

ЗНАЧАЈ АКТИВНОГ ЛАБОРАТОРИЈСКОГ НАДЗОРА НАД ИНВАЗИВНИМ ПНЕУМОКОКНИМ БОЛЕСТИМА У ПРОЦЕНИ ЕФЕКТА ВАКЦИНАЦИЈЕ ПРОТИВ ПНЕУМОКОКНИХ ОБОЉЕЊА У СРБИЈИ

Миљана Дамњановић,¹ Гордана Николић,² Татјана Стојшић²¹ Служба педијатрије Опште болнице „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац, Србија² Служба за медицинску микробиологију са паразитологијом Опште болнице „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац, Србија

THE IMPORTANCE OF ACTIVE LABORATORY SURVEILLANCE OF INVASIVE PNEUMOCOCCAL DISEASES IN ASSESSING THE EFFECTS OF VACCINATION AGAINST PNEUMOCOCCAL DISEASES IN SERBIA

Milijana Damjanović,¹ Gordana Nikolić,² Tatjana Stojić²¹ Paediatric Service of the General Hospital “Dr. Laza K. Lazarević” Šabac, Serbia² Department of Medical Microbiology with Parasitology of the General Hospital “Dr. Laza K. Lazarević” Šabac, Serbia

Сажетак

Подаци о циркулишућим серотиповима *S. pneumoniae* и њиховој резистенцији на антибиотике неопходни су у праћењу сероепидемиологије *S. pneumoniae*. У Србији, иако законом предвиђен, активан надзор над инвазивним пнеумоконим болестима у пракси није заживео. Циљ овог истраживања је да се прикажу инвазивни сојеви *S. pneumoniae* пет година пре и пет година након увођења обавезне пнеумокне вакцинације у Србији и њихова осетљивост на антибиотике у Општој болници „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац и укаже на важност праћења расподеле серотипова и преваленције резистенције на антибиотике. Истраживање је спроведено у Општој болници „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац и обухватило је сву вакцинисану и невакцинисану децу до навршених 18 година живота, код којих је постављена и потврђена дијагноза инвазивне пнеумокне болести, у периоду од 1.1.2013. до 31.12.2022. године. Подаци су сакупљани из електронских историја болести и медицинске документације из микробиолошке лабораторије. Дијагноза је постављана на основу позитивних хемокултура на *S. pneumoniae* који је идентификован на основу стандардних бактериолошких процедура. Капсуларна типизација извршена је у Националној референтној лабораторији (НРЛ) за стрептокок на Институту за микробиологију и имунологију Медицинског факултета у Београду. Осетљивост на антибиотике је испитивана Диск дифузионом методом Е тестом. Током овог десетогодишњег периода регистровано је пет случајева инвазивне пнеумокне болести, идентификована су три различита серотипа (4, 18С, 19А), док је један био нетипабилан. Један изолат је показао осетљивост на све тестиране антибиотике, док су сви остали показали резистенцију на бар један антибиотик из групе беталактама. Код два изолата уочена је удружена резистенција на антибиотике из групе беталактамаских антибиотика и на клиндамицин, док је код једног регистрована удружена резистенција на бензилпеницилин и триметоприм-сулфаметаксазол. Сви тестирани изолати су били осетљиви на макролидне антибиотике, ципрофлоксацин, левофлоксацин, ванкомицин, текопланин и линезолид. У циљу планирања националног програма имунизације и оптимизације протокола лечења неопходан је активан надзор над инвазивним пнеумоконим болестима и циркулишућим серотиповима *S. pneumoniae* у Србији, као и рационалнија примена антибиотика у циљу смањења резистенције.

Кључне речи: *Streptococcus pneumoniae*, имунизација, инвазивна пнеумокна болест, надзор, резистенција

Abstract

Data on the circulating serotypes of *Streptococcus pneumoniae* and their antibiotic resistance are essential in the study of the seroepidemiology of *S. pneumoniae*. In Serbia, although legally mandated, active surveillance of invasive pneumococcal diseases has not been effectively implemented in practice. The aim of this study is to present the invasive strains of *S. pneumoniae* identified five years before and five years after the introduction of mandatory pneumococcal vaccination in Serbia, as well as their antibiotic susceptibility, based on data from the General Hospital “Dr Laza K. Lazarević” in Šabac, and to emphasize the importance of monitoring the serotype distribution and the prevalence of antibiotic resistance. The study was conducted at the General Hospital “Dr Laza K. Lazarević” in Šabac and included all vaccinated and unvaccinated children up to 18 years of age who were diagnosed with and confirmed to have invasive pneumococcal disease during the period from January 1, 2013, to December 31, 2022. Data were collected from electronic medical records and documentation from the microbiology laboratory. Diagnosis was established based on blood cultures positive for *S. pneumoniae*. The bacterium was identified using standard bacteriological procedures. The serotyping of *S. pneumoniae* isolates was performed at the National Reference Laboratory (NRL) for Streptococcus at the Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Belgrade. Antibiotic susceptibility was tested using the disk diffusion method and E-test. During this ten-year period, five cases of invasive pneumococcal disease were registered. Three different serotypes were identified: 4, 18C, and 19A, while one strain was non-typable. One isolate was susceptible to all tested antibiotics, while the others showed resistance to at least one antibiotic from the beta-lactam group. Two isolates exhibited combined resistance to beta-lactam antibiotics and clindamycin, while one demonstrated combined resistance to benzylpenicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole. All tested isolates were susceptible to macrolide antibiotics, ciprofloxacin, levofloxacin, vancomycin, teicoplanin, and linezolid. To effectively plan the national immunization program and optimize treatment protocols, active surveillance of invasive pneumococcal diseases and the circulating *S. pneumoniae* serotypes in Serbia is necessary, as well as more rational use of antibiotics in order to reduce resistance.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, vaccination, invasive pneumococcal disease, surveillance, resistance

Увод

Streptococcus pneumoniae (пнеумокок) је алфа-хемоли- тичка, грам-позитивна, каталаза-негативна диплокока и опортунистички је патоген горњих респираторних пу- тева. Колонизација пнеумококом почиње у првим ме- сецима живота, уобичајена је током детињства, опада са узрастом и представља први корак за настанак пне- умококне болести. Да ли ће доћи до развоја инфекције код колонизованих особа зависи од предиспонирајућих фактора домаћина и вируленције пнеумокока [1].

Најчешће компликације назофарингеалне колонизаци- је пнеумококом код деце су неинвазивне пнеумококне болести – упала средњег уха и параназалних шупљина. Пнеумокок је и водећи узрочник пнеумоније код деце узраста од четири месеца до пет година и други по реду код старије деце и адолесцената [2].

Према дефиницији под инвазивном пнеумококном болешћу (ИПБ) подразумева се клинички дијагности- кована болест потврђена изолацијом *Streptococcus pneumoniae* из примарно стерилних регија [3].

Лечење пнеумококне болести (неинвазивне и инвазив- не) подразумева примену антибиотика. Последњих го- дина примећена је појава резистенције пнеумокока на најчешће коришћене антибиотике који се примењују у терапији пнеумококних болести, како у свету тако и код нас [2, 4, 5, 6].

Увођењем пнеумококне коњуговане вакцине у обаве- зни Календар вакцинације деце млађе од две године у многим земљама широм света, као и код нас, приме- ћен је пад инциденције ИПБ и учесталости резистенци- је пнеумокока на антибиотике [2, 7].

Иако је Правилником о пријављивању заразних боле- сти и посебних здравствених питања („Службени гла- сник РС”, бр. 44 од 9. маја 2017. године и бр. 58 од 27. јула 2018. године) пријављивање ИПБ у Србији законом предвиђено, у пракси није заживело. Такође, и поред тога што је Правилником о врстама и начину спровођења епидемиолошког надзора над заразним болестима и посебним здравственим питањима („Слу- жбени гласник РС”, бр. 3 од 18. јануара 2017. године) предвиђено спровођење активног надзора над ИПБ, надзор није активан. У нашој земљи је од 2009. године започет лабораторијски надзор над ИПБ у Национал- ној референтној лабораторији (НРЛ) за стрептокок на Институту за микробиологију и имунологију Медицин- ског факултета у Београду, који подразумева исључиво волонтерско слање инвазивних изолата пнеумокока. У нашој установи је важност истраживања сероепи- димиологије *Streptococcus pneumoniae* препозната, те се сви изоловани инвазивни сојеви шаљу још од 2013. године. Циљ овог истраживања је да се прикажу инва-

Introduction

Streptococcus pneumoniae (*pneumococcus*) is an al- pha-haemolytic, gram-positive, catalase-negative *diplo- coccus*, and an opportunistic pathogen of the upper re- spiratory tract. The pneumococcal colonization begins in the first months of life, it is common during childhood, de- creases with age and is the first step in the development of pneumococcal disease. Whether or not the infection will develop in a colonized person, depends on the host's pre- disposing factors as well as on the virulence of the pneu- mococcus [1].

The most common complications of nasopharyngeal pneu- mococcal colonization in children are non-invasive pneu- mococcal diseases – middle ear and paranasal cavities infections. Pneumococcus is also the leading cause of pneumonia in children aged four months to five years, and ranked second in older children and adolescents [2].

By its definition, invasive pneumococcal disease (IPD) re- fers to a clinically diagnosed disease confirmed by the iso- lation of *Streptococcus pneumoniae* from primarily sterile regions [3].

Treatment of pneumococcal disease (non-invasive and in- vasive) involves the administration of antibiotics. In recent years, pneumococcus resistance to the antibiotics most commonly used to treat pneumococcal diseases has been observed, both globally and on the national level [2, 4, 5, 6].

With the introduction of the pneumococcal conjugated vaccine into the mandatory vaccination calendar for chil- dren under two years of age in many countries around the world, including our country, a decline in IPD incidence and the incidence of pneumococcal antibiotic resistance has been observed [2, 7].

Despite the fact that the Regulation on Reporting Infec- tious Diseases and Special Health Issues (“Official gazette of the RS” no. 44 dated 9 May 2017 and no. 58 dated 27 July 2018) prescribed a legal obligation of IPD reporting in Serbia, this practice has not taken hold. In addition, even though the Rulebook on the types and methods of imple- mentation of epidemiological surveillance of infectious dis- eases and special health issues (“Official Gazette of the RS” no. 3 dated 18 January 2017) has envisaged active IPD surveillance, this surveillance is not being implement- ed. Laboratory surveillance of IPD was launched in Serbia in 2009, at the National Reference Laboratory (NRL) for streptococcus at the Institute of Microbiology and Immu- nology at the Faculty of Medicine in Belgrade. This surveil- lance consists solely of voluntary submission of invasive pneumococcus isolates. At our institution, the importance of researching the seroepidemiology of the *Streptococ- cus pneumoniae* has been recognised, hence all invasive

живни сојеви *Streptococcus pneumoniae* пет година пре и пет година након увођења обавезне пнеумококне вакцинације и њихова осетљивост на антибиотике, у нашој установи, и укаже на важност праћења расподеле серотипова и преваленције резистенције на антибиотике у планирању националног имунизационог програма и оптимизације терапијских протокола.

Методологија

Истраживање је спроведено у Општој болници „Др Лаза К. Лазаревић“ у Шапцу којој гравитирају деца са Општина Шабач, Коцељева, Владимирци и Богатић у периоду од 1.1.2013. до 31.12.2022. године.

Превакцинални период подразумева период од 1.1.2013. године до 31.12.2017, а период од 1.1.2018. године до 31.12.2022. поствакцинални период.

У истраживање су укључена сва вакцинисана и невакцинисана деца до навршених 18 година, код којих је постављена и потврђена дијагноза ИПБ.

Подаци су сакупљани из електронске медицинске документације и медицинске документације из микробиолошке лабораторије.

Децу смо поделили у три узрасне групе: од 4 месеца до 2 године, од 2 године до 5 година и од 5 година до 18 година.

Дијагноза је постављена на основу позитивних хемокултура на *Streptococcus pneumoniae*.

S. pneumoniae је идентификован на основу стандардних бактериолошких процедура.

Осетљивост на антибиотике је испитивана Диск дифузионим методом и Е тестом – одређивање МИК-а.

Након изолације и идентификације у микробиолошкој лабораторији, сојеви су транспортовани на крвним плочама са порастом изолата до Националне референтне лабораторије (НРЛ) за стрептокок на Институту за микробиологију и имунологију Медицинског факултета у Београду. Уз сваки узорак је послата и пропратна документација која је обухватала следеће податке: лабораторијски евиденциони број, врсту узорка, датум узорковања, узраст и пол пацијента, дијагнозу и резултат теста осетљивости. Одређивање серотипова сојева пнеумокока вршено је реакцијом аглутинације одговарајућим антисерумима за капсуларне полисахариде (*Statens Serum Institut*, Копенхаген, Данска), односно референтном методом реакцијом бубрења капсуле у НРЛ за стрептокок.

Активна имунизација против обољења изазваних *S.*

strains isolated in our institution since 2013 have been submitted. The objective of this study was to present invasive strains of the *Streptococcus pneumoniae* isolated at our institution during five years prior to and five years after the introduction of mandatory pneumococcal vaccination, as well as their antibiotic resistance, and to emphasize the importance of monitoring the serotype distribution and antibiotic resistance prevalence for the planning of a national immunization program and optimisation of therapeutic protocols.

Methodology

The study was conducted at the General Hospital “Dr. Laza K. Lazarević” in Šabac, treating children from the municipalities of Šabac, Koceljeva, Vladimirci and Bogatić, in the period from 1 January 2013 to 31 December 2022.

The pre-vaccination period includes the period from 1 January 2013 to 31 December 2017, while the post-vaccination period was from 1 January 2018 to 31 December 2022.

The study encompassed all vaccinated and unvaccinated children up to the age of 18, in whom IPD was diagnosed and confirmed.

The data was collected from digital medical records and medical documentation from the microbiological laboratory.

The children were classified in three age groups: from 4 months to 2 years, 2 years to 5 years and from 5 years to 18 years of age.

The diagnosis was made based on haemocultures positive to *Streptococcus pneumoniae*.

S. pneumoniae was identified by standard bacteriological procedures.

Susceptibility to antibiotics was tested using the disc diffusion method and the E-test to determine the MIC.

Following isolation and identification at the microbiological laboratory, the strains were transported on blood plates with the isolate cultures to the National Reference Laboratory (NRL) for streptococcus at the Institute of Microbiology and Immunology of the Faculty of Medicine in Belgrade. Each sample was accompanied by documentation containing the following data: laboratory record number, type of sample, date of sampling, age and sex of the patient, diagnosis and susceptibility test result. Identification of pneumococcal serotypes was performed using agglutination tests with the appropriate capsular polysaccharide antisera (*Statens Serum Institut*, Copenhagen, Denmark), or the reference method of the capsule swelling, i.e., quellung reaction, at the NRL for streptococcus.

pneumoniae, у Србији, у Календару је обавезне имунизације све деце рођене од 1.1.2018. године, и спроводила се коњугованим полисахаридним вакцинама против обољења изазваних *S. pneumoniae* (PCV10 – десетовалентна коњугована пнеумококна вакцина; PCV13 – тринаестовалентна коњугована пнеумококна вакцина) код деце узраста од навршених два месеца живота, са три дозе вакцине у размацима не краћим од четири недеље (примарна серија) до навршених шест месеци живота и ревакцинација једном дозом у другој години живота [8].

Добијени подаци анализирани су дескриптивном методом и приказани табеларно.

Етички одбор Опште болнице „Др Лаза К. Лазаревић“ Шабац дао је сагласност за реализацију истраживања.

Резултати

У периоду од 1.1.2013. године до 31.12.2022. године идентификовано је пет случајева ИПБ: код двоје деце у превакцинационом периоду и код троје деце у поствакцинационом периоду.

Троје деце је било женског пола и двоје деце мушког пола.

Двоје деце је било у узрасној групи од 4 месеца до 2 године и троје деце у узрасној групи од 2 године до 5 година.

Три случаја су идентификована током јесених месеци и два случаја током пролећних месеци.

Сва деца су била средњег социо-економског статуса.

Троје деце је било у првим месецима живота храњено адаптираном млечном формулом, а за двоје деце немамо податке о исхрани.

Сва деца су претходно била изложена антибиотцима.

Двоје деце је рођено пре започињања активне имунизације.

Троје деце је рођено након започињања активне имунизације: једно дете је било некомплетно вакцинисано за узраст – примило је иницијалну серију од три дозе десетовалентне коњуговане пнеумококне вакцине (PCV10) без ревакцинације; двоје деце је било комплетно вакцинисано за узраст: једно дете са три дозе десетовалентне коњуговане пнеумококне вакцине (PCV10), а код једног детета је спроведена комбинована вакцинација: три дозе десетовалентне коњуговане пнеумококне вакцине (PCV10) и једна доза тринаестовалентне коњуговане пнеумококне вакцине (PCV13).

Active immunisation against diseases caused by *S. pneumoniae* in Serbia was introduced into the Calendar of Mandatory Immunization for children born after 1 January 2018, and was implemented using conjugated polysaccharide vaccines against diseases caused by *S. pneumoniae* (PCV 10 – the ten-valent conjugated pneumococcal vaccine; PCV 13 – the thirteen-valent conjugated pneumococcal vaccine), in children aged older than two months, with three doses of the vaccine administered with no less than four weeks between doses (the primary series), before six months of age, and a single booster dose at 2 years of age [8].

The data obtained were analysed by the descriptive method and shown in table form.

The Ethical Committee of the General Hospital “Dr. Laza K. Lazarević” Šabac provided their consent for the conduct of this research.

Results

From 1 January 2013 to 31 December 2022, five cases of IPD had been identified: two in children in the pre-vaccination period and three in children in the post-vaccination period.

Three children were female and two were male.

Two children were in the age group from 4 months to 2 years and three children in the age group from 2 years to 5 years.

Three cases were identified during the autumn months and two cases during the spring months.

All children were of a middle-class socio-economic status.

Three children were fed formula in the first months of their lives, and no data on nutrition is available for two children.

All children had previously been exposed to antibiotics.

Two children were born prior to the introduction of the active immunisation program.

Three children were born after the active immunisation program was launched: one child had not been completely vaccinated for their age, having received the initial three-dose series of the ten-valent conjugated pneumococcal vaccine (PVC 10), without the booster dose; two children had been completely vaccinated for their age: one with the three doses of the ten-valent conjugated pneumococcal vaccine (PVC 10) and one with a combined vaccination protocol of three doses of the ten-valent conjugated pneumococcal vaccine (PVC 10) and one dose of the thirteen-valent conjugated pneumococcal vaccine (PVC 13).

One child had had X-ray confirmed pneumonia; one child

Једно дете је имало радиографски верификовану упалу плућа; једно дете је имало удружену упалу средњег уха и радиографски верификовану упалу плућа и троје деце је имало упалу средњег уха.

Ниједно дете није имало коморбидитете.

Епидемиолошке и клиничке карактеристике деце са инвазивном пнеумококном болешћу приказане су у табели 1.

had a joint middle ear infection and X-ray confirmed pneumonia, and three children had middle ear infections.

No children had any comorbidities.

Epidemiological and clinical characteristics of children with invasive pneumococcal disease are shown in Table 1.

Табела 1. Епидемиолошке и клиничке карактеристике деце са инвазивном пнеумококном болешћу у Општој болници „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац

Table 1. Epidemiological and clinical characteristics of children with invasive pneumococcal disease at the General Hospital “Dr Laza K. Lazarević” in Šabac

Карактеристике <i>Characteristics</i>	Број и проценат пацијената (n) <i>Number and percentage of patients (n)</i>
Узраст <i>Age</i>	4 месеца – 2 године / 4 months – 2 years
	2 године – 5 година / 2 years – 5 years
	5 година – 18 година / 5 years – 18 years
Пол <i>Sex</i>	Мушки / Male
	Женски / Female
Сезонска дистрибуција <i>Seasonal distribution</i>	Јесен / Autumn
	Пролеће / Spring
Исхрана у првим месецима живота <i>Nutrition in the first months of life</i>	Мајчино млеко / Breast milk
	АМФ / AMF
	Непознато / Unknown
Претходна изложеност антибиотикима <i>Previous exposure to antibiotics</i>	Да / Yes
	Не / No
Социо-економски статус <i>Social-economic data</i>	Средњи / Middle-class
Вакцинација <i>Vaccination</i>	Рођени пре увођења обавезне имунизације <i>Born before the introduction of mandatory immunization</i>
	Комплетна за узраст (PCV10) <i>Complete for the age (PCV10)</i>
	Комплетна за узраст комбинована вакцинација (PVC10 и PVC13) <i>Complete for the age, combined vaccination (PVC10 and PVC13)</i>
	Некомплетна за узраст (PCV10) <i>Incomplete for the age (PCV10)</i>
Клиничке карактеристике <i>Clinical features</i>	Упала плућа / Pneumonia
	Упала средњег уха / Otitis media
	Упала плућа + упала средњег уха <i>Pneumonia + otitis media</i>
Коморбидитет <i>Comorbidity</i>	

PCV10 – десетовалентна коњугована пнеумококна вакцина
PCV13 – тринаестовалентна коњугована пнеумококна вакцина
АМФ – адаптирана млечна формула

PCV10 – ten-valent conjugated pneumococcal vaccine
PCV13 – thirteen-valent conjugated pneumococcal vaccine
AMF - adapted milk formula

Типизацијом изолованих инвазивних сојева идентификовани су серотипови 4, 18C, 19A, један изолат није могао бити типизиран, те је означен као нетипабилан (НТ).

У периоду пре започињања обавезне имунизације код једног детета идентификован је серотип 18C, док код другог није била могућа серотипизација изолата (нетипабилан).

У периоду након започињања обавезне имунизације идентификована су два серотипа код двоје деце 19A, који није укључен у састав PCV10 којом су ова деца вакцинисана и код једног детета серотип 4 који је укључен у састав PCV10 и PCV13, којима је ово дете вакцинисано.

Серотипови инвазивних изолата приказани су у табели 2.

Табела 2. Серотипови инвазивних изолата у Општој болници „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац

Серогрупа <i>Serogroup</i>	Серотип <i>Serotype</i>	Број и проценат изолата <i>Number and percentage of isolates</i>
4	-	1 (20,0%)
18	C	1 (20,0%)
19	A	2 (40,0%)
НТ <i>NT</i>		1 (20,0%)
укупно <i>Total</i>		5 (100%)

НТ – нетипабилан

Микробиолошко тестирање на антибиотску осетљивост урађено је за све инвазивне изолате *S. pneumoniae*.

Резистенцију на бензилпеницилин су показали сви тестирани изолати 4/4; на ампицилин два од тестирана три изолата; на амоксицилин један од тестирана два изолата; на амоксицилин са клавуланском киселином један од три тестирана изолата; на цефтриаксон је показао резистенцију један од тестираних пет изолата; на цефтазидим један од тестирана два изолата; на клиндамицин два од тестираних пет изолата; на триметоприм-сулфаметаксазол тестиран је један изолат који је показао резистенцију.

Код два изолата уочена је удружена резистенција на антибиотике из групе беталактамских антибиотика и клиндамицин, док је код једног регистрована удружена резистенција на бензилпеницилин и триметоприм-сулфаметаксазол.

Сви тестирани изолати су били осетљиви на макролидне антибиотике, ципрофлоксацин, левофлоксацин,

Serotyping of the invasive strains identified the serotypes 4, 18C and 19A, and one isolate could not be serotyped and was designated as non-typeable (NT).

In the period prior to the mandatory immunisation program, the serotype 18C was identified in one child, while the other sample was impossible to type (non-typeable).

During the initial period of the mandatory immunisation program, two 19A serotypes were found in two children; these strains were not included in the PVC 10 vaccine that had been used to vaccinate the two children; and in one child, typing found serotype 4, which was included in the PVC10 and PVC13 vaccines that the child had been vaccinated with.

The serotypes of invasive isolates are shown in Table 2.

Table 2. Serotypes of invasive isolates at the General Hospital “Dr. Laza K. Lazarević” in Šabac

NT - non-typable

Microbiological testing for antibiotic resistance was performed for all invasive *S. pneumonia* isolates.

All tested isolates, 4/4, showed resistance to benzylpenicillin; two out of three tested isolates showed resistance to ampicillin; one out of three tested isolates was resistant to amoxicillin with clavulanic acid; one out of five isolates to ceftriaxone; one out of two tested isolates to ceftazidime; two of five tested isolates showed resistance to clindamycin; and the one isolate tested for trimethoprim-sulfamethoxazole was found to be resistant.

In two isolates, joint resistance was found to beta-lactam antibiotics and clindamycin, whereas one sample showed joint resistance to benzylpenicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole.

All isolates tested were sensitive to macrolide antibiotics, ciprofloxacin, levofloxacin, vancomycin, teicoplanin and linezolid. The susceptibility of invasive pneumococcal isolates to antibiotics is shown in Table 3.

ванкомицин, теикопланин и линезолид. Осетљивост инвазивних изолата пнеумокока на антибиотике приказана је у табели 3.

Табела 3. Осетљивост инвазивних изолата *Streptococcus pneumoniae* на антибиотике у Општој болници „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац

Table 3. Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* invasive isolates at the General Hospital “Dr. Laza K. Lazarević” in Šabac

Антибиотик <i>Antibiotic</i>	Број и проценат тестираних изолата <i>Number and percent- age of tested isolates</i>	Број и проценат осетљивих изолата <i>Number and percentage of sensitive isolates</i>	Број и проценат резистентних изолата <i>Number and percentage of resistant isolates</i>
Бензилпеницилин / <i>Benzylpenicillin</i>	4 (80,0%)	0	4 (100%)
Ампицилин / <i>Ampicillin</i>	3 (60,0%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)
Амоксицилин / <i>Amoxicillin</i>	2 (40,0%)	1 (50,0%)	1 (50,0%)
Амоксицилин - клавуланска киселина <i>Amoxicillin + clavulanic acid</i>	3 (60,0%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)
Пиперацилин + тазобактам <i>Piperacillin + Tazobactam</i>	1 (20,0%)	1 (100%)	0 (0,0%)
Цефуруксим / <i>Cefuroxime</i>	4 (80,0%)	4 (100%)	0 (0,0%)
Цефтриаксон / <i>Ceftriaxone</i>	5 (100%)	4 (80,0%)	1 (20,0%)
Цефтазидим / <i>Ceftazidime</i>	2 (40,0%)	1 (50,0%)	1 (50,0%)
Цефотаксим / <i>Cefotaxime</i>	4 (80,0%)	4 (100%)	0 (0,0%)
Цефепим / <i>Cefepime</i>	4 (80,0%)	4 (100%)	0 (0,0%)
Имипенем / <i>Imipenem</i>	4 (80,0%)	4 (100%)	0 (0,0%)
Меропенем / <i>Meropenem</i>	4 (80,0%)	4 (100%)	0 (0,0%)
Ертапенем / <i>Ertapenem</i>	2 (40,0%)	2 (100%)	0 (0,0%)
Азитромицин / <i>Azithromycin</i>	1 (20,0%)	1 (100%)	0 (0,0%)
Еритромицин / <i>Erythromycin</i>	2 (40,0%)	2 (100%)	0 (0,0%)
Кларитромицин / <i>Clarithromycin</i>	1 (20,0%)	1 (100%)	0 (0,0%)
Рокситромицин / <i>Roxithromycin</i>	1 (20,0%)	1 (100%)	0 (0,0%)
Клиндамицин / <i>Clindamycin</i>	5 (100%)	3 (60,0%)	2 (40,0%)
Ципрофлоксацин / <i>Ciprofloxacin</i>	1 (20,0%)	1 (100%)	0 (0,0%)
Левифлоксацин / <i>Levofloxacin</i>	1 (20,0%)	1 (100%)	0 (0,0%)
Ванкомицин / <i>Vancomycin</i>	5 (100%)	5 (100%)	0 (0,0%)
Теикопланин / <i>Teicoplanin</i>	3 (60,0%)	3 (100%)	0 (0,0%)
Линезолид / <i>Linezolid</i>	1 (20,0%)	1 (100%)	0 (0,0%)
Триметоприм-сулфаметаксазол <i>Trimethoprim-sulfamethoxazole</i>	1 (20,0%)	0 (0,0%)	1 (100%)

Серотип 4 показао је удружену резистенцију на бензилпеницилин и триметоприм-сулфаметаксазол.

Serotype 4 showed joint resistance to benzylpenicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole.

Серотип 18С је показао осетљивост на све тестиране антибиотике.

Serotype 18S showed susceptibility to all tested antibiotics.

Серотип 19А у једном изолату је показао удружену резистенцију на беталактамске антибиотике и клиндами-

Serotype 19A showed joint resistance to beta-lactam antibiotics and clindamycin in one isolate, while the other showed resistance only to benzylpenicillin. The non-typea-

цин, док је други показао само резистенцију на бензилпеницилин. Нетипабилан инвазивни изолат показао је удружену резистенцију на беталактамске антибиотике и клиндамицин. Осетљивост на антибиотике серотипизираних инвазивних изолата *Streptococcus pneumoniae* приказана је у табели 4.

Табела 4. Осетљивост на антибиотике серотипизираних инвазивних изолата *Streptococcus pneumoniae* у Општој болници „Др Лаза К. Лазаревић” Шабац

Серотип Serotype Антибиотик Antibiotic	4		18C		19A (изолат 1) 19A (isolate 1)		19A (изолат 2) 19A (isolate 2)		нетипабилан Non-typable	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
Бензилпеницилин / Benzylpenicillin		+				+		+		+
Ампицилин / Ampicillin	+					+				+
Амоксицилин / Amoxicillin	+					+				
Амиксицилин - клавуланска киселина Amoxicillin + clavulanic acid	+		+			+				
Пиперацилин + тазобактам Piperacillin + Tazobactam				+						
Цефуросксим / Cefuroxime	+		+		+		+			
Цефтриаксон / Ceftriaxone	+		+		+		+			+
Цефтазидим / Ceftazidime			+			+				
Цефотаксим / Cefotaxime	+		+		+		+			
Цефепим / Cefepime	+		+		+					+
Имипенем / Imipenem	+		+		+		+			
Меропенем / Meropenem	+		+		+		+			
Ертапенем / Ertapenem	+				+					
Азитромицин / Azithromycin							+			
Еритромицин / Erythromycin			+				+			
Кларитромицин / Clarithromycin							+			
Рокситромицин / Roxithromycin							+			
Клиндамицин / Clindamycin	+		+			+	+			+
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin			+							
Левифлокасцин / Levofloxacin			+							
Ванкомицин / Vancomycin	+		+		+		+			+
Теикопланин / Teicoplanin	+		+		+					
Линезолид / Linezolid			+							
Триметоприм-сулфаметаксазол Trimethoprim-sulfamethoxazole		+								

S – сензитиван; R – резистентан

ble invasive isolate showed joint resistance to beta-lactams and clindamycin.

Antibiotic susceptibility of the typed invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates is shown in Table 4.

Table 4. Antibiotic susceptibility of serotyped *Streptococcus pneumoniae* invasive isolates at the General Hospital “Dr. Laza K. Lazarević” in Šabac

S - sensitive; R - resistant

Дискусија

Једини резервоар *Streptococcus pneumoniae* је човек. Пнеумокок се може пренети капљичним путем, директним контактом и преко контаминираних предмета. Преживљавање пнеумокока у спољашњој средини варира од неколико сати до неколико месеци у зависности од услова средине. Трансмисија као и колонизација су већи током сувих, хладнијих месеци и током вирусних инфекција горњих респираторних путева, када је секреција из горњих респираторних путева обилнија. Повећан ризик за развој пнеумококних инфекција имају деца до пете године живота, ризик је повезан са незрелим имунским одговором на полисахариде капсуле пнеумокока и честим контактима са другом децом која су клицоноше, нарочито у већим колективима као што су вртићи [1].

У нашем узорку испитаника сва деца код којих је изолован инвазивни сој *Streptococcus pneumoniae* била су млађа од пет година, а болест је настала током јесени и пролећа.

Инвазивне пнеумококне болести, које носе већи ризик од смртог исхода, настају услед продора пнеумокока кроз епителне и ендотелне баријере у примарно стерилне регије, као што су крв (бектеријемија/сепса), ликвор (менингитис) или преко респираторног епитела у плеуралну течност (емпијем) [2]. Друге манифестације инвазивних инфекција, као што су ендокардитис, перикардитис, септични артритис, остеомијелитис и апсцес мозга, ретко се срећу и углавном настају као компликација пнеумококне бектеријемije [1].

Током прва три месеца живота деца су заштићена од инфекције захваљујући пасивном трансферу антитела са мајке на дете путем плаценте или мајчиног млека. Менингитис се обично јавља у узрасту између 6 месеци и 18 месеци, бектеријемија између 6 месеци и 36 месеци, инфекција костију између 3 месеца и 34 месеца. Упала плућа се јавља обично између 3 месеца и 5 година и око 25% пнеумококних пнеумонија удружено је са бектеријемијом [9].

Бектеријемија, обично без нађеног фокуса инфекције је најчешћа форма ИПБ код деце [2], међутим, у нашем узорку испитаника сва деца код којих је изолован инвазивни сој пнеумокока из крви су имала жариште инфекције као што су упала средњег уха и упала плућа. Није забележен ниједан случај менингитиса, као најтеже форме ове болести, нити инфекције других локализација.

У нашем узорку испитаника ниједно дете није имало коморбидитете, иако је у литератури показано да одре-

Discussion

Humans are the exclusive reservoirs of *Streptococcus pneumoniae*. The pneumococci can be transmitted by droplet transmission, direct contact and via fomites. The survival of the pneumococci in the environment varies from several hours to several months, depending on the environment conditions. Both transmission and colonisation increase during the dry, cold months and with upper respiratory tract viral infections, when respiratory secretions are more abundant. The increased risk of pneumococcal infection is seen in children before age five, with the risk being associated with immature immune responses to pneumococcal capsule polysaccharides and more frequent contact with other children carriers, especially in large groups such as in kindergartens [1].

In the sample of subjects examined in this study, in whom the invasive *Streptococcus pneumoniae* strain had been isolated, all children were under the age of five and the disease developed in autumn and spring.

Invasive pneumococcal diseases, which come with a higher fatality risk, arise as the pneumococci penetrate epithelial and endothelial barriers reaching primarily sterile regions such as blood (bacteraemia/sepsis), liquor (meningitis) or, through the respiratory epithelium, the pleura (empyema) [2]. Other invasive infections manifestations, such as endocarditis, pericarditis, septic arthritis, osteomyelitis and brain abscess are seen rarely and usually arise as complications of pneumococcal bacteraemia [1].

In the first three months of life, children are protected from infection by the passive transfer of their mother's antibodies through placenta or breast milk. Meningitis usually occurs between the ages of 6 months and 18 months, bacteraemia between 6 months and 36 months, bone infection between 3 months and 34 months. Pneumonia usually occurs between 3 months and 5 years and about 25% of pneumococcal pneumonia are associated with bacteraemia [9].

Bacteraemia, most commonly without an identified infection focus, represents the most frequent form of IPD in children [2]; however, in our sample, all children with isolated invasive pneumococcal strains had an identified infection focus, such as otitis media and pneumonia. No cases of meningitis, the most severe form of this disease, or infections of other localizations, were registered.

In our sample, no child had any comorbidities, despite the literature showing that certain conditions such as asthma, chronic lung, heart and kidney diseases, and diabetes [2] carry a higher risk of infection.

ђена стања као што су астма, хроничне болести плућа, срца и бубрега, дијабетес [2] носе већи ризик за настанак инфекције.

Приметили смо и да су сва деца у нашем узорку испитаника претходно била изложена антибиотцима и да она деца за које имамо податке нису била дојена мајчиним млеком, што такође носи већи ризик за настанак ИПБ [2].

Досад је идентификовано преко 100 различитих серотипа пнеумокока од којих су 23 узрочници око 80–90% ИПБ, а њихова дистрибуција значајно варира међу географским регионима [2].

Пре увођења обавезне имунизације коњугованим пнеумококним вакцинама у Србији су водећи узрочници ИПБ у педијатријској популацији били 19F, 14, 6B, 6A, 18C, 23F, 3 и 7F [7, 10, 11] од који је и један, 18C, изолован и у нашој лабораторији, при чему су водећи били 19F и 14.

Након увођења имунизације деце првом коњугованом пнеумококном вакцином (PCV 7) у свету је уочен значајан пад инциденције инвазивних серотипова који су покривени вакцином услед вакциналног притиска (енгл. *vaccine serotype coverage*), смањења назофарингеалног клициноштва, пада стопе морталитета и морбидитета од пнеумококних болести у свим узрасним групама због настанка колективног имунитета и смањења антибиотске резистенције због уклањања циркулишућих инвазивних сојева који су по правилу и најрезистентнији. Међутим, запажен је и пораст невакциналних серотипова тј. серотипова чији капсуларни антигени нису саставни део вакцине – феномен замене серотипова (енгл. *serotype replacement*) те су уведене вишевалентне вакцине које покривају већи број серотипова пнеумокока (PCV 10, PCV 13, PCV 15, PCV 20) [2].

Увођењем обавезне вакцинације деце са PCV 10 и у Србији долази до промене сероепидемиологије *S. pneumoniae*, високо резистентни серотипови чији капсуларни антигени нису у саставу ове вакцине (19A и 3) постају доминантни [7], што је регистровано и у свету [12, 13, 14, 15], те је уведена вишевалентна вакцина PCV 13 у чијем саставу се налазе капсуларни антигени ових серотипова.

Резидуалну пнеумококну болест у популацији у којој се врши обавезна имунизација коњугованим пнеумококним вакцинама углавном узрокују циркулишући сојеви пнеумокока који нису покривени датом вакцином – невакцинални типови, али су регистровани и слушајеви резидуалне пнеумококне болести узроковане вакциналним типовима, односно они чији се капсулар-

It was also observed that all children in our sample had previously been exposed to antibiotics, and that the children for whom nutrition data are available had not been breastfed, which is another risk factor for IPD [2].

Over 100 different serotypes of pneumococci have been identified so far, of which 23 are the causal agents of 80–90% of IPDs, and their distribution varies significantly across geographical regions [2].

Prior to the introduction of mandatory vaccination with conjugated pneumococcal vaccines in Serbia, the leading causative agents of IPD in the paediatric population were 19F, 14, 6B, 6A, 18C, 23F, 3 and 7F [7, 10, 11], one of which, 18C, was also isolated in our laboratory; the leading strains were 19F and 14.

Following the introduction of immunization of children with the first conjugated pneumococcal vaccine (PCV 7), a significant decline in incidence of invasive serotypes covered by the vaccine was observed worldwide, due to vaccinal pressure, reduction in nasopharyngeal carriage, decline in mortality and morbidity rates from pneumococcal disease in all age groups due to collective immunity and decrease of antibiotic resistance due to the removal of circulating invasive strains, which, as a general rule, tend to be the most resistant. However, there has also been an increase in non-vaccine covered serotypes, i.e. serotypes whose capsular antigens are not included in the vaccine – serotype replacement phenomenon, which led to the introduction of polyvalent vaccines with increasing numbers of pneumococcal serotypes covered (PCV 10, PCV 13, PCV 15, PCV 20) [2].

With the introduction of mandatory vaccination of children with PCV 10, the seroepidemiologic landscape of *S. pneumoniae* also changed in Serbia: the highly resistant serotypes whose capsular antigens were not covered by this vaccine (19A and 3) became dominant [7], as was also seen globally [12, 13, 14, 15]. This led to the introduction of the PCV 13 vaccine that included the capsular antigens of these serotypes.

In a population covered by mandatory immunization with conjugated pneumococcal vaccines, the residual pneumococcal disease is mainly caused by circulating pneumococcal strains not covered by the administered vaccine – non-vaccine types. However, cases of residual pneumococcal disease caused by vaccinal types have also been registered, i.e., those caused by strains whose capsular antigens are included in the vaccine (residual vaccine-type disease), even in vaccinated children, as certain serotypes preventable by vaccination continue to circulate in the population.

The vaccine breakthrough phenomenon refers to the de-

ни антигени налазе у саставу вакцине – вакцинални тип резидуалне пнеумококне болести (енгл. *residual vaccine-type disease*) чак и код вакинисане деце јер неки сојеви који су превентабилни вакцинацијом наставаљају да циркулишу у популацији.

Феномен пробоја вакцине (енгл. *vaccine breakthrough*) односи се на настанак резидуалне пнеумококне болести вакциналним типовима пнеумокока код деце која су некомплетно вакцинисана за узраст.

Феномен неуспеха вакцинације (енгл. *vaccine failure*) односи се на настанак резидуалне пнеумококне болести вакциналним типовима пнеумокока код деце која су комплетно вакцинисана за узраст.

Према тренутним подацима из литературе ефикасност вакцине и појава резидуалне пнеумококне болести зависе од имуногености вакцине, дететовог имуног одговора али у највећој мери од броја доза PCV које су планиране националним имунизационим програмом [12, 16], јер се сматра да је за неке серотипове пнеумокока као што су серотип 3, 19 A, 19 F [12, 15], али и серотип 4, чији је пораст инциденције у свету неочекиван и нов [16, 17, 18, 19], а изолован је и у нашој групи испитаника, потребан већи број доза да би имунизована деца развила адекватан ниво протективних антитела за превенцију ИПБ и назофарингеалног клицоноштва.

Занимљиво је што се на нашем, иако екстремно малом узорку, сви горе описани феномени могу учити.

Способност пнеумокока да хоризонталним трансфером размењује генски материјал помаже сојевима да се адаптирају на промене у окружењу, али и да развију резистенцију на дејство антибиотика [20].

Услед прекомерне и некритичне примене антибиотика [21] Србија је пре увођења обавезне имунизације деце PCV имала висок степен комбиноване резистенције инвазивних сојева *S. pneumoniae*, посебно на пеницилин и макролидне антибиотике [4, 5, 6, 11]. Током поствакциналног периода уочен је изванредан пад антибиотске резистенције посебно за беталактамске антибиотике док је за макролиде и даље релативно висок [7].

У нашем узорку испитаника највећи број изолата је показао резистенцију на беталактамске антибиотике, док су на макролиде сви изолати били осетљиви.

Закључак

Увођење обавезне имунизације деце полисахаридним коњугованим вакцинама у Србији од великог је значаја за превенцију пнеумококних болести. Међутим, с обзи-

velopment of residual pneumococcal disease caused by vaccine types in children with incomplete vaccination for their age.

The vaccination failure phenomenon refers to the development of residual pneumococcal disease caused by vaccine pneumococci types in children with complete vaccination for their age.

According to current literature data, vaccine efficiency and residual pneumococcal disease development depend on vaccine immunogenicity, the child's immune response, but mostly on the number of PCV doses planned in the national immunization program [12, 16], as it is believed that certain pneumococcal strains, such as serotypes 3, 19A, 19F [12, 15], but also serotype 4 which is showing a new and unexpected incidence rise [16, 17, 18, 19] and which has been also isolated in our sample group, require a higher number of doses for the immunised children to develop an adequate protective antibody level to prevent IPD and nasopharyngeal carriage.

Interestingly, all of the above phenomena can be observed on our sample, despite its extremely small size.

Pneumococcal ability to exchange genetic material by horizontal transfer helps strains adapt to changes in the environment, but it also helps them develop antibiotic resistance [20].

Prior to the introduction of mandatory immunization of children with PCV, Serbia had a high degree of combined resistance in *S. pneumoniae*, especially to penicillin and macrolide antibiotics [4, 5, 6, 11], due to the excessive and undiscerning antibiotic use [21]. In the period after the introduction of the vaccination program, a certain decline in antibiotic resistance has been observed, in particular for beta-lactams, while the macrolide resistance has remained relatively high. [7]

Most isolates in our sample showed beta-lactam resistance, but all samples were sensitive to macrolides.

Conclusion

The introduction of mandatory immunization of children with polysaccharide conjugated vaccines in Serbia is of great importance for the prevention of pneumococcal diseases. However, given that their effectiveness depends primarily on the seroepidemiologic characteristics of *S. pneumoniae* in the geographical region in question, continuous and systematic surveillance of circulating pneumococcal strains and antibiotic resistance in Serbia is of utmost importance for national immunization program planning and therapeutic protocols optimization. In the prevention of

ром на то да њихова ефикасност превасходно зависи од сероепидемиолошких карактеристика *S. pneumoniae* географског региона на којем се примењује, непрестано и систематично праћење циркулишућих сојева пнеумокока и њихове резистенције на антибиотике на територији Србије од изузетне је важности у планирању националног имунизационог програма и оптимизацији терапијских протокола. У превенцији пнеумококних болести код деце важна је и исхрана мајчиним млеком коју би требало промовисати. У нашој земљи је такође неопходна и рационализација примене антибиотика, посебно код деце.

pneumococcal diseases in children, breast feeding is an important factor that should be promoted. In our country, we also need to improve the rational use of antibiotics, especially in children.

Литература / References

1. Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC. Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion. Nat Rev Microbiol. 2018; 16(6):355–67. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0001-8>.
2. Scelfo C, Menzella F, Fontana M, Ghidoni G, Galeone C, Facciolo NC. Pneumonia and Invasive Pneumococcal Diseases: The Role of Pneumococcal Conjugate Vaccine in the Era of Multi-Drug Resistance. Vaccines (Basel). 2021; 9(5):420. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050420>.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Invasive Pneumococcal Disease (IPD) (Streptococcus pneumoniae) 2017 Case Definition [Internet]. Atlanta (GA): CDC; [cited 2025 May 20]. Available from: <https://ndc.services.cdc.gov/case-definitions/invasive-pneumococcal-disease-2017/>
4. Gajić I, Mijač V, Ranin L, Anđelković D, Radičević M, Opavski N. Invazivni sojevi Streptococcus pneumoniae u Srbiji - osetljivost na antibiotike i serotipovi [Invasive isolates of Streptococcus pneumoniae in Serbia: Antimicrobial susceptibility and serotypes]. Srp Arh Celok Lek. 2013; 141(1-2):48–53. Serbian. <https://doi.org/10.2298/SARH1302048G>
5. Gajić I, Marković M, Kekić D, Popović S, Mijač V, Ranin L, et al. Serotipovi i antimikrobna osetljivost invazivnih sojeva Streptococcus pneumoniae izolovanih u Srbiji od 2012 do 2013. godine [Serotypes and antimicrobial susceptibility of invasive Streptococcus pneumoniae isolated in Serbia in 2012–2013]. Medicinska istraživanja. 2016; 50(2):49–53. Serbian. <https://doi.org/10.5937/MedIst1602049G>
6. Hamzagić F, Ranin J, Gajić I, Opavski N, Ranin L. Distribucija serotipova i osetljivost na antibiotike sojeva Streptococcus pneumoniae izolovanih od pacijenata sa pneumokoknom pneumonijom [Distribution of serotypes and antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae strains isolated from patients with pneumococcal pneumonia]. Med Podml. 2021; 72(4):8–13. Serbian. <https://doi.org/10.5937/mp72-33496>
7. Opavski N, Jovičević M, Kabić J, Kekić D, Gajić I, Study Group For Laboratory Surveillance Of Invasive Pneumococcal Diseases. Effect of Childhood Pneumococcal Conjugate Vaccination on Invasive Disease Serotypes in Serbia. Vaccines (Basel). 2024; 12(8):940. <https://doi.org/10.3390/vaccines12080940>.
8. Pravilnik o Programu obavezne i preporučene imunizacije stanovništva protiv određenih zaraznih bolesti [Regulation on the Program of Mandatory and Recommended Immunization of the Population Against Certain Infectious Diseases]. „Sl. glasnik RS”, br. 65/2020 [Official Gazette of the Republic of Serbia no. 65/2020]. Serbian.
9. Thadchanamoorthy V, Dayasiri K. Review on Pneumococcal Infection in Children. Cureus. 2021; 13(5):e14913. <https://doi.org/10.7759/cureus.14913>.

10. Delic S, Mijac V, Gajic I, Kekic D, Ranin L, Jegorovic B et al. A Laboratory-Based Surveillance Study of Invasive *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae* Diseases in a Serbian Pediatric Population-Implications for Vaccination. *Diagnostics* (Basel). 2021; 11(6):1059. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11061059>.
11. Opavski N, Jovicevic M, Kabic J, Kekic D, Vasiljevic Z, Tosic T et al. Serotype distribution, antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* in the nine-year period in Serbia. *Front Microbiol*. 2023; 14:1244366. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1244366>.
12. Feemster K, Weaver J, Buchwald U, Bannietts N, Cox KS, McIntosh ED et al. Pneumococcal Vaccine Break-through and Failure in Infants and Children: A Narrative Review. *Vaccines* (Basel). 2023; 11(12):1750. <https://doi.org/10.3390/vaccines11121750>
13. Luck JN, Tettelin H, Orihuela CJ. Sugar-Coated Killer: Serotype 3 Pneumococcal Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10:613287. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.613287>
14. Silva-Costa C, Gomes-Silva J, Pinho MD, Friães A, Ramirez M, Melo-Cristino J. Continued Vaccine Break-through Cases of Serotype 3 Complicated Pneumonia in Vaccinated Children, Portugal (2016–2019). *Microbiol Spectr*. 2022; 10(4):e0107722. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01077-22>.
15. Grant LR, Slack MPE, Theilacker C, Vojcic J, Dion S, Reinert RR et al. Distribution of Serotypes Causing Invasive Pneumococcal Disease in Children From High-Income Countries and the Impact of Pediatric Pneumococcal Vaccination. *Clin Infect Dis*. 2023; 76(3):e1062-e1070. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac475>.
16. Bertran M, D'Aeth JC, Abdullahi F, Eletu S, Andrews NJ, Ramsay ME et al. Invasive pneumococcal disease 3 years after introduction of a reduced 1 + 1 infant 13-valent pneumococcal conjugate vaccine immunisation schedule in England: a prospective national observational surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 2024; 24(5):546–56. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00706-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00706-5). Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2024; 24(6):e356.
17. Beall B, Walker H, Tran T, Li Z, Varghese J, McGee L et al. Upsurge of Conjugate Vaccine Serotype 4 Invasive Pneumococcal Disease Clusters Among Adults Experiencing Homelessness in California, Colorado, and New Mexico. *J Infect Dis*. 2021; 223(7):1241–9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa501>.
18. Kellner JD, Ricketson LJ, Demczuk WHB, Martin I, Tyrrell GJ, Vanderkooi OG et al. Whole-Genome Analysis of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 4 Causing Outbreak of Invasive Pneumococcal Disease, Alberta, Canada. *Emerg Infect Dis*. 2021; 27(7):1867–75. <https://doi.org/10.3201/eid2707.204403>.
19. Pérez-García C, Sempere J, de Miguel S, Hita S, Úbeda A, Vidal EJ et al. Surveillance of invasive pneumococcal disease in Spain exploring the impact of the COVID-19 pandemic (2019–2023). *J Infect*. 2024; 89(2):106204. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2024.106204>.
20. Song JY, Nahm MH, Moseley MA. Clinical implications of pneumococcal serotypes: invasive disease potential, clinical presentations, and antibiotic resistance. *J Korean Med Sci*. 2013; 28(1):4–15. <https://doi.org/10.3346/jkms.2013.28.1.4>.
21. Tomas A, Pavlović N, Stilinović N, Horvat O, Paut-Kusturica M, Dugandžija T et al. Increase and Change in the Pattern of Antibiotic Use in Serbia (2010–2019). *Antibiotics* (Basel). 2021; 10(4):397. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040397>



Примљено / Received
15. 6. 2025.

Ревидирано / Revised
28. 8. 2025.

Прихваћено / Accepted
29. 8. 2025.

Кореспонденција / Correspondence

Милијана Дамњановић – Milijana Damnjanović
milijanadamnjanovic77@gmail.com

ORCID

Milijana Damnjanović
<https://orcid.org/0009-0004-7002-0741>
Gordana Nikolić
<https://orcid.org/0009-0004-9927-7444>
Tatjana Stojšić
<https://orcid.org/0009-0005-4982-2579>