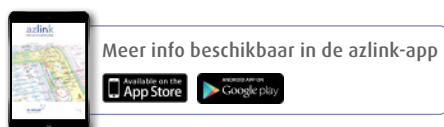
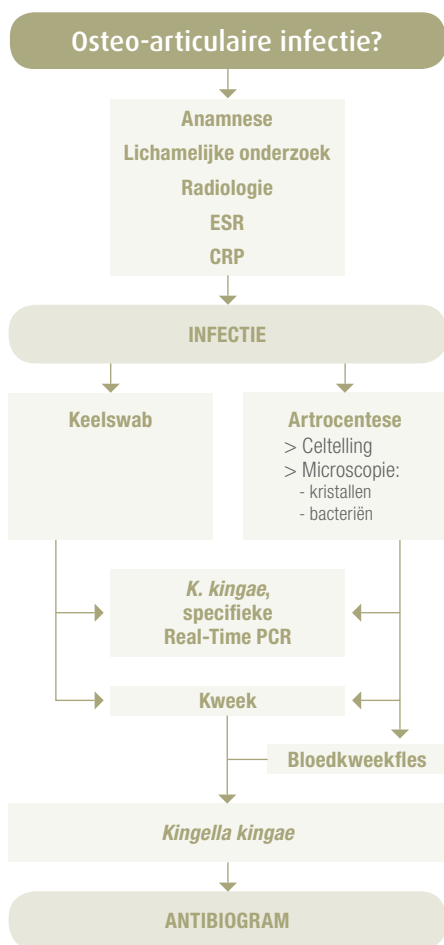


# Opsporing van *Kingella kingae*-DNA bij osteo-articulaire infecties bij kinderen



dr. Eric Nulens, dr. Marijke Reynders  
dienst Laboratoriumgeneeskunde  
campus Sint-Jan



Bij kinderen komen osteo-articulaire infecties (OAI) zoals osteomyelitis, septische artritis en spondylodiscitis relatief weinig voor. Gezien een OAI tot ernstige morbiditeit en blijvende letsels kan leiden, is de opsporing ervan belangrijk. De recent ontwikkelde moleculaire methoden voor de directe opsporing van *Kingella kingae* uit gewrichtsvocht bieden een uitgesproken meerwaarde in de diagnostische aanpak van OAI.

## Verwekkers van OAI

Het type verwekker van een OAI is afhankelijk van de leeftijd van het kind. Globaal gezien is *Staphylococcus aureus* de meest voorkomende. Kinderen zijn meer dan volwassenen gekoloniseerd met *S. aureus*, en OAI treden meestal op bij kinderen ouder dan vier en jonger dan twee jaar. Bij kinderen jonger dan vier jaar is *Kingella Kingae* weliswaar de belangrijkste verwekker. De laatste jaren ging *Kingella kingae* een steeds belangrijkere rol spelen in de diagnose van OAI's, omdat de opsporing ervan verbeterd is door het gebruik van betere kweektechnieken en de invoering van moleculaire testen. *K. kingae* is een Gram-negatieve bacil die tot de commensale keelflora behoort. Tot 11 % van de kinderen minder dan drie jaar oud kan asymptomatisch gekoloniseerd zijn. Een *K. kingae*-infectie ontstaat meestal ten gevolge van de hematogene verspreiding naar de gewrichten, maar kan ook optreden kort na virale infecties van de bovenste luchtwegen of tijdens een varicella-infectie. Er bestaat een zeer sterk verband tussen asymptomatisch dragerschap van deze bacterie en invasieve infecties.

## Diagnose van OAI

Acute hematogene osteomyelitis komt jaarlijks in 0,2 tot 1,6 per 1000 kinderen voor. De diagnose wordt meestal binnen de twee weken na start van de symptomen gesteld. De infectie begint typisch in de metafyse van de lange beenderen en in twee derde van de gevallen ter hoogte van de tibia, femur of humerus. De meeste gevallen treden in de late zomer en in de herfst op. Subacute osteomyelitis heeft een minder opvallend verloop, met matige gelokaliseerde pijn, milde systemische manifestaties en een gering aantal bijdragende laboratoriumuitslagen, negatieve bloedkweken en positieve radiologische bevindingen. Meestal duurt het meer dan twee weken vooraleer de diagnose gesteld wordt. Er bestaan twee vormen van OAI. Een infectie bij kinderen van zes maanden tot vier jaar is in 90 % van de gevallen door *K. kingae* veroorzaakt en vertoont weinig symptomen.

De tweede vorm zien we vooral bij kinderen ouder dan vier jaar. Deze kinderen zijn resistentier tegen het optreden van een infectie. Doet ze zich wel voor, dan gaat het vaak om patiënten met een *S. aureus*-infectie, permanent of onregelmatig gekoloniseerd. *S. aureus*-dragers ontwikkelen echter minder ernstige infecties dan niet-dragers, wat mogelijk op een adaptieve immuniteit wijst. Spondylodiscitis wordt vaak gemist bij kinderen tussen zes en 48 maanden oud en moet dus opgespoord worden bij peuters die niet stappen, gangstoornissen vertonen en/of rug- (abdominale) pijn hebben. Bij zuigelingen of jonge kinderen van meer dan zes maanden verloopt de infectie het meest ernstig, met mogelijk sepsis en multiple-infectieuze foci, en secundair ook de vernietiging van wervels.

## Infectie aantonen

Microbiologische diagnostiek blijft het belangrijkste bewijs om een infectie aan te tonen. Alleen is de kweek van gewrichtsvocht voor de opsporing van *K. kingae* niet erg gevoelig. Daarom is het belangrijk Gram-kleuring, inoculatie van bloedkweekflessen of rechtstreekse opsporing van micro-organismen door middel van moleculaire testen te combineren. De Gram-kleuring heeft een gevoeligheid van 75 % bij een *S. aureus*-infectie, maar ligt lager bij Gram-negatieve bacteriën, waarschijnlijk ten gevolge van een lagere bacteriële lading.

Recente studies hebben aangetoond dat het gebruik van bloedkweekmedia de opbrengst van *K. kingae* uit gewrichtsvocht verhoogt. Groeiremmende bestanddelen in het gewrichtsvocht worden door het bloedkweekmedium verdund, waardoor de bacteriën beter kunnen repliceren.

Bij een *S. aureus*-infectie bevat een mm<sup>3</sup> gewrichtsvocht 50.000 tot 200.000 cellen, waarvan > 90 % polymorfonucleaire leukocyten, maar bij sommige Gram-bacteriën zoals *K. kingae* kunnen lagere aantallen gevonden worden. In eerste instantie is een bepaling van de leukocyten, de bezinkingstijd (ESR) en het CRP aan de orde. Ook de infectie opvolgen gebeurt aan de hand daarvan.

## Moleculaire detectie

Recent zijn moleculaire methoden ontwikkeld voor de directe opsporing van *K. kingae* uit gewrichtsvocht. Er zijn momenteel twee strategieën voor de moleculaire detectie van moeilijk of niet kweekbare bacteriën. De eerste is een 'broad-range' 16S rRNA-gen assay, waarbij broad-range primers binden met geconserveerde regio's van het 16S ribosomaal RNA-gen van de bacterie. Afhankelijk van de bacteriële species gebeurt er een amplificatie van de nucleotidesequenties van het gen. De gevonden sequenties worden dan vergeleken met de gekende en internationaal verzamelde sequenties in een GenBank database om de verwekker te identificeren. Het voordeel van deze techniek is dat er geen voorafgaande kennis van de verwekker nodig is.

Een tweede manier om een bacterie te benoemen, is real-time PCR (polymerasekettingreactie), die specifieke genetische targets voor de meeste osteo-artculaire pathogenen opspoort.

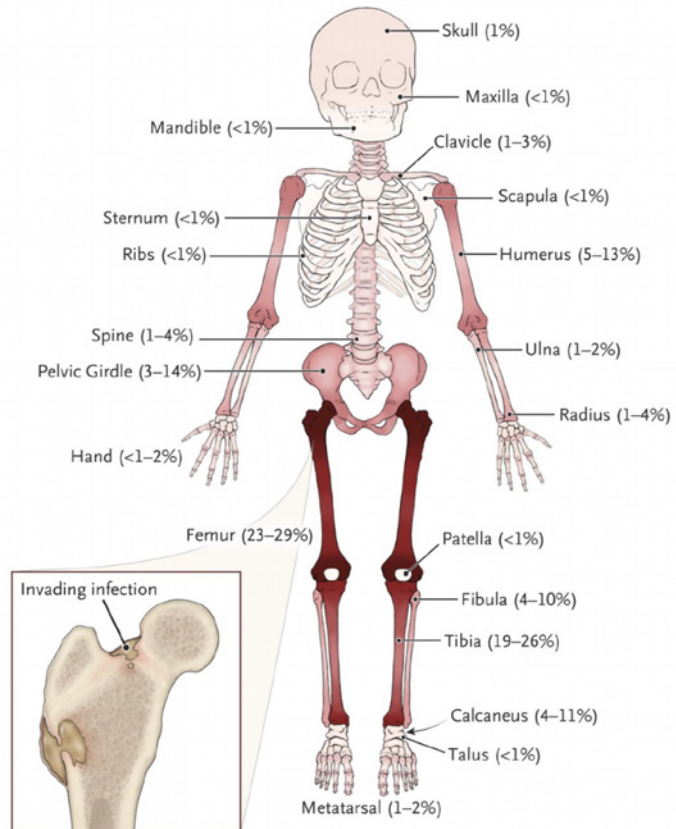
De real-time PCR voor *K. kingae* die het laboratorium van het AZ Sint-Jan Brugge-Oostende AV gebruikt, spoort specifiek het cpn60- en het RTX-toxinegen op. Deze techniek is tien maal gevoeliger dan de broad-range 16S rRNA-gen PCR. De positieve predictieve waarde van deze PCR in een keelwab (vóór antibioticatherapiekuur) ligt rond de 90%. De negatieve predictieve waarde van de test is echter zeer hoog; de specifieke genetische sequenties niet detecteren in een keelwab sluit een *K. kingae*-infectie praktisch uit.

## Aanpak van OAI

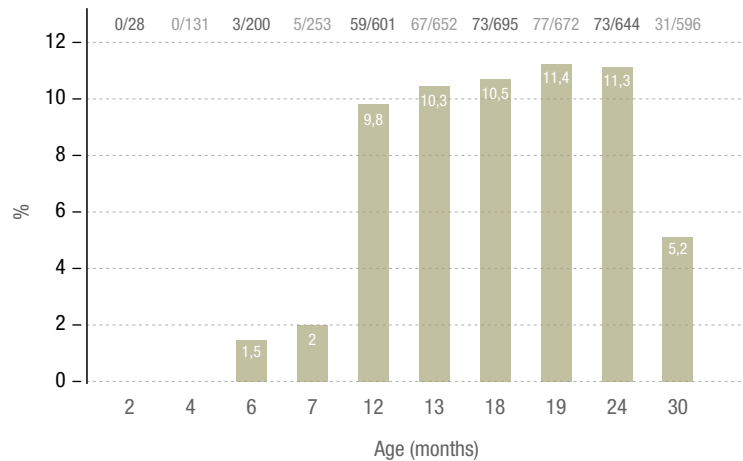
Een diagnostische aanpak van OAI kan bestaan uit materiaal verzamelen ter hoogte van de infectiehaard voor een *K. kingae*-PCR. In parallel kan een kweek uitgevoerd worden om mogelijke andere verwekkers aan te tonen. Indien het niet mogelijk is om een punctie uit te voeren, dan is een *K. kingae*-PCR op een keelwab een alternatief.

Heelkundige therapie bestaat uit aspiratie, arthroscopie en artrocentese. Enerzijds voor diagnostische doeleinden, anderzijds om de intracapsulaire druk, de pijn, de bacteriële lading en de geassocieerde toxines te verminderen. De meeste isolaten van *K. kingae* zijn gevoelig aan bètalactamantibiotica, aminoglycosiden, trimethoprim-sulfamethoxazole en fluoroquinolones. Sommige zeldzame bètalactamaseproducerende isolaten zijn resistent tegen ampicilline en cefazoline, maar blijven gevoelig aan bètalactam-bètalactamaseinhibitor antibiotica.

De empirische therapie van OAI in kinderen van drie maanden tot vijf jaar is in de eerste plaats gericht tegen de twee meest voorkomende verwekkers:



De procentuele verdeling over het skelet van acute osteomyelitis bij kinderen. Osteomyelitis kan alle beenderen treffen, maar komt vaker voor in de pijpbeenderen van de armen en de benen. De donkerste tinten geven weer waar de infectie het vaakst toeslaat.



De prevalentie van faryngeale *K. kingae*-kolonisatie bij kinderen tussen 0 en 36 maanden oud.

*S. aureus* en *K. kingae*. Voor de gerichte therapie tegen *K. kingae* is het bijvoorbeeld mogelijk om benzylpenicilline te gebruiken. De therapieduur ligt arbitrair op zes weken, maar recente studies toonden aan dat twintig dagen therapie even goede resultaten geeft bij ongecompliceerde OAI door *S. aureus* of *K. kingae* in kinderen. Er kan dan snel op orale therapie overgeschakeld worden zodat de kinderen het ziekenhuis vroegtijdig kunnen verlaten. Wegens de zeer goede biologische beschikbaarheid lenen eerste generatie cefalosporines, zoals cefadroxil en cefalexine, zich uitstekend voor orale therapie.

## Referenties

- Peltola, H., Pääkkönen, M.N. (2014). Acute osteomyelitis in children. *Engl. J Med*, 370, 352-360.
- Peltola, H., Pääkkönen, M., Kallio, P., Kallio, M.J.T., and The OM-SA Study Group (2012). Clindamycin vs. first-generation cephalosporins for acute osteoarticular infections of childhood—a prospective quasi-randomized controlled trial. *Clin Microbiol Infect*, 18, 582-589.
- Basmaci, R., Bonacorsi, S., Ilharborde, B., Doit, C., Lorrot, M., Kahil, M., Visseaux, B., Houhou, N., Bidet, P. (2015). High respiratory virus oropharyngeal carriage rate during *Kingella kingae* osteoarticular infections in children. *Future Microbiol.*, 10, 9-14.