

(Fig. 1A). Negative controls were treated with saline only. The nasal swabs were conducted 24 h after the last administration of mupirocin or 40-kDa protein of *L. rubellus*. Swabs were then cultured in phenol red broth at 37 °C. The next day, 10 µL of broth at a concentration of 10⁻¹ CFU/mL were inoculated on CHROMagar, incubated at 37 °C for 24 h, and then bacterial numbers were counted. No colonization of MRSA was observed in negative controls.

For quantification of sIgA levels, mice were sacrificed. Nasal mucosa was scrapped, diluted in 5 mL PBS containing a protease inhibitor cocktail (25 µg/mL) and centrifuged at 12,000 rpm (4 °C) for 15 min. Supernatants were purified with 40% ammonium sulfate. Suspensions were then diluted in 1 mL PBS and used for ELISA of sIgA.¹² All experiments were done in duplicate, resulting in similar findings. The numbers of bacterial colonization and sIgA levels were analyzed by one-way ANOVA, followed by Tukey's post hoc test using StatPlus. Significant differences were accepted when $p < 0.05$.

We identified eleven conserved protein bands from *L. rubellus* (Fig. 1B). Among them, low molecular protein bands (50, 40, 27, 25, and 22-kDa) displayed high concentration profiles. Mupirocin and a high dose of the 40-kDa protein of *L. rubellus* significantly inhibited MRSA colonization ($p = 0.03$ and $p = 0.04$, respectively) in the nasal mucosa of mice (Fig. 1C), thereby implying that the 40-kDa protein of *L. rubellus* was able to eradicate MRSA colonization as effectively as mupirocin. No significant antibacterial activity was observed from the other protein bands (data not shown). Although we failed to show that neither mupirocin nor the 40-kDa protein of *L. rubellus* were able to stimulate sIgA secretion ($p = 0.35$) (Fig. 1D), both groups tended to have higher levels of sIgA, suggesting that the level of sIgA would initially be beneficial to protect the nasal mucosa from MRSA invasion. Altogether, the 40-kDa protein of *L. rubellus* exhibits potent activity anti-MRSA *in vivo*.

Funding statement

None to declare.

Conflict of interest

None to declare.

Acknowledgement

The authors would like to thank to Alif Fakhrurrozi and Budi Darmansyah for their help in this project.

Bibliografía

1. El Aila NA, Al Laham NA, Ayesh BM. Nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among health care workers at Al Shifa hospital in Gaza Strip. BMC Infect Dis. 2017;17:28. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-016-2139-1>.
2. Kruszewska D, Sahl HG, Bierbaum G, Pag U, Hynes SO, Ljungh A. Mersacidin eradicates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a mouse rhinitis model. J Antimicrob Chemother. 2004;54:648–53. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkh387>.
3. Laupland KB, Conly JM. Treatment of *Staphylococcus aureus* colonization and prophylaxis for infection with topical intranasal mupirocin: an evidence-based review. Clin Infect Dis. 2003;37:933–8. <http://dx.doi.org/10.1086/377735>.
4. Mustafa Y, Sahin I, Basak S, Oksuz S, Ozaydin C, Acar S, et al. The investigation of nasal MRSA carriage and colonization of nasopharyngeal pathogens at a primary school in Duzce. Turk J Med Sci. 2007;37:359–65.
5. Lassegues M, Milochau A, Doignon F, Du Pasquier L, Valembois P. Sequence and expression of an *Eisenia fetida*-derived cDNA clone that encodes the 40-kDa fetidin antibacterial protein. Eur J Biochem. 1997;246:756–62. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00756.x>.
6. Kartikaningsih H, Hartati K, Maharani S, Sartika F. Antibacterial activity ethyl acetate extracts of earthworms (*Lumbricus rubellus*, *Eisenia foetida*, *Nereis* spp.) toward *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* *Salmonella typhosa* in vitro. El-Hayah. 2019;7:2. <http://dx.doi.org/10.18860/elha.v7i2.8248>.
7. Ulhaq ZS, Kishida M. Brain aromatase modulates serotonergic neuron by regulating serotonin levels in zebrafish embryos and larvae. Front Endocrinol (Lausanne). 2018;9:230. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2018.00230>.
8. Ulhaq ZS. Brain aromatase modulates cardiac functions in embryonic zebrafish. Int J Vet Sci Med. 2019;7:31–4. <http://dx.doi.org/10.1080/23144599.2019.1675287>.
9. Ulhaq ZS. Dopamine D2 receptor influences eye development and function in zebrafish. Arch Soc Esp Ophthalmol. 2020;95:84–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oftal.2019.11.013>.
10. Ulhaq ZS, Hendyatama TH, Hameed F, Santosaningsih D. Antibacterial activity of *Citrus hystrix* toward *Salmonella* spp. infection. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2020.05.016>. S0213-005X(20)30215-9.
11. Jervis-Bardy J, Boase S, Psaltis A, Foreman A, Wormald PJ. A randomized trial of mupirocin sinonasal rinses versus saline in surgically recalcitrant staphylococcal chronic rhinosinusitis. Laryngoscope. 2012;122:2148–53. <http://dx.doi.org/10.1002/lary.23486>.
12. Wang M, Gong S, Du S, Zhu Y, Rong F, Pan R, et al. The effect of immunoregulation of *Streptococcus lactis* L16 strain upon *Staphylococcus aureus* infection. BMC Microbiol. 2017;17:130. <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-017-1038-y>.

Zulvikar Syambani Ulhaq^{a,b,*}, Anggi Sasmita Kharisma Putri^b, Wahyu Picesa Sila Atmaja^b, Dewi Santosaningsih^b

^a Department of Biochemistry, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang, Batu, East Java, Indonesia

^b Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Brawijaya University/Dr. Saiful Anwar Hospital, Malang, East Java, Indonesia

* Corresponding author.

E-mail address: zulhaq@kedokteran.uin-malang.ac.id (Z.S. Ulhaq).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.08.019>

0213-005X/ © 2020 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Osteomielitis costal por neumococo en lactante vacunado, un caso excepcional



Pneumococcal osteomyelitis of the rib in a vaccinated infant; an exceptional case

La osteomielitis afecta principalmente a los huesos largos de las extremidades inferiores. La localización costal es infrecuente (< 1%). En la localización costal el *Staphylococcus aureus* es el causante de la mayoría de casos, seguido de *Mycobacterium tuberculosis*¹. Hay 3 casos en la literatura producidas por microorganismos del género estreptococo, y únicamente uno por *Streptococcus pneumoniae*².

Se trata de un lactante de 6 meses que acude a urgencias por tumoración costal izquierda, sin antecedente traumático, con febrícula de 37,5 °C 48 h antes de la visita al hospital, afebril actualmente. No posee antecedentes familiares ni personales relevantes. No alergias. Calendario vacunal actualizado, incluyendo 3 dosis de vacuna antineumocócica 13 V (primera dosis lote G64205, segunda G75546), la tercera dosis de vacuna antineumocócica fue administrada 10 días antes (lote G92049). No clínica infecciosa previa salvo pico febril aislado de 38,6 °C sin otra sintomatología, 24 h después de la vacuna antineumocócica. La tumoración se localiza en el 6.º arco costal izquierdo, es dura y dolorosa a la palpación.

Se realiza analítica donde solo destaca leucocitosis de 20.600/mm³ (neutrófilos 40%) y PCR 15 mg/l. Ingresa para completar estudio.

En la radiografía de tórax aparece lesión ósea insuflante en el arco anterior de la 6.^a costilla izquierda; ecografía costal que muestra insuflación de la 6.^a costilla con interrupción de la cortical y contenido hipoeoico y serie ósea sin alteraciones sobreañadidas. La sospecha se centra en tumoración costal u osteomielitis, se inicia tratamiento antibiótico con cloxacilina 150 mg/kg/día y cefotaxima 200 mg/kg/día.

Se realiza TC torácica y con contraste por su mejor visualización de hueso y disponibilidad, pese a la superioridad de la resonancia magnética en esta enfermedad, donde se observa lesión lítica expansiva en 1/3 anterior de la 6.^a costilla izquierda, con destrucción de la cortical, compatible con osteomielitis abscesificada. Se descarta proceso tumoral mediante gammagrafía con Tc-99. Se realiza punción/aspiración de la tumoración, aislándose *Streptococcus pneumoniae* sensible. Se prolongó cefotaxima intravenosa 8 días, con amoxicilina 100 mg/kg/día al alta durante 4 semanas más, con resolución completa.

Se realizó serotipado del neumococo, hallándose serotipo 1 (vacunal). Por este motivo se realizó estudio inmunológico: inmunoglobulinas, C3, C4, CH50, AP50, poblaciones linfocitarias y estudio de respuesta a mitógeno, burst test, respuesta de IL-6 tras estimulación como comprobación de normalidad de vía *Toll-like receptor*; todos ellos dentro de los límites normales. Frotis de sangre periférica sin cuerpos de Howell Jolly. Bazo visualizado en ecografía al ingreso. A los 2 años de vida se realiza estudio de respuesta a vacuna polisacárida, mediante neumococo purificado de la casa comercial Merck®, aumentado los títulos de IgG e IgG2 específica frente a neumococo desde 8,91 mg/dl (prevacuna) a >27 mg/dl (posvacuna) y de 0,95 a >2,4 mg/dl, respectivamente. Actualmente se encuentra asintomático.

El diagnóstico viene dado tanto por la clínica como la radiología, siendo fundamental el cultivo de la secreción purulenta, que descarta otras enfermedades similares como displasias fibrosas e histiocitosis. El hallazgo de *S. pneumoniae* tipo 1 en niño inmunizado previamente, con 3 dosis de vacuna 13-valente hacen este caso aún más relevante, estando la patogenia no bien aclarada.

Existía una fuerte sospecha de que pudiera tratarse de una inmunodeficiencia (ligera elevación de reactantes de fase aguda, escasa fiebre), pero en el estudio realizado no se encontró ninguna alteración.

Destacan los bajos títulos de anticuerpos frente a neumococo a los 2 años, quizás por la escasa «memoria inmunológica» considerándose variante de la normalidad si la posterior producción de anticuerpos aumenta tras estímulo; considerar también que a los 2 años los títulos son inferiores que a edades posteriores^{3,4}. El aumento de 3 veces los títulos es adecuado, más aun considerando los bajos niveles prevacunales en los cuales está descrita una mayor respuesta posvacunal⁵.

Un fallo vacunal podría ser una opción, pese a su escasa frecuencia, menor aún con el serotipo 1. Con la inmunización recibida, 3 dosis de vacuna 13-valente, se obtienen títulos de IgG frente a serotipo 1 en el 96,1%^{6,7}. El fallo vacunal para la vacuna 13-valente sucede en 0,66 casos/100.000 vacunaciones/año^{8,9}. Los serotipos más frecuentes que aparecen tras fallo vacunal son 19F, 19A, 6B y 38¹⁰.

Otra opción hipotética pero plausible podría ser una bacteriemia previa a la tercera dosis de vacuna conjugada, con diseminación hematogena y posterior osteomielitis costal.

Bibliografía

1. Peltola H, Pääkkönen M. Acute osteomyelitis in children. *N Engl J Med*. 2014;370:352–60.
2. Kalouche I, Ghanem I, Kharrat K, Dagher F. Osteomyelitis of the rib due to *Streptococcus pneumoniae*: A very rare condition in children. *J Pediatr Orthop B*. 2005;14:55–60.
3. Daly TM, Hill HR. Use and clinical interpretation of pneumococcal antibody measurements in the evaluation of humoral immune function. *Clin Vaccine Immunol*. 2015;22:148–52.
4. Orange JS, Ballou M, Stiehm ER, Ballas ZK, Chinen J, de la Morena M, et al. Use and interpretation of diagnostic vaccination in primary immunodeficiency: a working group report of the Basic and Clinical Immunology Interest Section of the American Academy of Allergy Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130 Suppl 3:S1–24.
5. Perez E, Bonilla FA, Orange JS, Ballou M. Corrigendum: Specific Antibody Deficiency: Controversies in Diagnosis and Management. *Front Immunol*. 2018;9:450.
6. Public Health-European Commision. Prevenar 13, INN-Pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine (13 valent, adsorbed). Annex 1 Summary of product characteristics [consultado 18 May 2020]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/prevenar-13-epar-product-information_en.pdf.
7. Picazo J, Ruiz-Contreras J, Casado-Flores J, Negreira S, Baquero F, Hernández-Sampelayo T, et al. Effect of the different 13-valent pneumococcal conjugate vaccination uptakes on the invasive pneumococcal disease in children: Analysis of a hospital-based and population-based surveillance study in Madrid Spain, 2007–2015. *PLoS One*. 2017;12:e0172222.
8. Oligbu G, Hsia Y, Folgori L, Collins S, Ladhani S. Pneumococcal conjugate vaccine failure in children: A systematic review of the literature. *Vaccine*. 2016;34:6126–32.
9. Oligbu G, Collins S, Andrews N, Sheppard CL, Fry NK, Slack MPE, et al. Characteristics and Serotype Distribution of Childhood Cases of Invasive Pneumococcal Disease Following Pneumococcal Conjugate Vaccination in England and Wales, 2006–2014. *Clin Infect Dis*. 2017;65:1191–8.
10. Antachopoulos C, Tsolia MN, Tzanakaki G, Xirogianni A, Dedousi O, Markou G, et al. Parapneumonic pleural effusions caused by *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 in children immunized with 13-valent conjugated pneumococcal vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:81–3.

Luis Bachiller Carnicero^{a,*}, Irene García de Diego^b,
María Isabel González Tomé^c y José Tomás Ramos Amador^d

^a Servicio de Pediatría, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

^b Servicio de Pediatría, Hospital Universitario de Getafe, Getafe, Madrid, España

^c Departamento de Infectología Pediátrica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

^d Departamento de Infectología Pediátrica, Servicio de Pediatría, Hospital Universitario de Getafe, Getafe, Madrid, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: luisbachic@hotmail.com (L. Bachiller Carnicero).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.08.021>

0213-005X/ © 2020 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.