



Infections ostéo-articulaires septiques à culture négative chez l'enfant : avez-vous pensé à *Kingella kingae* ?

K. kingae fait partie de la flore normale des voies respiratoires supérieures. Depuis quelques années, ce germe est reconnu responsable d'infections invasives chez l'enfant, en particulier d'atteintes ostéo-articulaires. La pathogenèse de *K. kingae* a été récemment liée à la production d'une puissante cytotoxine nommée RTX.

Nous rapportons ici la mise en place d'une nouvelle PCR en temps réel au Laboratoire de bactériologie des Hôpitaux universitaires de Genève (HUG), permettant un diagnostic rapide et fiable de l'infection à *K. kingae* en utilisant comme cible deux gènes codant pour la toxine RTX. L'impact clinique de cette nouvelle méthode de diagnostic est mis en évidence par la présentation de trois cas d'infections ostéo-articulaires dans une population pédiatrique.

Rev Med Suisse 2009 ; 5 : 2235-9

A. Cherkaoui
D. Ceroni
S. Ferey
S. Emonet
J. Schrenzel

Pediatric osteo-articular infections with negative culture results : what about *Kingella kingae* ?

Kingella kingae is an emerging pathogen that is recognized as a causative agent of septic arthritis and osteomyelitis, primarily in infants and children. The bacterium is best detected by rapid inoculation in blood culture systems or by real-time PCR assays. Pathogenesis of the agent was linked recently to the production of a potent cytotoxin, known as RTX, which is toxic to a variety of human cell types. The locus encoding the RTX toxin is thought to be a putative virulence factor, and is, apparently, essential for inducing cytotoxic effects on respiratory epithelial, synovial and macrophage-like cells. Herein, we describe a novel real-time PCR assay that targets the RTX toxin gene. The assay exhibited a sensitivity of 30 c.f.u., which is 10-fold more sensitive than a previously published semi-nested broad-range 16S rRNA gene PCR, and showed no cross-reactivity with several related species and common osteoarticular pathogens. Its clinical impact is illustrated by three pediatric cases.

INTRODUCTION

Kingella kingae est un coccobacille Gram négatif, immobile, non sporulé et non capsulé, parfois considéré comme un habitant normal des voies respiratoires supérieures.¹ Il existe actuellement cinq espèces connues du genre *Kingella* : *K. kingae*, *K. indologenes*, *K. denitrificans*, *K. oralis* et *K. potus*.² Parmi ces espèces, *K. kingae* a été la plus fréquemment signalée comme cause d'endocardites,³ de septicémies et d'infections ostéo-articulaires.⁴ Le germe *K. kingae* est d'ailleurs inclus dans le groupe HACEK (germes à croissance lente responsables d'endocardites).^{5,6} On estime que les dommages causés à la muqueuse respiratoire (par exemple à la suite d'infections

virales) permettent la propagation hématogène de *K. kingae* vers différents organes, et en particulier les articulations et les os.^{7,8} Ainsi, *K. kingae* a été retrouvé dans les hémocultures de quatre jeunes enfants (4/29, 14%) présentant une gingivo-stomatite aiguë herpétique.^{1,9}

L'augmentation apparente des cas d'infections ostéo-articulaires pédiatriques à *K. kingae* peut s'expliquer en partie par l'amélioration des méthodes de détection et une meilleure connaissance de ce pathogène émergent. Malheureusement, en raison de la faible sensibilité de l'examen direct dans le contexte d'arthrite septique et du caractère fastidieux de cette bactérie, les prélèvements cliniques restent le plus souvent négatifs. L'utilisation de flacons d'hémoculture ensemencés au lit du patient permet une mise en culture rapide et favorise l'isolation de *K. kingae*.¹⁰ Toutefois, le faible inoculum bactérien dans les prélèvements d'origine ostéo-articulaire explique pourquoi ces cultures demeurent généralement négatives.¹¹

D'un point de vue épidémiologique, plusieurs germes étaient par le passé prioritairement incriminés lors des infections ostéo-articulaires aiguës de l'enfant, tels que *S. aureus*, *S. pneumoniae*, ou encore *Haemophilus influenzae*. Depuis une dizaine d'années, une augmentation du nombre de cas d'infections ostéo-articulaires à *K. kingae* a été rapportée et ce germe est considéré actuellement comme un pathogène émergent.¹²

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

Pour augmenter la sensibilité de détection de cette bactérie dans les prélèvements cliniques, plusieurs méthodes d'amplification moléculaire par PCR (*Polymerase chain reaction*) ont été développées.^{11,13-16} Les PCR non spécifiques, également appelées *broad-range PCR*, permet-

tent de déceler la présence d'ADN bactérien dans l'échantillon à analyser, sans préjuger de l'espèce recherchée (**figure 1**). Malheureusement, l'utilité de ces PCR non spécifiques est grevée d'une sensibilité réduite : 3000 à 300 000 colonies bactériennes (CFU, *colony-forming units*) doivent être présentes dans le prélèvement pour être détectées.

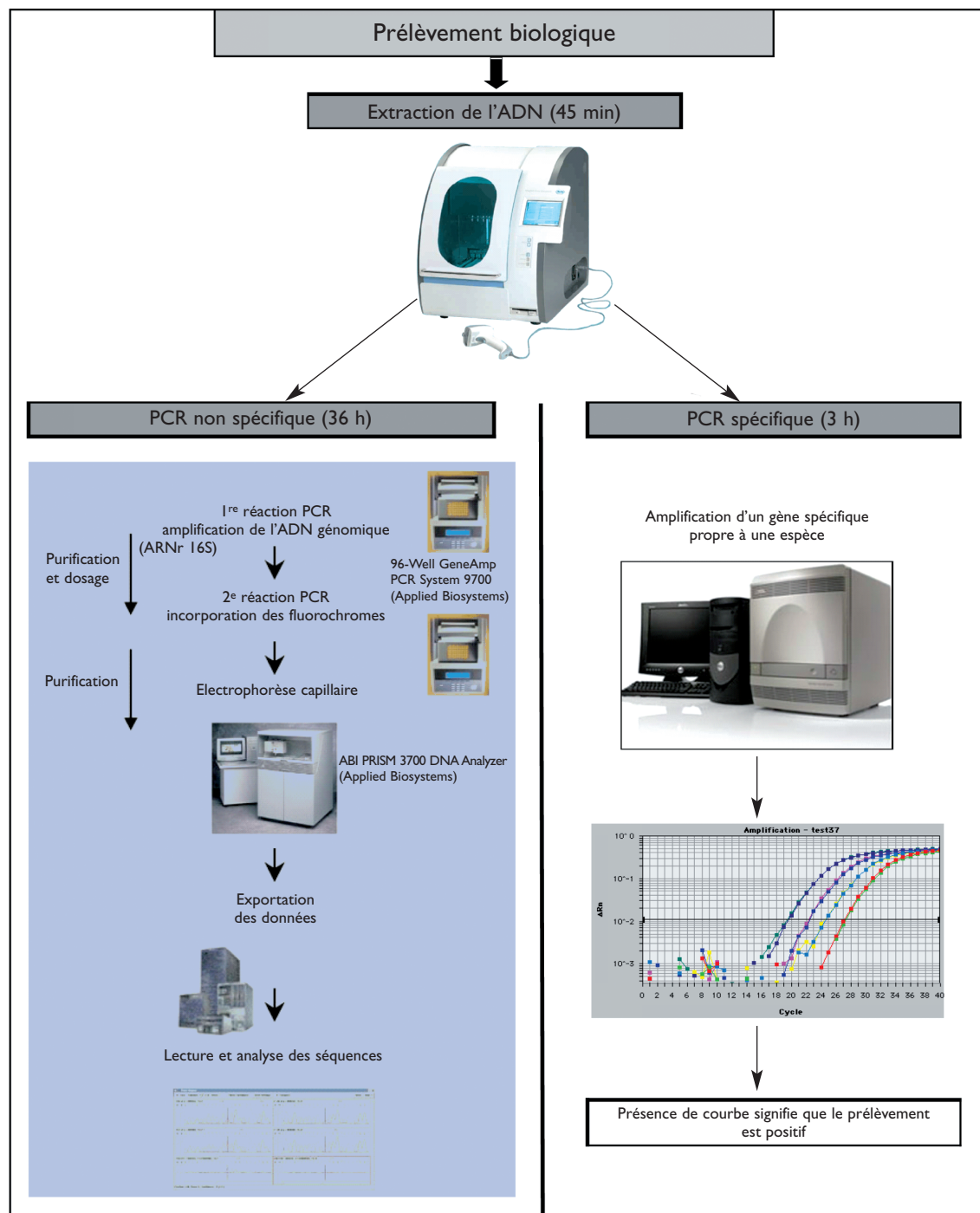


Figure 1. Présentation simplifiée des différences entre une PCR non spécifique et une PCR en temps réel spécifique à une espèce bactérienne

PCR non spécifique (broad-range PCR) qui nécessite un séquençage pour pouvoir identifier l'espèce (panneau de gauche). PCR en temps-réel spécifique à une espèce bactérienne (panneau de droite).

(h) : le temps nécessaire pour obtenir un résultat.



Ces valeurs sont au moins 100 fois moins sensibles qu'une PCR spécifique, c'est-à-dire développée pour détecter une cible d'une bactérie particulière (figure 1).

Récemment, la pathogenèse de *K. kingae*, incluant les étapes de colonisation des voies respiratoires, d'invasion de la circulation sanguine, et de dommage aux articulations, a été liée à la production d'une puissante cytotoxine nommée RTX.¹⁷ Le locus génétique *rtx* de *K. kingae* contient cinq gènes désignés *rtxA*, *rtxC*, *rtxD*, *rtxB* et *tolC* (figure 2). Une PCR en temps réel spécifique pour *K. kingae* a donc été développée au Laboratoire de bactériologie des Hôpitaux universitaires de Genève (HUG) ciblant les gènes *rtxA* et *rtxB*.¹⁸

La sensibilité analytique de cette technique (qPCR-*rtx*) a été évaluée sur une collection de sept souches invasives de *K. kingae*. Elle est de l'ordre de 30 CFU, ce qui est dix fois plus sensible qu'une autre PCR spécifique ayant pour cible la séquence ITS (Chometon et coll.) et en tout cas 100 fois plus sensible qu'une *broad-range PCR*.^{18,19} Nous avons donc évalué en clinique la contribution de ce nouveau test moléculaire.

LÉSIONS OSTÉO-ARTICULAIRES

D'un point de vue clinique, les infections ostéo-articulaires à *K. kingae* se traduisent par une pauvreté du tableau clinique avec une fièvre qui est souvent absente ou quelquefois intermittente, alors que les répercussions sur le segment de membre incriminé demeurent le plus souvent discrètes. Le bilan est la plupart du temps peu perturbé ; les altérations de la formule sanguine complète se traduisent par une thrombocytose sans leucocytose et par une élévation modérée de la vitesse de sédimentation. La CRP apparaît quant à elle normale ou très faiblement augmentée.

La stratégie d'imagerie des ostéomyélites de l'enfant passe de plus en plus par l'IRM ; celle-ci est réalisée directement après les radiographies standards (souvent normales au moment du diagnostic), à condition que la région anatomique responsable de la symptomatologie soit identifiée. La scintigraphie osseuse reste indiquée lorsque le point de départ de la symptomatologie est incertain. L'IRM étant alors réalisée dans un second temps, centrée sur la région anatomique incriminée. La réalisation de l'IRM nécessite une immobilité complète, donc une sédation avant l'âge de cinq-six ans ; selon les centres, il peut s'agir d'une sédation réalisée par le radiologue, ou mieux par l'anesthé-

siste. Le protocole IRM actuel comprend des séquences T2, T1, STIR, et T1 Fat Sat après injection de gadolinium. Cette étude permet d'affirmer l'atteinte des parties molles, l'atteinte osseuse, l'épanchement intra-articulaire et la présence de zone abcédée dans les parties molles ou intra-osseuses. L'émergence de *K. kingae* a été accompagnée d'une modification de la présentation des ostéomyélites du petit enfant. En effet, par rapport aux infections ostéo-articulaires à *S. aureus*, l'imagerie est plus frustrante, l'atteinte des tissus mous est moins importante, l'atteinte osseuse plus localisée, parfois même l'atteinte est limitée à une arthrite ou à une lésion circonscrite cartilagineuse sans atteinte osseuse associée. Cette différence sémiologique ne doit pas pour autant éloigner le diagnostic d'infection ostéo-articulaire.

SITUATIONS CLINIQUES

Nous rapportons ici trois cas cliniques d'enfants pris en charge à l'Hôpital des Enfants des HUG pour une infection ostéo-articulaire à *K. kingae*. Ces situations cliniques traduisent bien la population cible de ces infections, leurs faibles répercussions cliniques ainsi que les difficultés diagnostiques rencontrées lors de leur prise en charge.

Cas clinique I : chondrite infectieuse du premier cunéiforme à *K. kingae* comme cause d'errance diagnostique

Une fillette de 22 mois est amenée en consultation au service des urgences en raison d'une boiterie d'épargne du membre inférieur gauche depuis quatre jours. L'enfant a présenté un état fébrile fluctuant atteignant transitoirement 40°C, et l'examen clinique révèle une douleur du cou-de-pied mais sans tuméfaction ou rougeur locale. Un bilan radiographique conventionnel ne révèle aucune lésion osseuse et les bilans inflammatoire et rhumatologique s'avèrent sans particularité si l'on excepte une VS à 16 mm/h. L'enfant est renvoyée à son domicile avec une thérapie anti-inflammatoire qui aboutit rapidement à une résolution des symptômes cliniques. Quelques jours après l'interruption des AINS, la boiterie récidive et l'enfant est revue en contrôle clinique ; l'examen clinique du pied est décrit comme normal mais la charge sur le pied gauche semble douloureuse. Le bilan qui est effectué dix jours après la première consultation ne montre ni élévation de la CRP, ni augmentation de la VS, ni leucocytose. Seule une thrombocytose modérée est notée. Une immobilisation

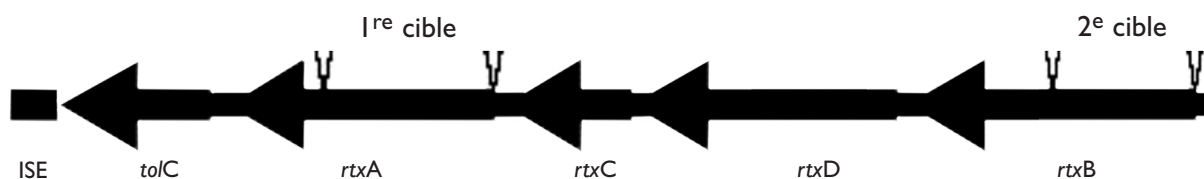


Figure 2. Schéma illustrant l'organisation du locus *rtx* qui contient environ 10 000 paires de bases (10 kbp) et la position des amorces utilisées dans la qPCR-*rtx*

La séquence correspondant au locus codant pour la toxine RTX de *K. kingae* est déposée dans GenBank sous le numéro EF067866.



Figure 3. L'IRM du pied de l'enfant révèle une altération de signal en regard du cartilage du premier cunéiforme qui est hyper-intense dans les séquences T2 STIR

Le premier cunéiforme étant complètement cartilagineux, il s'agit donc d'une chondrite avec une cavité abcédée et un œdème modéré des tissus mous avoisinants.

du segment dans une botte de marche permet à l'enfant de déambuler mais l'évolution n'est toutefois pas favorable. Une scintigraphie est alors effectuée et révèle une hypercaptation en regard du premier cunéiforme avec des signes d'inflammation tissulaire modérée du cou-de-pied gauche. Le bilan est alors complété par une IRM qui fait état d'une chondrite de la matrice cartilagineuse du premier cunéiforme avec un abcès intra-cartilagineux (figure 3). Un drainage chirurgical de l'abcès est effectué plus de trois semaines après le début de la symptomatologie : conjointement, une antibiothérapie intraveineuse probabiliste est instaurée dès la réalisation des prélèvements bactériologiques sans attendre les résultats de ceux-ci. Les cultures conventionnelles sont demeurées stériles mais le germe est identifié par qPCR-rtx. Une fois le *K. kingae* identifié, l'antibiothérapie est adaptée et administrée par voie orale. Après quatre semaines de traitement antibiotique, on note une résolution complète et durable des symptômes.

Cas clinique 2 : atteinte de l'articulation sterno-claviculaire comme exemple d'atteinte aspécifique

Une fillette de deux ans est hospitalisée en raison de douleurs dans la région sterno-claviculaire gauche. La patiente présente un état fébrile fluctuant jusqu'à 39,5°C depuis plus de cinq jours, qui est attribué à une rhinite. A son arrivée aux urgences, on note une épargne relative du membre supérieur gauche et on déclenche des douleurs à la palpation de l'articulation sterno-claviculaire gauche. Localement, il n'y a ni rougeur, ni chaleur, ni tuméfaction notable. Le bilan sanguin montre une vitesse de sédimentation à 76 mm/h sans autre anomalie. Une radiographie de la clavicule est effectuée mais ne montre ni fracture, ni

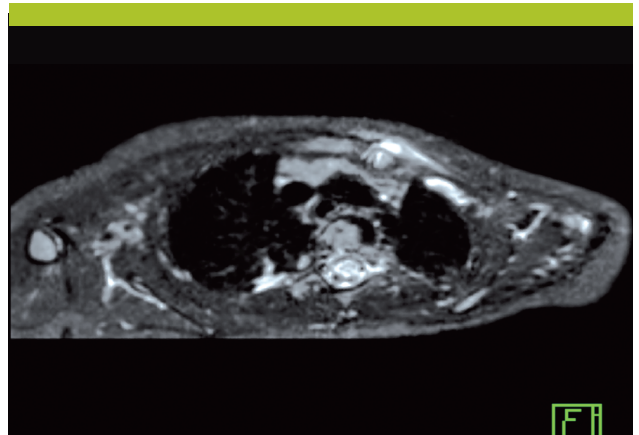


Figure 4. A l'IRM, on note une altération de signal de la moelle du tiers moyen de la clavicule, avec une zone lytique située à son extrémité médiale, suspecte d'un abcès intra-osseux

Dans les tissus mous adjacents, on retrouve des altérations de signal en hypersignal sur les séquences T2 évoquant un œdème modéré des tissus mous, sans aspect évocateur d'un abcès et sans rehaussement postinjection de produit de contraste. Les images sont suggestives d'une ostéo-arthrite de l'articulation sterno-claviculaire à gauche.

lésion osseuse. Le bilan d'imagerie est complété par une scintigraphie osseuse qui met en évidence une hypercaptation de l'extrémité médiale de la clavicule gauche. L'IRM qui est alors effectuée conclut à une ostéo-arthrite de l'articulation sterno-claviculaire avec un œdème modéré des tissus mous péri-osseux (figure 4). Une ponction osseuse et une ponction articulaire sont consécutivement effectuées en anesthésie générale et un traitement antibiotique probabiliste est entrepris jusqu'à l'obtention des résultats de la PCR positive pour *K. kingae*. Les cultures conventionnelles ne sont d'aucune aide pour établir le diagnostic car elles demeurent négatives. Un traitement antibiotique oral aboutit rapidement à une résolution de la symptomatologie algique et à une guérison sans séquelles.



Figure 5. L'IRM confirme notre impression clinique d'ostéomyélite de l'olécrâne droit, en montrant une altération de signal au niveau de l'olécrâne qui est hyper-intense dans les séquences T2 STIR

Comme déjà précédemment décrit, les altérations de signal en hypersignal sur les séquences T2 au niveau des parties molles sont relativement discrètes et évoquent un œdème modéré des tissus mous, sans abcès.

Cas clinique 3 : ostéomyélite de l'olécrâne comme exemple de la faible contribution diagnostique du bilan sanguin

Un garçonnet de 25 mois, qui présente une épargne du coude droit depuis environ une semaine, est présenté dans le cadre des consultations des urgences. A l'anamnèse, il n'y a ni notion de traumatisme ni épisode fébrile. Après une semaine d'immobilisation, on note toujours une nette épargne du membre supérieur droit, avec une chaleur au niveau de l'olécrâne et des douleurs à la flexion/extension passive du coude droit. Les mouvements de prono-supination s'effectuent librement. On ne note ni lymphangite, ni adénopathie axillaire. Le bilan sanguin (formule sanguine complète, CRP et VS) est aligné si l'on excepte une thrombocytose. Le bilan d'imagerie est complété par une IRM (figure 5), qui révèle la présence d'une ostéomyélite au niveau de l'olécrâne, avec une minime collection latérale et des adénopathies satellites médiales au coude droit. Une biopsie osseuse est alors pratiquée sous anesthésie

générale afin de mettre en évidence le germe. Une fois encore, les cultures conventionnelles demeurent stériles et le germe est identifié par qPCR-rtx. Un traitement antibiotique oral aboutit rapidement à une résolution de la symptomatologie algique et à une guérison sans séquelles.

Adresses

Drs Abdessalam Cherkaoui et Stéphane Emonet
Laboratoire de bactériologie,
Service des maladies infectieuses
Dr Dimitri Ceroni
Service d'orthopédie pédiatrique
Pr Jacques Schrenzel
Laboratoire de bactériologie et
laboratoire de recherche génomique
Service des maladies infectieuses
Dr Solène Ferey
Département de radiologie pédiatrique
HUG, 1211 Genève 14
abdessalam.cherkaoui@hcuge.ch

Bibliographie

- 1 Yagupsky P, Peled N, Katz O. Epidemiological features of invasive *Kingella kingae* infections and respiratory carriage of the organism. *J Clin Microbiol* 2002; 40:4180-4.
- 2 Lebel E, Rudensky B, Karasik M, Itzhaki M, Schlesinger Y. *Kingella kingae* infections in children. *J Pediatr Orthop B* 2006;15:289-92.
- 3 Wells L, Rutter N, Donald F. *Kingella kingae* endocarditis in a sixteen-month-old-child. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:454-5.
- 4 Berkun Y, Brand A, Klar A, Halperin E, Hurvitz H. *Kingella kingae* endocarditis and sepsis in an infant. *Eur J Pediatr* 2004;163:687-8.
- 5 Kiang KM, Ogunmodede F, Juni BA, et al. Outbreak of osteomyelitis/septic arthritis caused by *Kingella kingae* among child care center attendees. *Pediatrics* 2005;116: e206-13.
- 6 Matta M, Wermert D, Podglajen I, et al. Molecular diagnosis of *Kingella kingae* pericarditis by amplification and sequencing of the 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 2007; 45:3133-4.
- 7 Costers M, Wouters C, Moens P, Verhaegen J. Three cases of *Kingella kingae* infection in young children. *Eur J Pediatr* 2003;162:530-1.
- 8 Dodman T, Robson J, Pincus D. *Kingella kingae* infections in children. *J Paediatr Child Health* 2000;36: 87-90.
- 9 Amir J, Yagupsky P. Invasive *Kingella kingae* infection associated with stomatitis in children. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:757-8.
- 10 Yagupsky P. Use of blood culture systems for isolation of *Kingella kingae* from synovial fluid. *J Clin Microbiol* 1999;37:3785.
- 11 Moumille K, Merckx J, Glorion C, Berche P, Ferroni A. Osteoarticular infections caused by *Kingella kingae* in children: Contribution of polymerase chain reaction to the microbiologic diagnosis. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:837-9.
- 12 Yagupsky P. *Kingella kingae*: From medical rarity to an emerging paediatric pathogen. *Lancet Infect Dis* 2004;4:358-67.
- 13 Chometon S, Benito Y, Chaker M, et al. Specific real-time polymerase chain reaction places *Kingella kingae* as the most common cause of osteoarticular infections in young children. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:377-81.
- 14 Rosey AL, Abachin E, Quesnes G, et al. Development of a broad-range 16S rDNA real-time PCR for the diagnosis of septic arthritis in children. *J Microbiol Methods* 2007;68:88-93.
- 15 Stahelin J, Goldenberger D, Gnehm HE, Altwegg M. Polymerase chain reaction diagnosis of *Kingella kingae* arthritis in a young child. *Clin Infect Dis* 1998;27:1328-9.
- 16 Verdier I, Gayet-Ageron A, Ploton C, et al. Contribution of a broad range polymerase chain reaction to the diagnosis of osteoarticular infections caused by *Kingella kingae*: Description of twenty-four recent pediatric diagnoses. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:692-6.
- 17 Kehl-Fie TE, St Geme JW. Identification and characterization of an RTX toxin in the emerging pathogen *Kingella kingae*. *J Bacteriol* 2007;189:430-6.
- 18 Cherkaoui A, Ceroni D, Emonet S, Lefevre Y, Schrenzel J. Molecular diagnosis of *Kingella kingae* osteoarticular infections by specific real-time PCR assay. *J Med Microbiol* 2009; 58:65-8.
- 19 Chometon S, Benito Y, Chaker M, et al. Specific real-time polymerase chain reaction places *Kingella kingae* as the most common cause of osteoarticular infections in young children. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:377-81.