

INFECTIONS INVASIVES À STREPTOCOQUE A CHEZ L'ENFANT : MANIFESTATIONS CLINIQUES ET CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE

par

S. HENRIET, F. KAGUELIDOU, M. LORROT, P. BIDET,
A. BOURRILLON, E. BINGEN, A. FAYE

INTRODUCTION

Le streptocoque du groupe A (SGA) ou *Streptococcus pyogenes* est un pathogène strictement humain, susceptible d'entraîner une large variété d'infections, allant d'affections bénignes comme les angines ou l'impétigo, à des pathologies extrêmement sévères comme les fasciites nécrosantes et les syndromes de choc toxique. Les manifestations cliniques des infections à SGA ont évolué au cours du temps. Depuis le milieu des années 80, les infections invasives graves à SGA, tel que le syndrome de choc toxique streptococcique (SCTS) et les fasciites nécrosantes (FN), ont ré-émergé [1]. Une telle évolution peut être liée aux changements de la distribution, et/ou à l'apparition de types particuliers de gènes de la protéine M (génotypes *emm*) qui est un des principaux facteurs de virulence du SGA. Néanmoins, d'autres facteurs associés à des gènes de virulence particuliers, comme les gènes du "streptococcus invasive locus" (gen *silC*), du "Streptococcal Inhibitor of the Complement" (SIC), du Streptococcal superantigen (*ssa*), *smeZ*, et les superantigènes "Streptococcal pyrogenic exotoxins" (SPE) type A et type C, peuvent aussi avoir un rôle important dans cette évolution [1].

Cependant peu de données récentes sont disponibles chez les enfants sur l'évolution des infections à SGA et leur caractérisation moléculaire [2, 3]. Les données disponibles font le plus souvent partie de grandes études observationnelles sans aucune analyse séparée de la population pédiatrique. Nous avons donc étudié les caractéristiques cliniques et moléculaires des infections invasives à SGA chez l'enfant dans un centre hospitalier universitaire parisien sur une période récente de sept ans.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Population de l'étude

Tous les enfants admis à l'hôpital Robert Debré, Paris, France, pour une infection invasive à SGA entre le 1^{er} octobre 2000 et le 30 novembre 2007 ont été inclus dans une étude rétrospective.

L'infection invasive à SGA a été définie par l'isolement du SGA dans des hémocultures ou des prélèvements obtenus à partir d'autres sites normalement stériles. Les données épidémiologiques, cliniques et biologiques ont été recueillies à partir des dossiers médicaux. Quatre groupes d'infections invasives à SGA ont été définis sur la base des signes cliniques et/ou du site de l'infection : (I) Infections ostéo-articulaires (IOA), (II) Infections des tissus mous (inclus les FN), (III) Infections pulmonaires et (IV) SCTS.

Évaluation bactériologique et moléculaire des isolats de SGA

Le génotype *emm* et d'autres facteurs de virulence (*speA*, *speB*, *speC*, *smeZ-1*, *ssa*, *sic* et *silC*) ont été évalués pour chaque isolat. Toutes les souches ont été cultivées sur gélose d'agar et sang et stockées à -80°C jusqu'à la caractérisation moléculaire. L'ADN a été extrait au moyen d'un kit commercial d'extraction d'ADN (Chelex, InstaGene Matrix 1, Bio-Rad, France), selon les spécifications du fabricant. Le séquençage du type *emm* a été effectué, comme décrit par Beall et coll. [4]. Une PCR multiplex pour les gènes des toxines (*speA*, *speB*, *speC*, *ssa* et *smeZ-1*) a été réalisée, à l'aide des amorces décrites par Schmitz et coll. [5], ainsi que des amorces SIC_up (GAGACCACCATATGGAGAAG) et SIC_lo (ATCCATCAAAGCCATTCCAC) pour la détection du gène inhibiteur streptococcique de la lyse médiée par le complément (*sic*). Le gène de *silC* a été détecté comme précédemment décrit [6].

Analyses statistiques

Les résultats sont présentés en nombres absolus (pourcentages) pour les variables de type catégories et en médiane (extrêmes) pour les variables continues. Les comparaisons des caractéristiques entre les groupes ont été effectuées à l'aide du test du chi² ou du test exact de Fisher pour des variables de type catégories et du test de Wilcoxon ou de Kruskal-Wallis pour les variables continues. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives. Tous les calculs statistiques ont été effectués avec la version 9.1 du logiciel SAS (SAS Inc., Cary, OR).

RÉSULTATS

Caractéristiques démographiques des enfants ayant une infection invasive à SGA

Trente-six enfants de moins de 18 ans ont été admis pour une infection invasive à SGA entre 2000 et 2007 à l'Hôpital Robert Debré, Paris. Les observations médicales étaient indisponibles ou incomplètes pour huit enfants. Nous avons donc inclus dans l'étude 28 enfants avec une infection invasive à SGA. L'âge médian des enfants au moment du diagnostic était de 2,9 ans [0,6 – 17,2] et le sex ratio était de 1.

Site de l'infection

La plupart des 28 enfants ($n = 15$, 53 %) ont eu une IOA (groupe I), sept (25 %) ont eu une infection des tissus mous (groupe II), trois (11 %) ont eu une infection pleurale et/ou pulmonaire (groupe III) et trois (11 %) ont développé un SCTS (groupe IV) (Tableau 1). Les enfants ayant eu une infection des tissus mous étaient plus âgés que les enfants ayant présenté une IOA, une infection pulmonaire ou un SCTS, mais cette différence n'était pas significative ($p = 0,55$). Aucune des IOA ou infection des tissus mous n'a été associée à des

troubles hémodynamiques. Aucune différence significative dans les résultats des examens biologiques initiaux n'a été retrouvée entre les quatre groupes, excepté pour le groupe des SCTS (Tableau 1). Les concentrations de CRP avait une tendance à être inférieures dans le groupe des IOA par rapport aux trois autres groupes ($p = 0,06$).

Facteurs de risque d'infection invasive à SGA

Au moins un facteur de risque d'infection invasive à SGA a été trouvé dans deux-tiers des cas ($n = 19$, 68 %). Trois enfants ont eu deux facteurs de risque. Les patients avec une IOA (groupe I) avaient moins de facteurs de risque que ceux des autres groupes, mais cette différence n'était pas significative. Les enfants sans facteurs de risque étaient plus jeunes que ceux avec au moins un facteur de risque (âge médian 1,4 ans [0,6 - 5,6] contre 4,6 ans [0,9 - 17,2], respectivement, $p = 0,03$).

Traitement et évolution des enfants avec une infection invasive à SGA (Tableau 1)

Dans la plupart des cas, le traitement initial empirique a comporté une céphalosporine de troisième génération par voie intraveineuse ou une Beta-lactamine (pénicilline) associée à la fosfomycine, à la vancomycine ou à un aminoglycoside. Le traitement antibiotique a été adapté secondairement à la sensibilité du SGA. Le taux de mortalité global était de 3,6 % (1 patient dans le groupe de SCTS). Des séquelles liées à l'infection invasive à SGA ont été documentées chez quatre patients (cicatrice extensive à la suite d'une infection des tissus mous chez 2 patients, limitation articulaire chez un patient et cécité monolatérale à la suite d'une infection de l'œil chez le quatrième enfant). Aucune complication non suppurative n'a été observée.

Diagnostic microbiologique et caractéristiques moléculaires des infections invasives à SGA

Diagnostic microbiologique de SGA

La plupart des isolats ($n = 17$, 61 %) ont été obtenus à partir des hémocultures. Les autres isolats ont été obtenus à partir du liquide pleural ($n = 2$, 7 %), du liquide de ponction articulaire ou de biopsies osseuses ($n = 3$, 11 %) ou à partir d'autres prélèvements chirurgicaux (adénophlegmon, œil et tissus mous, $n = 6$, 21 %).

Dans le groupe des IOA, 12 des 15 isolats (80 %) ont été obtenus à partir des hémocultures. Des prélèvements de liquide articulaire ou des biopsies osseuses ont été effectués chez seulement 7 de ces 12 enfants. Parmi ces sept enfants, trois ont eu des prélèvements de liquide articulaire ou biopsies osseuses positives à SGA en culture.

Distribution des génotypes emm

Nous avons identifié 13 types différents de protéine M, codés par des allèles de différents gènes *emm* (Tableau 2). Le type *emm-1* était le plus fréquent dans les cas d'IOA (7 des 10 cas). Nous n'avons observé aucune différence significative dans la distribution des types *emm* en fonction des sites d'infection ou de variation de la distribution au cours de la période de sept ans d'étude. La distribution du type *emm* n'était pas corrélée à la présence ou à l'absence des facteurs de risque.

Caractérisation et distribution des facteurs de virulence de SGA (Tableau 2)

L'isolat prédominant de SGA était du type *emm* 1 exprimant les facteurs de virulence *speA*, *speB*, *smeZ*-1 ainsi que le gène *sic* de virulence ($n = 7/28$). Toutes les infections associées à cet isolat étaient ostéo-articulaires. Aucune autre restriction d'un gène de virulence à un groupe particulier de manifestations cliniques n'a été retrouvée.

DISCUSSION

Nous avons observé dans notre étude une fréquence élevée d'infections ostéo-articulaires qui représentaient plus de 50 % des infections invasives à SGA. Le SGA est un agent pathogène connu des ostéo-arthrites, et serait responsable de 10 à 58 % des infections ostéo-articulaires à germes identifiés [7]. Des études ont rapporté une atteinte ostéo-articulaire dans les infections invasives à SGA dans un petit nombre de cas chez l'enfant (3 à 7 %), mais les manifestations prédominantes des infections invasives sont plutôt des cellulites, des fasciites nécrosantes et des bactériémies sans foyers de localisation [3, 8]. Seule une étude pédiatrique a montré une incidence élevée des infections ostéo-articulaires chez 8/24 patients (33 %) [2]. Par ailleurs, bien que cela ne soit pas discuté par les auteurs, l'étude épidémiologique européenne « Strep-EURO » a mis en évidence des manifestations ostéo-articulaires chez 3 à 16 % des patients, avec une fréquence plus élevée d'arthrite septique (~ 40 %) chez les enfants de moins de neuf ans [8].

Les raisons de la prévalence élevée des infections ostéo-articulaires dans notre étude sont peu claires. Nos données sont plus récentes que celles rapportées dans d'autres études et pourraient, donc, refléter des modifications du spectre clinique de l'infection invasive à SGA chez l'enfant.

Les enfants sans facteur de risque d'infection à SGA étaient plus jeunes que ceux ayant des facteurs de risque. Ils étaient également plus touchés par les IOA (différence non significative). Étant donné les faibles effectifs de notre étude, une analyse multivariée n'a pas été possible, cependant ces résultats suggèrent que le jeune âge lui-même pourrait être un facteur de risque d'infection invasive et en particulier d'IOA à SGA. Ceci confirme les résultats d'une étude antérieure où l'âge inférieur à 2 ans était un facteur de risque de bactériémie à SGA. Toutefois aucune information sur des facteurs de risque associés n'était fournie dans cette étude [9]. La susceptibilité particulière des enfants en bas âge à l'infection invasive à SGA suggère que l'immunité de l'hôte peut jouer un rôle dans la physiopathologie des infections invasives à SGA.

Dans les IOA, le SGA a été isolé principalement dans les hémocultures ($n = 12/15$), avec seulement 4/7 isolats de SGA obtenus à partir du liquide articulaire ou de prélèvements osseux. Ceci montre l'importance de l'hémoculture pour le diagnostic des infections ostéo-articulaires à SGA. Ainsi, ces infections peuvent être sous-estimées chez les patients sans hémoculture positive. Ceci suggère que les procédures de prélèvements ostéo-articulaires doivent être optimisées afin d'améliorer le diagnostic. Une approche moléculaire pour la détection du SGA dans les échantillons ostéo-articulaires pourrait avoir également un intérêt afin d'améliorer le diagnostic bactériologique des IOA à SGA.

Dans cette étude, nous avons décrit la distribution des types *emm* et d'autres facteurs de virulence pour les isolats d'infections invasives à SGA. Les quatre types *emm* (1, 3, 4 et 12) le plus souvent isolés chez nos patients sont également les plus répandus aux États-Unis et en Europe [10, 11]. Ces types *emm* - en particulier les types 1 et 3 - ont été également impliqués dans la pathogénie des infections invasives à SGA [12].

Nous avons constaté que l'*emm* de type -1 était prédominant dans le groupe des infections ostéo-articulaires (70 %, $n = 7/15$), mais cette prédominance n'était pas statistiquement significative par rapport aux autres groupes d'infection. Cette prédominance d'*emm*-1 dans le groupe des IOA diffère des résultats d'une autre étude dans lesquels l'*emm* 12 était principale-

ment associé aux arthrites infectieuses à SGA [12].

Comme dans d'autres études, et en raison de nombre limité d'isolats, nous n'avons pas pu établir une corrélation entre les facteurs de virulence évalués et les sites de localisation des infections invasives à SGA [13]. Cependant, le profil moléculaire prédominant des isolats de SGA responsables des infections ostéo-articulaires était de type *emm* 1 exprimant les gènes de virulence *speA*, *speB*, *smeZ-1* et sic sans gène *SpeC*, *ssa* ou *silC* ; ce profil particulier concernait presque la moitié des isolats de ce groupe (n = 7/15).

En conclusion, dans cette étude pédiatrique, la présentation clinique prédominante des infections invasives à SGA est l'infection ostéo-articulaire, confirmant le spectre large et évolutif des infections invasives à SGA. Les enfants sans facteur de risque pour une infection invasive à SGA ont tendance à être plus jeune et à avoir une infection ostéo-articulaire. Ces résultats suggèrent que l'immunité de l'hôte joue probablement un rôle dans la pathogénie des infections invasives à SGA. De plus grandes études évaluant les facteurs de virulence du SGA mais aussi l'immunité non spécifique de l'hôte pourraient être utiles.

S. Henriot¹, F. Kaguelidou², M. Lorrot¹, P. Bidet³, A. Bourrillon¹, E. Bingen³, A. Faye¹

¹ Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Pôle de Pédiatrie Aiguë et Médecine Interne, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; Université Paris Diderot, UFR de médecine, 10 av de Verdun, 75010 Paris, France

² Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Unité d'Épidémiologie Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; Université Paris Diderot, UFR de médecine, 10 av de Verdun, 75010 Paris, France ; INSERM CIE 5

³ Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Laboratoire de Microbiologie et Laboratoire associé au Centre National de Référence du Streptocoque A, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; EA 3105 Université Paris Diderot, UFR de médecine, 10 av de Verdun, 75010 Paris, France

Correspondance : Prof. Albert Faye, Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Robert Debré, 48 Bd Sérurier 75019, Paris, France, Tel: 33140035361 - Fax 33140034745, E-mail: albert.faye@rdb.aphp.fr

RÉFÉRENCES

1. Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clinical microbiology reviews* 2000 Jul;13(3):470-511.
2. Davies HD, Matlow A, Scriver SR, et al. Apparent lower rates of streptococcal toxic shock syndrome and lower mortality in children with invasive group A streptococcal infections compared with adults. *The Pediatric infectious disease journal* 1994 Jan;13(1):49-56.
3. Mulla ZD. Clinical and epidemiologic features of invasive group A streptococcal infections in children. *Pediatr Int* 2007 Jun;49(3):355-8.
4. Beall B, Facklam R, Thompson T. Sequencing *emm*-specific PCR products for routine and accurate typing of group A streptococci. *Journal of clinical microbiology* 1996 Apr;34(4):953-8.
5. Schmitz FJ, Beyer A, Charpentier E, et al. Toxin-gene profile heterogeneity among endemic invasive European group A streptococcal isolates. *The Journal of infectious diseases* 2003 Nov 15;188(10):1578-86.
6. Bidet P, Courroux C, Salgueiro C, et al. Molecular epidemiology of the *sil* streptococcal invasive locus in group A streptococci causing invasive infections in French children. *Journal of clinical microbiology* 2007 Jun;45(6):2002-4.
7. Ibia EO, Imoisili M, Pikis A. Group A beta-hemolytic streptococcal osteomyelitis in children. *Pediatrics* 2003 Jul;112(1 Pt 1):e22-6.
8. Lamagni TL, Darenberg J, Luca-Harari B, et al. Epidemiology of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. *Journal of clinical microbiology* 2008 Jul;46(7):2359-67.
9. Stevens DL. Invasive group A streptococcus infections. *Clin Infect Dis* 1992 Jan;14(1):2-11.
10. O'Brien KL, Beall B, Barrett NL, et al. Epidemiology of invasive group A streptococcus disease in the United States, 1995-1999. *Clin Infect Dis* 2002 Aug 1;35(3):268-76.

11. Vlamincx BJ, van Pelt W, Schouls LM, et al. Long-term surveillance of invasive group A streptococcal disease in The Netherlands, 1994-2003. *Clin Microbiol Infect* 2005 Mar;11(3):226-31.
12. Vlamincx BJ, Mascini EM, Schellekens J, et al. Site-specific manifestations of invasive group A streptococcal disease: type distribution and corresponding patterns of virulence determinants. *Journal of clinical microbiology* 2003 Nov;41(11):4941-9.
13. McMillan DJ, Beiko RG, Geffers R, et al. Genes for the majority of group A streptococcal virulence factors and extracellular surface proteins do not confer an increased propensity to cause invasive disease. *Clin Infect Dis* 2006 Oct 1;43(7):884-91.

TABLEAU 1. PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES DÉMOGRAPHIQUES, CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DES PATIENTS AYANT UNE INFECTION INVASIVE À SGA EN FONCTION DES SITES D'INFECTION

CHARACTERISTICS	GROUP I OSTEOARTICULAR INFECTION	GROUP II SOFT TISSUE INFECTION	GROUP III PULMONARY INFECTION	GROUP IV SCTS
<i>N (%) or median [range]</i>				
Demographics				
N (overall %)	15 (53)	7 (25)	3 (11)	3 (11)
Age	2,8 [0,6-17,2]	4,6 [0,9-12,5]	1,2 [0,9-5,3]	1,5 [0,9-14,3]
Sex (M/F)	7/8	5/2	1/2	1/2
Clinical features				
Risk factors				
N (% within group)	9 (60)	5 (71)	2 (67)	3 (100)
- NSAID use	2	2	0	2
- Varicella infection	4	1	1	0
- Cutaneous wound	8	5	2	3
- Minor trauma	3	3	1	2
Previous antibiotic	1	0	1	1
Hemodynamic instability	0	0	1	3
Initial laboratory findings				
WBC count ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	12,1 [5,9-22,9]	19,2 [12,5-28,8]	16,2 [8,9-20,8]	7,2 [5-12,8]
PMN count ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	7,9 [3,9-11,6]	15 [9,3-23]	11,3 [8-12,5]	3,9 [3,7-4]
CRP (mg/l)	76 [13-299]	116 [21-316]	268 [91-349]	291*
Fibrinogen (g/l)	5,6 [4,5-7,2]	8,9 [5,6-9,8]	10,6 [8,8-12,4]	5,6 [4,2-7]
Treatment				
N	15	7	3	2
Duration of antibiotic treatment (days)	44 [7 - 91]	13,5 [0- 66]	46 [44 - 47]	62,5 [33 - 92]
Duration of IV antibiotics (days)	11 [5 - 61]	6,5 [3 - 20]	19 [12 - 31]	55 [18 - 92]
Surgery	9	5	2	2
Immunoglobulin	1	0	0	0
Outcome				
N	15	7	3	3
Duration of fever (days)	5,5 [2 - 24]	4 [1 - 6]	14 [12 - 20]	7,5 [7 - 8]
Duration of ICU stay (days)	0	0	13 [1 - 16]	2 [1 - 15]
Hospitalization (days)	8 [4 - 44]	8 [2 - 39]	27 [13 - 35]	12 [1 - 56]
Hospitalization (days)	12 [1,6-75,6]	1,5 [0,1-22,4]	4,5 [3,8-7,3]	2,1 [0-3,5]
Sequelae	1	2	0	1
Death	0	0	0	1 (on arrival)

* Data available for only 1 patient

TABLEAU 2. DISTRIBUTION DES FACTEURS DE VIRULENCE DES 28 ISOLATS DE SGA EN FONCTION DES TYPE EMM ET DES SITES D'INFECTION

EMM TYPE	NUMBER OF ISOLATES	DIAGNOSTIC GROUP	VIRULENCE FACTOR GENE (+/-)						
			<i>speA</i>	<i>speB</i>	<i>speC</i>	<i>smeZ-1</i>	<i>ssa</i>	<i>sic</i>	<i>silC</i>
1	10	Group I (n=7) Group II (n=1) Group III (n=2)	+	+	-	+	-	+/-*	-
3	3	Group I (n=1) Group III (n=1) Group IV(n=1)	+	+	-	-	+	-	
4	2	Group I (n=1) Group IV(n=1)	-	+	+	+	+	-	+
11	1	Group II (n=1)	-	+	+	-	-	-	-
12	4	Group I (n=2) Group II (n=1) Group IV(n=1)	-	+	+/-**	-	+/-#	-	-
58	1	Group I (n=1)	-	+	-	-	-	-	+
75	1	Group I (n=1)	-	+	-	-	-	-	-
81	1	Group I (n=1)	-	+	-	-	-	-	-
85	1	Group II (n=1)	-	+	-	-	-	-	-
89	1	Group I (n=1)	-	+	+	-	-	-	-
92	1	Group II (n=1)	+	+	-	+	-	-	-
102	1	Group I (n=1)	-	+	-	-	-	-	+
122	1	Group I (n=1)	-	+	-	-	-	-	+
Overall number (%)			14 (50)	28 (100)	6 (21)	13 (46)	6 (21)	9 (32)	5 (18)

Group I: Osteoarticular infections, Group II: Soft tissue infections, Group III: Pulmonary infections, Group IV: SCTS

*positive: n=9/10, **positive: n= 2/4, #positive: n=1/4