Outras características macroscópicas visualizadas no duodeno consistem na presença de edema da mucosa, sinais de duodenite moderada, erosiva ou hemorrágica, e outros achados inespecíficos como atrofia parcial das

vilosidades, alterações polipoides e pequenas ulcerações aftosas <sup>15</sup>. Os achados endoscópicos do intestino delgado incluem edema, descoloração castanha da mucosa e hemorragias subepiteliais que parecem desaparecer distalmente de forma contínua <sup>22</sup>, tendo sido descrito num paciente uma mucosa intestinal com aspecto de “sal e pimenta” <sup>25</sup>. Podem ocorrer situações em que apenas a mucosa intestinal esteja comprometida, sendo a mucosa duodenal inalterada <sup>25</sup>.

## 6.2. EDA - Biópsia com análise histológica e coloração com PAS

Actualmente, o exame histológico das biópsias duodenais é o meio complementar diagnóstico da DW mais fidedigno e amplamente utilizado <sup>3,2,15</sup>. A presença de macrófagos espumosos na lâmina própria, que contêm uma grande quantidade de inclusões PAS positivas, diastase resistentes é um achado histológico clássico da DW <sup>2,13,14,15,24</sup>. A coloração intensa dos macrófagos com PAS indica a presença de *T. whipplei* no tecido, podendo também observar-se vasos linfáticos dilatados <sup>2,14</sup>.

Um resultado de análise negativo não exclui, por si só, o diagnóstico de DW <sup>2,3,15,26</sup>. Este pode ser negativo nas situações em que a patologia está confinada apenas à submucosa <sup>3,15</sup>, quando o íleo terminal é a única porção anatómica intestinal acometida <sup>15</sup>, ou nalgumas fases de evolução da doença, como por exemplo nas situações de doença inicial ou após antibioterapia <sup>3</sup>. Pode ainda ser negativo nas situações em que não estão presentes manifestações gastrointestinais <sup>2,14,15</sup>. Nos casos de DW localizada, devem-se obter amostras dos locais clinicamente afectados, podendo ser detectados macrófagos com inclusões PAS positivas em biópsias da pele, tecido sinovial, LCR, cérebro, nódulos linfáticos, tecido valvular cardíaco, humor aquoso ocular, medula óssea, entre outros <sup>2,3,15,27</sup>. A coloração de PAS também pode ser utilizada como meio para avaliar o sucesso da terapêutica <sup>14,15</sup>.

### 6.3. Microscopia electrónica

A Microscopia Electrónica permite a detecção do *T. whipplei* através da observação da sua parede celular trilaminar característica<sup>24</sup>. Apesar de ser considerado o exame “gold-standard” para identificação do bacilo, não é um método utilizado por rotina, uma vez que se trata de uma técnica dispendiosa, exigente e implica procedimentos laboratoriais complexos nem sempre acessíveis<sup>3,24</sup>. É usado apenas para esclarecer casos em que os resultados dos métodos diagnósticos clássicos são duvidosos<sup>3,24</sup>.

### 6.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Com a sequenciação do genoma do *T. whipplei* foi possível recorrer a este método para identificar o genoma bacteriano presente em tecidos e fluidos orgânicos afectados<sup>3,24</sup>. Deve ser utilizado em situações atípicas/DW localizada, quando o diagnóstico não é confirmado pela histologia<sup>3</sup>, e/ou como controlo terapêutico, devendo o teste tornar-se negativo durante a antibioterapia<sup>2,3,12,15,28</sup>. Neste último caso, o teste de PCR poderá ser positivo devido a remanescentes de bactéria morta após esquema terapêutico bem sucedido<sup>14</sup>, sendo apenas alvo de suspeita se o teste for persistentemente positivo, indicativo de resistência antibiótica<sup>2</sup>.

Como com todos os testes de PCR, é absolutamente crítico evitar a contaminação da amostra de DNA e incluir um controlo positivo e negativo para validar o teste<sup>24,26</sup>. Mais recentemente, o surgimento do teste qPCR, que beneficia da identificação e quantificação por fluorescência e de tempos de detecção mais curtos, permitiu diminuir o risco de contaminação da amostra, diminuindo a probabilidade de falsos positivos<sup>14,24</sup>. Até à data, para a realização dos testes de PCR são utilizadas amostras de biopsias frescas, cuja sensibilidade parece ser comparável ao do uso de amostras fixadas em formalina e embebidas em parafina, utilizadas em alguns estudos<sup>14,15,28</sup>.

Perante o diagnóstico confirmado de DW clássica, a colonização assintomática do SNC é comum<sup>2,12</sup>. Neste caso é necessário realizar o teste de PCR de uma amostra de LCR antes do início do esquema antibiótico<sup>12</sup>. A

PCR do LCR é um teste muito específico, mas carece de sensibilidade sendo incapaz de excluir o diagnóstico de DW localizada a este domínio <sup>26</sup>.

Todavia, existem limitações para o uso da PCR no diagnóstico da DW <sup>2,3</sup>. Uma vez que existem portadores assintomáticos, este teste pode ser positivo na ausência de DW <sup>2,12</sup>. Deste modo, uma PCR positiva de amostras gastrointestinais tem de ser categoricamente confirmada por histologia ou por uma segunda PCR de amostras estéreis (ex: LCR ou líquido sinovial), de modo a não falhar um importante diagnóstico diferencial <sup>2</sup>. Para além disso, como se trata de um método sujeito a resultados falsos-positivos, devido ao risco de contaminação, deve ser limitado a laboratórios credenciados <sup>12</sup>. O risco de resultados falsos-negativos é atribuído à presença de inibidores ou baixa carga bacteriana na amostra colhida <sup>26</sup>.

### 6.5. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH)

A técnica de FISH é um procedimento diagnóstico útil que combina as vantagens de métodos moleculares e histopatológicos, sendo utilizada na identificação directa do RNA da bactéria no seu contexto histológico <sup>2,30</sup>. A natureza deste método complementar de diagnóstico não só permite diferenciar entre contaminação de uma verdadeira infecção, como também permite identificar bactérias fastidiosas ou não cultiváveis, podendo ser útil na detecção de endocardite com hemoculturas negativas causada pelo *T. whipplei* <sup>30</sup>. No entanto, a sensibilidade da técnica de FISH é baixa, apenas está disponível em laboratórios especializados e não se trata de um método de rotina para a deteção de *T. whipplei* <sup>2,30</sup>.

### 6.6. Imunohistoquímica

Método com boa sensibilidade que permite a identificação do *T. whipplei* nos tecidos e fluidos orgânicos PAS negativos e em monócitos circulantes do sangue periférico, a partir de anticorpos específicos contra a bactéria <sup>2,3,14</sup>. Dado que a coloração de PAS de biópsias de SNC pode ser inespecífica e mal interpretada como inclusões de *T. hipplei*, a imunohistoquímica adicional pode ser uma avaliação importante <sup>2,3</sup>.

## 6.7. Serologia e Análises Laboratoriais

Relativamente à serologia, é um método pouco sensível e específico <sup>2,3,17</sup>. Quanto às análises laboratoriais, estas não são específicas podendo variar entre trombocitose, linfocitopenia, anemia microcítica hipocrómica ou normocítica, eosinofilia, VS e PCR elevadas, ferropenia, hipoalbuminémia, défice de vitaminas, hipercolesterolemia, alterações hidroelectrolíticas e das provas hepáticas <sup>3,14,17</sup>. Cerca de 91% dos doentes com DW clássica com hipoalbuminémia apresentam valores laboratoriais de hemoglobina baixos <sup>12</sup>. No caso do LCR, este pode apresentar características normais ou pleocitose e aumento das proteínas, sem hipoglicorráquia <sup>3,14,17</sup>. Em determinados casos é possível verificar em alguns doentes células PAS positivas no sobrenadante da centrifugação do líquido <sup>3,14,17</sup>.

## 6.8. Cultura de *Tropheryma whipplei*

A cultura de *Tropheryma whipplei* é complexa e temporalmente muito prolongada <sup>30</sup>. Pode ser realizada em fibroblastos humanos, em fibroblastos da linha (HEL) e em monócitos do sangue periférico<sup>30</sup>. O crescimento da *Tropheryma whipplei* demora entre várias semanas a alguns meses e por essa razão só é realizada em centros muito especializados <sup>30</sup>.

Embora as dificuldades de cultura da *T. whipplei* não recomendem o seu uso de rotina, a cultura da *T. whipplei* pode ser útil para estudo da susceptibilidade antibiótica em casos seleccionados em que não há melhoria do quadro clínico após o início da terapêutica <sup>2,31</sup>.

## 6.9. Exames Imagiológicos

Exames imagiológicos, e em particular o RX contrastado do intestino delgado, podem mostrar alterações inespecíficas da morfologia do intestino, nomeadamente espessamento das pregas do duodeno e do jejunum, comuns nas síndromas de má absorção <sup>3</sup>, ou hepatoesplenomegália <sup>14</sup>.

A TAC e RMN cerebrais, sendo a segunda superior à primeira relativamente à capacidade de detectar lesões de menores dimensões, podem apresentar-se normais ou revelar alterações inespecíficas<sup>3</sup>. Foram descritas lesões ocupando espaço com captação de contraste, padrão de atrofia cerebral, lesões da substância branca, hidrocefalia ou ventriculomegalia<sup>3,18</sup>.

### 6.10. Diagnóstico Diferencial

Tendo em conta a clínica pouco específica e as características endoscópicas e imagiológicas da DW é possível auferir que o diagnóstico diferencial desta doença é extenso<sup>3,12</sup>.

Apesar de característico da DW, a presença de inclusões PAS positivas em macrófagos observadas na lâmina própria não é patognomónico<sup>2,3,28</sup>. Este achado pode surgir nos casos de infecção por *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium genavense*, *Rhodococcus equi*, *Bacillus cereus*, *Corynebacterium*, *Histoplasma sp.* ou por outros fungos<sup>2,3</sup>. A coloração de Ziehl-Neelsen é útil para excluir as infecções provocadas por bacilos ácido-álcool resistentes, sendo negativa no caso do *T. whipplei*<sup>3,12,17</sup>. O método de coloração de Warthin-Starry também revelou ser útil na identificação do *Tropheryma Whipplei*<sup>28,33</sup>.

Patologia inflamatória intestinal, doença celíaca ou a maioria das vasculites com afeção gastrointestinal podem-se assemelhar à DW, verificando-se alterações a nível da função gastrointestinal e na integridade da própria mucosa<sup>2,14</sup>. O aparecimento de granulomas tipo sarcoidose é pouco comum na DW, mas pode surgir em biópsias do estômago, fígado, intestino delgado e nódulos linfáticos. Nestas situações trata-se de um diagnóstico diferencial de sarcoidose<sup>3,12</sup>. Tanto na sarcoidose como na vasculite está presente um quadro clínico de: diarreia crónica, perda de peso, artralguas migratórias, adenopatias e sintomas oftalmológicos<sup>14</sup>. A presença de adenopatias retroperitoneais e mesentéricas, febre e sintomas gastrointestinais podem-se associar a linfomas malignos<sup>14</sup>. Outra patologia com o qual a DW faz um diagnóstico diferencial é a doença reumática inflamatória (mais

concretamente a artrite reumatóide seronegativa) pela presença de poliartrite seronegativa crónica destrutiva <sup>12,14</sup>. A doença de Crohn em associação com a artrite reumatóide tal como a enteropatia tropical, tendo em conta os seus sintomas gastrointestinais, não permitem fazer uma distinção da DW, sendo assim, igualmente, necessário realizar um diagnóstico diferencial <sup>12</sup>. A doença de Addison também constitui um importante diagnóstico diferencial <sup>24</sup>.

## 7. Discussão

O grande envolvimento multissistémico, a ausência de características clínicas específicas, a longa evolução da patologia e a ampla existência de múltiplos diagnósticos diferenciais, tornam o diagnóstico da DW difícil e tardio<sup>2,3,12</sup>. No entanto, foram descritos factores de risco, frequentemente associados à DW, tais como a idade superior a 50 anos, o sexo masculino e factores genéticos já referidos anteriormente<sup>12</sup>. Apesar de inespecífico, um quadro clínico arrastado no tempo de artralgia/artrite associado a sintomas gastrointestinais não específicos, nomeadamente diarreia e perda de peso, devem levar o clínico a suspeitar e considerar a DW como uma hipótese diagnóstica<sup>12,15</sup>, sendo que aproximadamente 15% dos pacientes com esta patologia não apresentam sinais e sintomas clássicos<sup>24</sup>. A artropatia normalmente precede o diagnóstico por um intervalo de tempo considerável, sendo frequentemente o primeiro sintoma a surgir<sup>19,20,32</sup>. Nestes casos, o uso de terapia imunossupressora por parte do clínico pode levar à exacerbação do quadro clínico e desenvolvimento da doença, devendo o diagnóstico de DW ser considerado<sup>19,20,33</sup>. Em suma, a elaboração de uma história clínica detalhada é fundamental para obtenção do diagnóstico de DW, apenas confirmado com métodos complementares de diagnóstico específicos e dirigidos.

A EDA é utilizada como ferramenta de diagnóstico de primeira linha, uma vez que a região duodenal e restante intestino delgado são as regiões mais frequentemente afectadas por esta patologia, permitindo ainda a obtenção de biópsias para análise<sup>3,15,34</sup>. Macroscopicamente, a apresentação característica da mucosa intestinal da DW, descrita anteriormente, leva a uma forte suspeita deste diagnóstico. Com a utilização de exames endoscópicos de última geração, tais como a endocitoscopia e a cromoendoscopia, a observação da mucosa intestinal torna-se mais detalhada e minuciosa<sup>21,22,23</sup>. Alguns autores prevêm ainda a possibilidade da endocitoscopia poder auxiliar o clínico na obtenção do diagnóstico de DW sem o recurso a realização de biópsias<sup>21</sup>. A endoscopia por cápsula constitui um método menos invasivo e melhor aceite pelos doentes pacientes<sup>25,34,35</sup>, podendo ainda ser utilizada para monitorizar a regressão dos achados

macroscópicos após início de antibioterapia <sup>25</sup> e para avaliar a evolução das lesões nas situações de suspeita da doença <sup>34</sup>. Embora muito raramente, as alterações da mucosa na DW podem estar presentes apenas na região do íleo <sup>15,22</sup>, tornando-se difícil, deste modo, a obtenção de imagens pelo método endoscópico clássico, sendo vantajoso a utilização da endoscopia por cápsula <sup>22,26</sup>.

No entanto, em cerca de 30% dos casos, segundo alguns autores <sup>37</sup>, as alterações macroscópicas visíveis poderão não estar presentes <sup>15,34</sup>. Segundo os resultados de um estudo de coorte observacional, apenas 26% dos pacientes, de uma amostra com um total de 191 pacientes com DW, revelaram alterações macroscópicas duodenais conspícuas <sup>15</sup>. Deste modo, a colheita de biopsias duodenais e intestinais com respectivo exame histológico torna-se imprescindível pela sua capacidade de diagnosticar a DW em pacientes sem alterações macroscópicas evidentes. Segundo um estudo, a utilização da colonoscopia com ileoscopia pode auxiliar o clínico no diagnóstico de DW <sup>22</sup>, pela possibilidade de realização de biopsia, pelo fácil acesso ao íleo, e pela capacidade de cobrir os casos de DW em que apenas esta região está afectada, embora estas situações sejam muito raras.

A ferramenta diagnóstica mais consensual e fidedigna para confirmação diagnóstica de DW clássica parece ser a análise histológica com coloração PAS de biopsias duodenais com consequente realização de teste de PCR e imunohistoquímica <sup>2,3,12,15,32</sup>. Esta associação de exames complementares de diagnóstico, segundo o mesmo estudo de coorte observacional, permite estabelecer o diagnóstico em pacientes com clínica gastrointestinal, na grande maioria dos casos <sup>15</sup>. Em caso de suspeita de DW clássica sem manifestações clínicas gastrointestinais, o resultado da coloração histológica de uma amostra de biopsia duodenal com PAS, do teste de PCR e do teste imunohistoquímico poderão ser positivos, no entanto o seu VPN é baixo no caso dos testes serem negativos <sup>15</sup>, sendo por isso necessário analisar directamente os tecidos com suspeita de infecção <sup>15</sup>(figura 1). A grande limitação deste estudo passa pela incapacidade de garantir que não falhou a detecção de casos de infecção assintomática de tecidos extra-intestinais,

como o próprio indica, uma vez que foram analisados na grande maioria biopsias gastro-intestinais <sup>15</sup>.

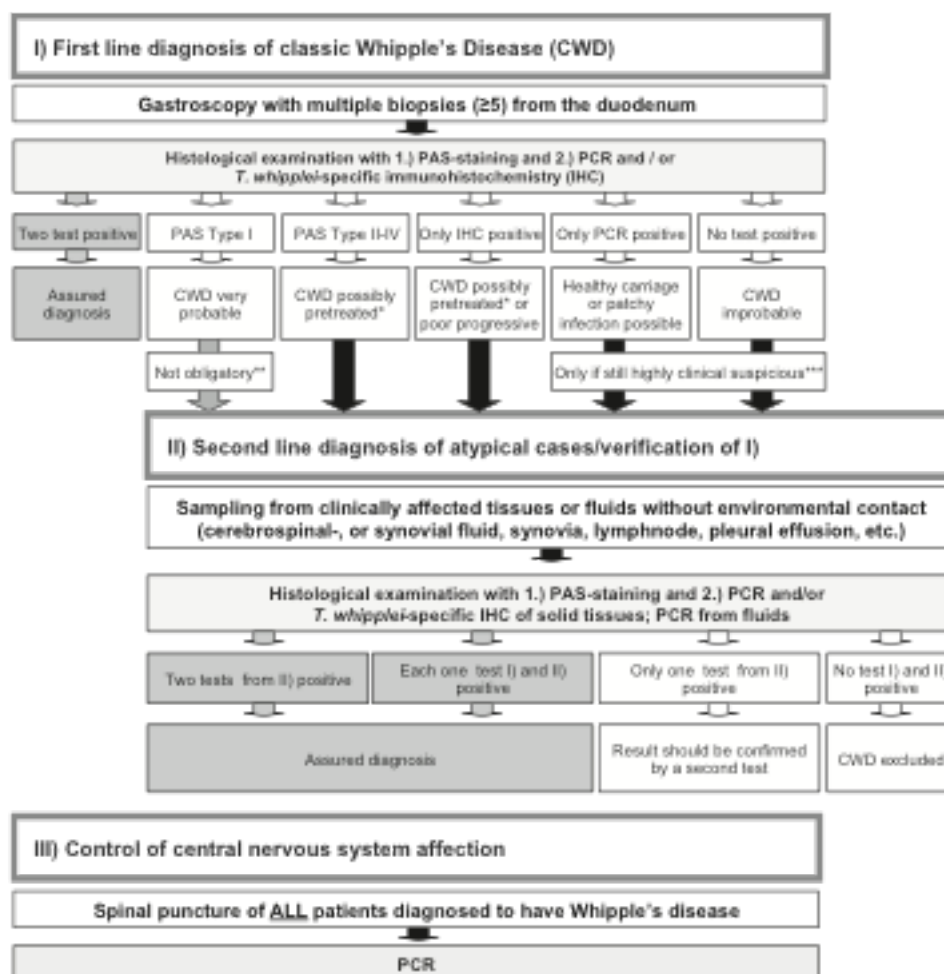


Figura 1 – Esquema de três etapas para o diagnóstico de DW clássica. O primeiro passo deve ser realizado perante todos os casos de suspeita de DW. O segundo passo deve ser realizado em casos atípicos onde o diagnóstico do intestino delgado é inconclusivo. O terceiro passo deve ser realizado em todos os pacientes com diagnóstico confirmado de DW<sup>15</sup>.

No caso de apenas um dos resultados ser positivo, o diagnóstico não deve ser excluído em definitivo, pois esta patologia revela-se fatal se não for estabelecido um regime terapêutico adequado <sup>12,36</sup>. Um estudo de caso descreveu um paciente com biopsias duodenais PAS negativas, mas com um resultado do teste de PCR a uma amostra de líquido sinovial positivo, em 3 amostras, em que o diagnóstico de DW foi descurado, levando à morte do doente <sup>36</sup>. Outro estudo refere que quando apenas um de dois resultados de

PCR de uma amostra estéril, como o caso do LCR e do humor aquoso, for positivo, é preferível colocar a hipótese de infecção localizada do que optar pela sua exclusão <sup>26</sup>.

Foi descrito o valor diagnóstico da qPCR específica para o *T.whipplei*, como técnica de rastreio não invasivo de primeira linha, em amostras de saliva e fezes, em pacientes com suspeita de DW clássica <sup>26</sup>. Em 2012, foi proposto, por alguns autores que participaram no estudo anterior, um novo algoritmo de diagnóstico baseados nestes testes de triagem <sup>14,27</sup> (figura 2).

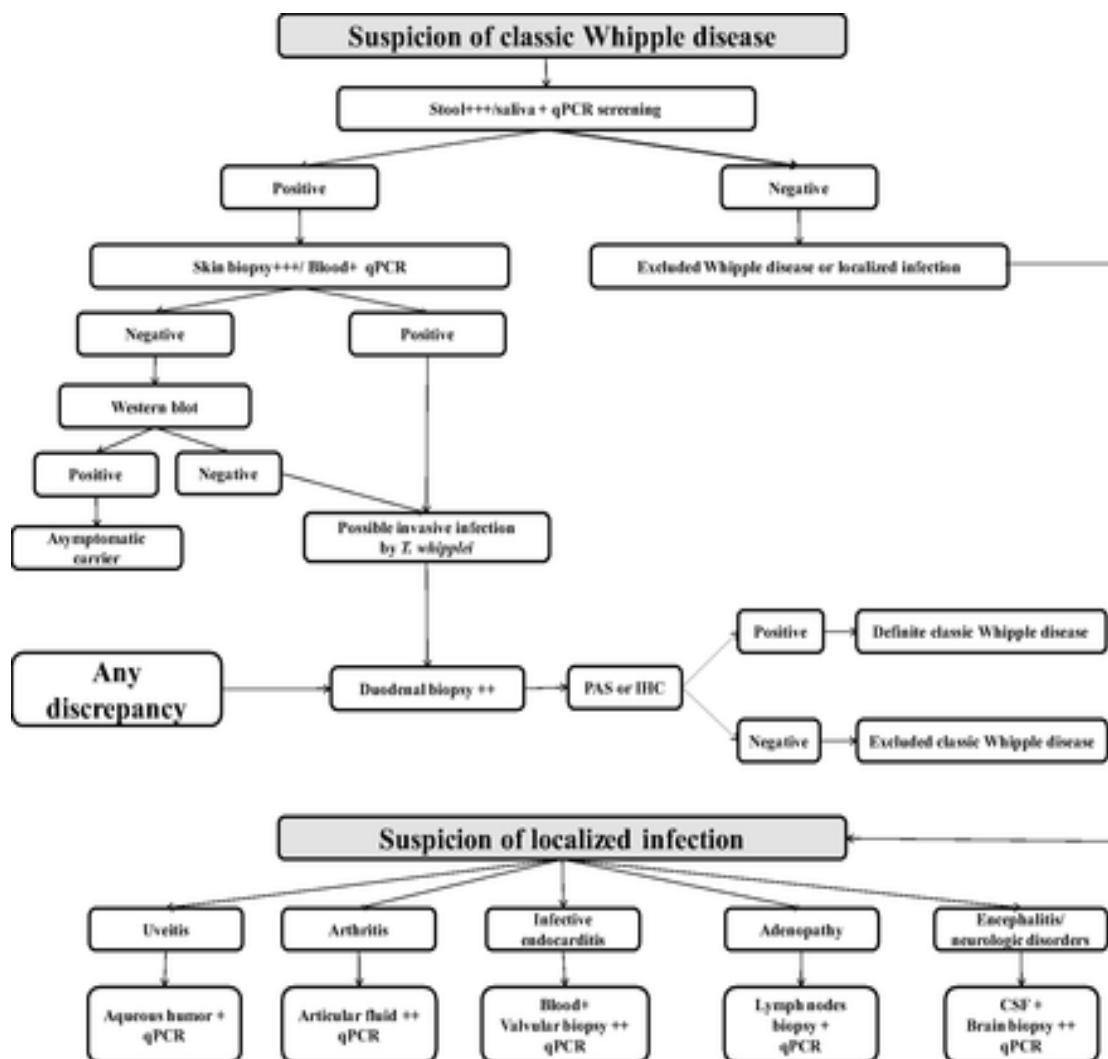


Figura 2- Técnica de triagem não invasiva em doentes com suspeita de DW clássica. Quando a qPCR é positiva nas fezes ou na saliva, o diagnóstico deve ser completado com qPCR em amostras mais invasivas, como o sangue e a pele. No caso de estes resultados serem ambos negativos o teste serológico com Western-Blott permite diferenciar entre

estado de portador assintomático e doentes com possível infecção. Biopsias duodenais devem ser usadas para completar o diagnóstico usando análise imunohistoquímica ou coloração PAS. Quando a qPCR é negativa nas fezes e na saliva, ou diagnóstico de DW é excluído, ou a infecção é localizada a outro domínio, dependendo da clínica<sup>27</sup>.

Porém, a existência, com prevalência variável, de portadores assintomáticos com resultados de PCR específica para *T.whipplei* positivos de amostras de saliva, de biopsias duodenais e de fezes, e a positividade deste teste perante infecções auto-limitadas como a gastroenterite aguda limitam a aplicação generalizada deste teste<sup>15</sup>. Apesar destas limitações, trata-se de um excelente método de triagem não invasivo de primeira linha, com VPP e VPN altos<sup>26</sup>, capaz de identificar indivíduos com carga bacteriana elevada e, portanto, com risco de vir a desenvolver DW.

## 8. Conclusão

Com a análise dos artigos incluídos neste trabalho e observação da evidência facultada pelos mesmos permito-me concluir que a realização de uma EDA com realização de biopsias da mucosa gastrointestinal, preferencialmente da mucosa duodenal, com consequente análise histológica, análise imunohistoquímica e análise por técnica de PCR constitui a melhor abordagem diagnóstica na DW. A porção do íleo não deve ser descorada, uma vez que a DW pode acometer apenas esta região, embora muito raramente, numa fase inicial da doença. Outros exames complementares de diagnóstico apenas orientam o clínico para um possível diagnóstico de DW, não tendo capacidade de o confirmar.

A introdução de novas e mais desenvolvidas técnicas endoscópicas, como a endocitoscopia e a cromoendoscopia, poderão contribuir decisivamente para o aprimoramento da abordagem diagnóstica nestes pacientes, podendo diagnosticar sem o recurso a realização de biopsias, no futuro. São necessários mais estudos que avaliem o impacto destes métodos na abordagem diagnóstica, nomeadamente estudos relacionais entre a endocitoscopia/cromoendoscopia e o diagnóstico de DW. Para além disso, era pertinente a realização de um estudo que analisasse a verdadeira prevalência do *T.whipplei* na população portuguesa, nomeadamente em amostras de saliva e de fezes, e eventualmente em biopsias de pele.

Em suma, considero relevante o contínuo desenvolvimento de estudos sobre esta temática, não só pelo avanço relativamente recente dos meios tecnológicos disponíveis, como também pelo objectivo de desenvolver métodos de diagnóstico cada vez menos invasivos, mais sensíveis e específicos na detecção desta patologia, cujo atraso no diagnóstico e tratamento pode acarretar consequências irreversíveis ou levar mesmo à morte do indivíduo.

## 9. Referências bibliográficas

1. Grasman M., Petterson A., Catsburg A., Koek A., Van Bodegraven A. & Savelkoul P. (2015). Tropheryma whipplei, a potential commensal detected in individuals undergoing routine colonoscopy. *J Clin Microbiol.* 53:3919-3921.
2. Moos V. & Schneider, T. (2011). Changing paradigms in Whipple's disease and infection with Tropheryma whipplei. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 30:1151-1158.
3. Oliveira L., Gorjão R. & Ramos de Deus J. (2010). Doença de Whipple. *J Port Gastreenterol.* 17:69-77.
4. Carneiro A., Lima P., Barbosa I. & Chaves F. (2004). Doença de Whipple: Um Desafio Diagnóstico. *Acta Med Port.* 17: 481-486.
5. Keita A. *et al.* (2015). High Prevalence of Tropheryma whipplei in Lao Kindergarten Children, *PLoS Negl Trop Dis.* 9(2): e0003538.
6. Aho V., Pereira P., Haahtela T., Pawankar R., Auvinen P. & Koskinen K. (2015). The microbiome of the human lower airways: a next generation sequencing perspective. *World Allergy Organ J.* 8(1):23.
7. Fenollar F., Lagier J. & Raoult D. (2014). Tropheryma whipplei and Whipple's disease. *J. Infect.* 69(2):103-12.
8. Schinnerling K. *et al.* (2015). Role of dendritic cells in the pathogenesis of Whipple's disease. *Infect Immun.* 83:482-491.
9. Biagi F. *et al.* (2015). -295 T-to-C promoter region IL-16 gene polymorphism is associated with Whipple's disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 34:1919-1921.

10. Moos V. & Schneider T. (2012). The role of T cells in the pathogenesis of classical Whipple's disease. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 10(3), 253-255.
11. Martinetti M., Biagi F, Badulli C., (2009). The HLA alleles DRB1\*13 E DQB1\*06 are associated to Whipple's disease. *Gastroenterology.* 136:2289-2294.
12. Schneider T. & Moos V. (2015). Whipple's disease. *BNJ Best Practice.* 1-31.
13. Moos V. *et al.* (2010). Impaired Immune Functions of Monocytes and Macrophages in Whipple's Disease. *Gastroenterology.* 138 (1): 210-220.
14. Fevereiro M. (2013). Doença de Whipple um Diagnóstico difícil (Tese de Mestrado em Medicina, publicada). Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, Covilhã.
15. Gunther U. *et al.* (2015). Gastrointestinal Diagnosis of Classical Whipple Disease: Clinical, Endoscopic, and Histopathologic Features in 191 Patients. *Medicine Journal.* 94 (15): 1-8.
16. Greub G. (2010). A New Piece Added to the Whipple Puzzle: Tropheryma whipplei Primary Infection with Bacteremia and Cough. *Clinical Infectious Diseases.* 51 (5): 522-524.
17. Abreu P., Azevedo E., Lobo L., Moura C. & Pontes C. (2005). Doença de Whipplei e Sistema Nervoso Central. *Acta Med Port.* 18: 199-208.
18. Kundu A., Sen P. & Khurana S. (2015). Isolated CNS Whipple's disease: a diagnostic dilemma. *BMJ Case Reports.* 1-2.
19. Marth T. & Schneider T. (s.d.) Whipple's Disease. In Bennett J., Dolin R. & Blaser M., *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, eight edition.* 212: 2417-2424. Philadelphia: Elsevier

20. Silva G. & Neto J. (2014). Doença de Whipple manifestada como poliartralgia de difícil diagnóstico: relato de caso e revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 203: 1-4.
21. Watanabe D. *et tal.* (2013). Endocytoscopy provides an in vivo virtual histopathological diagnosis of Whipple's disease. *Endoscopy – Cases and Techniques Library*. 45: E143-E144.
22. Silva D., Fernandes V., Alves M.C. & Freitas J. (2013). Diagnostic ileoscopy assisting in the diagnosis of Whipple's disease. *Endoscopy – Cases and Techniques Library*. 45: E59-E60.
23. Neumann H., Monkemuller K., Neurath M.F. & Vieth M. (2012). Advanced endoscopic imaging using narrow-band imaging for diagnosis of Whipple's disease. *Endocopy – unusual cases and technical notes*. 44: E101.
24. Fenollar F., Puéchal X. & Raoult D. (2007). Whipple's Disease. *The New England Journal of Medicine*. 356: 55-66.
25. Mateescu R. B., Bengus A., Marinescu M., Staniceanu F., Micu G. & Negreanu L. (2012). First Pillcam Cólón 2 capsule images of Whipple's disease: Case report and review of the literature. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*. 4 (12): 575-578.
26. Fenollar F., Laouira S., Lepidi H., Rolain J. & Raoult D. (2008). Value of Tropheryma Whipplei Quantitative Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Whiplle Disease: Usefulness of Saliva and Stool Specimens for First-Line Screening. *Oxford Journals Clinical Infections Diseases*. 47 (5): 659-665.
27. Edourds S., Fenollar F. & Raoult D. (2012). The Rise of Tropheryma Whipplei: a 12-Year Retrospective of PCR Diagnoses in our Reference Center. *Journal of Clinical Microbiology*. 50 (12):3917-3920.

28. Yajima N. *et al.* (2013). Whipple Disease Diagnosed with PCR Using Formalin-fixed Paraffin-embedded Specimens of the Intestinal Mucosa. *Internal Medicine*. 52: 219-222.
29. Mallmann C. *et al.* (2009). Fluorescence *in situ* hybridization to improve the diagnosis of endocarditis: a pilot study. *Clin Microbiol Infect*. 16: 767-773.
30. Scola B., Fenollar F., Fournier P., Altwegg M., Mallet M. & Raoult D. (2001). Description of *Tropheryma whipplei* gen. nov., sp. nov., the Whipple's disease bacillus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 51: 1471–1479.
31. Moos V. & Fredricks D. (s.d.) *Tropheryma whipplei* (Whipple's Disease). *Antimicrobe*.
32. Gruber J. *et al.* (2015). *Tropheryma Whipplei* Bivalvular Endocarditis and Polyarthralgia: a Case Report. *Journal of Medical Case Reports*. 9: 259.
33. Bures J. *et al.* (2013). Whipple's Disease: Our Own Experience and Review of the Literature. *Gastroenterology Research and Practice*. 1-10.
34. Roulet J., Hassan M. & Cummings L. (2013). Capsule Endoscopy in Whipple's Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology - Image of the Month*. 11: 26.
35. Sánchez A. *et al.* (2015). Atypical diagnosis by endoscopic capsule: Whipple's disease. *Rev Esp Enferm Dig*.
36. Müller S., Vogt P., Altwegg M. & Seebach J. (2005). Deadly carousel or difficult interpretation of new diagnostic tools for Whipple's disease: case report and review of the literature. *Infection*. 33: 39-42.