СБОРНИК
НАУЧНИ ТРУДОВЕ

XVII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС
ПО КЛИНИЧНА МИКРОБИОЛОГИЯ И ИНФЕКЦИИ
НА БЪЛГАРСКАТА АСОЦИАЦИЯ НА
МИКРОБИОЛОЗИТЕ

София, 9–11 май 2019 г.
Парк-хотел „Москва“

– ГЕНЕРАЛНИ СПОНСОРИ –

Pfizer

gsk

GlaxoSmithKline

MSD

СЪДЪРЖАНИЕ

Сесия I **5**
Отчет за дейността на Националните Референтни центрове
по инфекции с отражение за общественото здраве за 2018 година 5

Сесия II **13**
Микробна лекарствена резистентност 13

Сесия III **17**
Инфекции на респираторния тракт 17

Сесия IV **21**
Сексуално-предавани инфекции 21

Сесия V **23**
Ваксино-предотвратими инфекции 23

Сесия VI **33**
Инфекции, причинявани от храни и води 33

Сесия VII **37**
Векторно-предавани инфекции 37

Сесия VIII **39**
Инфекции, свързани с медицинското обслужване
и при имунодефицитни състояния 39

Сесия IX **43**
Зооантропонози с епидемичен риск. Разни. 43

Постерна сесия 1 ..... **46**

Постерна сесия 2 ..... **60**

Постерна сесия 3 ..... **73**

СЕСИЯ I

Отчет за дейността на Националните Референтни центрове по инфекции с отражение за общественото здраве за 2018 година.

НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР „РЕСПИРАТОРНИ ИНФЕКЦИИ И ТУБЕРКУЛОЗА“ – АНАЛИЗ НА ДЕЙНОСТТА ПРЕЗ 2018–2019

Н.Корсун, Е.Бачийска, М.Николова, А.Курчатова, Н.Бранкова, В.Левтерова, И.Томова, А.Дечева, С.Панайотов, С.Ангелова, А.Минкова, Н.Владимирова, Ю.Атанасова, С.Йорданова, Я.Тодорова, А.Байкова, И.Григорова, С.Волева, И.Трифонова

Цел: Анализ на резултатите от епидемиологичния и лабораторен надзор на инфекциите на респираторния тракт с вирусна и бактериална етиология в България.

Материали и методи: Епидемиологичният анализ на заболяемостта от грип/ОРЗ е извършен въз основа на данните от интернет-базираната Информационна система. През сезон 2018/19 г. за грипни вируси тип А и В са тествани 1551 назофарингеални секрета на пациенти с грипоподобни заболявания/ОРЗ. Респираторни проби на 585 деца на възраст <5 год. и възрастни ≥65 год. са изследвани и спрямо 8 други респираторни вируса. През 2018 г. са извършени микроскопски и културелни изследвания за туберкулоза на 348 пациента и потвърдителни изследвания на 468 щама, изпратени от цялата страна, както и изследвания за лекарствена чувствителност. Осъществена е видова идентификация на нетуберкулозните микобактерии (NTM). Чрез интерферон-гама базиран тест (T.SPOT.TB) е проведено изследване на заразеност с MTB сред изложени на висок риск лица. Чрез молекулярни методи е извършена диагностика за коклюш, паракоклюш, Chlamydophyla *(C.psittaci, C.pneumoniae)* и Mycoplasma *(M.pneumoniae)* и изследване за носителство на *S.pneumoniae*. За легионерска болест са изследвани 53 пациента.

Резултати: Грипен сезон 2018/19 г. се характеризира с по-висока заболяемаст в сравнение с предишния сезон, ко-циркулация на грипни вируси A(H1N1)pdm09 и A(H3N2), доказани в 372 (24%) и 190 (12%) проби, съответно и липса на циркулация на В вируси. Сред негрипните вируси РСВ е най-често доказван – 89 (15%). Изолирани са 43 щама *M.tuberculosis* complex и 7 щама NTM; 380 щама са потвърдени като *M.tuberculosis* complex, а 88 щама са идентифицирани като NTM. Общо 25 туберкулозни щама са определени като MDR, от които 1 щам – като XDR. Сред изследваните лица с висок риск инфекция с MBT е доказана при 34 (42,5%) здравни работници, 3 (37,5%) деца и 1 (10%) пациент с HIV. Положителни резултати за коклюш, паракоклюш, *C.psittaci* и *C.pneumoniae* са получени при 133 (22.9%), 10 (6.5%), 1 (1.6%) и 1 (1.6%) от изследваните пациенти, съответно. Носителство на *S.pneumoniae* е доказано при 438 (67%) изследвани деца на възраст 1–5 год. Легионерска болест е установена при 10 (18.9%) суспектни пациента.

Заключение: НРЦ „Респираторни инфекции и туберкулоза“ интегрира усилията на различни специалисти с цел по-пълното и комплекно проучване на респираторните инфекции и туберкулозата в България.

Ключови думи: грип, РСВ, туберкулоза, коклюш, паракоклюш, легионерска болест

NATIONAL REFERENCE CENTER „RESPIRATORY INFECTIONS AND TUBERCULOSIS“ – ANALYSIS OF ACTIVITY IN 2018–2019

N.Korsun, E.Bachiyska, M.Nikolova, A.Kurchatova, N.Brankova, V.Levterova, I.Tomova, A.Detcheva, S.Panaiotov, S.Angelova, A.Minkova, N.Vladimirova, Y.Atanasova, S.Yordanova, Y.Todorova, A.Baykova, I.Grigorova, S.Voleva, I.Trifonova

Aim: Analysis of the results of epidemiological and laboratory surveillance of respiratory tract infections with viral and bacterial etiology in Bulgaria.

Materials and methods: Epidemiological analysis of the influenza/ARI incidence is done on the basis of data from internet-based information systems. During the 2018/19 season, a total of 1551 nasopharyngeal swabs of patients with influenza-like illness/ARI are tested for influenza type A/B viruses. Respiratory specimens of 585 children aged <5 years and adults ≥65 years are also examined for 8 other respiratory viruses. In 2018, microscopic and culture examination for tuberculosis of 348 patients and confirmation tests of 468 TB strains are performed, as well as testing for drug susceptibility. Species identification of non-tuberculous mycobacteria (NTM) strains is done. Interferon gamma-based test (T.SPOT.TB) for TB infection is conducted among exposed individuals. Molecular testing is performed for pertussis, parapertussis, Chlamydophyla (*C.psittaci*, *C.pneumoniae*), Mycoplasma (*M.pneumoniae*) and *S. pneumoniae*. 53 patients are investigated for Legionnaires disease.

Results: Influenza 2018/19 season is characterized by a higher morbidity of influenza than in the previous season, co-circulation of influenza A(H1N1) pdm09 and A(H3N2) viruses detected in 372 (24%) and 190 (12%) specimens, respectively, and a lack of influenza B viruses. RSV is found in 89 (15%) patients. *M. tuberculosis* complex and NTM are detected in 43 and 7 patients, respectively; 380 strains are confirmed as *M.tuberculosis* complex, 88 strains – as NTM. A total of 25 TB strains are characterized as MDR-TB (1 is XDR). Among the high risk persons, MBT infection is detected in 34 (42.5%) healthcare workers, 3 (37.5%) children, and 1 (10%) patient with HIV. Positive results for pertussis, parapertussis, *C.psittaci* and *C. pneumoniae* are obtained in 133 (22.9%), 10 (6.5%), 1 (1.6%) and 1 (1.6%) of the study patients, respectively. *S. pneumoniae* is identified in 438 (67%) children aged 1–5 years. Legionnaire disease is found in 10 (18.9%) suspect patients.

Conclusions: NRC „Respiratory infections and tuberculosis“ integrates the efforts of various experts for a more complete and comprehensive study of respiratory infections and tuberculosis in Bulgaria.

Keywords: influenza, respiratory-syncytial virus, tuberculosis, pertussis, Legionnaires disease

НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ИНФЕКЦИИ, ПРЕДАВАНИ С ХРАНИ И ВОДИ (НРЦ-ИПХВ), АНАЛИЗ НА ЗАБОЛЯЕМОСТТА, 2018 Г.

Л. Николаева-Гломб[1], А. **Курчатова**[1], И. Райнова[1], М. Карагеоргиев[1], **М. Павлова**[1], Н. Цветкова[1], А. Стоянова[1], И. Георгиева[1], Е. Тасева[1], **Н. Бранкова**[1], Хр. Даскалов[2], Е. Гюрова[2], Г. Крумова-Вълчева[2], **М. Миланов**[2], Г. Матева[2], Г. Николов[1]

1 Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София
2 Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт (НДНИВМИ)

ЦЕЛ: Анализ на заболяемостта от инфекции с хранителен и воден произход в България за 2018 г.

МАТЕРИАЛИ/МЕТОДИ: Използван е годишният анализ на отдел „Епидемиология“ и данните на отделите „Микробиология“, Вирусология“ и „Паразитология“ **на НЦЗПБ и данните на Национален център по безопасност на храните в НДНИВМИ**. Анализът е по нозологични единици съгласно изискванията на Наредба № 21/18.07.2005 г. на МЗ.

РЕЗУЛТАТИ: През 2018 г. чревните инфекции заемат 35,01% от регистрираните случаи на остри заразни болести по хората в страната. Водеща остава групата на острите ентероколити и гастроентерити (81,38% от всички инфекциозни чревни заболявания). Регистрирани са 24 смъртни случая, което е с 2 по-малко в сравнение с 2017 г. (26,67% от всички починали от заразни болести). Общият леталитет за чревните инфекции е 0,14%. Заболяемостта е както следва: ботулизъм – няма регистрирани заболели, гастроентерит/ентероколит – 194,38‰ (206,28‰ през 2017 г.), шигелоза – 3,33‰ (4,34‰ през 2017 г.), йерсиниоза – 0,13‰ (0,24‰ през 2017 г.), кампилобактериоза – 2,72‰ (2,76‰ през 2017 г.), колиентерити (ешерихиози) – 4,35‰ (3,38‰ през 2017 г.), салмонелоза – 8,31‰ (11,21‰ през 2017 г). През 2018 г. няма регистрирани заболели от инфекции, предизвикани от E. Coli, продуциращи *Shiga/Vero* токсини. Регистриран е 1 заболял от коремен тиф от област Варна. Заболяемостта от ротавирусна инфекция е с тенденция за намаление (25,62‰ в сравнение с 40,52‰ през 2017 г.). Екстензинвазията на гиардиазата е 0,26% (0,26% през 2017 г.) от общо 405 885 изследвани лица за тази паразитоза. Обхванатите деца от организирани детски колективи са общо 139 999, от които 333 са диагностицирани с гиардиаза. През отчетната година не са съобщени положителни за критпоспоридиоза лица. В НЦБХ на НДНИВМИ се отбелязва устойчиво нарастване на броя на пробите за изследване по отношение на някои от опасните хранителни патогени. Най-често в хранителни продукти се изолира *S. Infantis*, *S. Typhimurium* и *S. Enteritidis*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Анализът на данните показва, че през 2018 г. общият брой заболели и заболяемостта от чревни инфекции намалява в сравнение с 2017 г. съответно 16840 случая, заболяемост 238,86‰ през 2018 г. и 19087 случая и заболяемост 268,76%000 през 2017 г.

Ключови думи: инфекции предавани с храни и води, анализ, заболяемост.

NATIONAL REFERENCE CENTER FOR FOOD- AND WATERBORNE DISEASES (NRC FWD), MORBIDITY ANALYSIS, 2018

L. Nikolaeva-Glomb[1], *A. Kurchatova*[1], *I. Rainova*[1], *M. Karageorgiev*[1], *M. Pavlova*[1], *N. Tsvetkova*[1], *A. Stoianova*[1], *I. Georgieva*[1], *E. Taseva*[1], *N. Brankova*[1], *H. Daskalov*[2], *E. Gyurova*[2], *G. Krumova-Valtcheva*[2], *M. Milanov*[2], *G. Mateva*[2], *G. Nikolov*[1]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia
[2] National Diagnostic Science-and-Research Veterinary Medical Institute, Sofia

OBJECTIVE. To analyze the incidence rate of food- and waterborne infections in 2018.

MATERIALS AND METHODS. The annual report of the Epidemiology Department and the data obtained from the Microbiology, Virology and Parasitology Deapratments of NCIPD and from The National Center for Food Safety at the NDSRVMI were used to perform the analysis. The analysis includes the infections according to Ordinance № 21/18.07.2005 of the Ministry of Health.

RESULTS. In 2018, enteric infections comprised 35,01% of the totally registered acute infectious diseases among humans in Bulgaria. Acute enterocolitides and gastroenteritides remain the leading enteral infections (81.38%). In 2018, a total of 24 deaths were registered, that is 2 cases less as compared to 2017 (26.67% of all deaths of infectious diseases or 0.14% case fatality rate). Incidence rate of enteric infections is as follows: no botulism, gastroenteritis/enterocolitis 194.38‰ (206.28‰ in 2017), shigellosis 3.33‰ (4.34‰ in 2017), yersiniosis 0.13‰ (0.24‰ in 2017), campylobacteriosis 2.72‰ (2.76‰ in 2017), colienteritis (escherichiosis) 4.35‰ (3.38‰ in 2017), salmonellosis 8.31‰ (11.21‰ in 2017). Infections caused by Shiga/Vero toxin producing E. coli were not registered in 2018. One case of typhoid fever is registered in Varna. Incidence rate of rotaviral gastroenteritis shows a decreasing trend – 25.62‰ (40.52‰ in 2017). Extense invasion of giardiasis was 0.26% (0.26% in 2017) among all 405 885 persons investigated for enteric parasites. The number of investigated children from kindergartens was 139 999 and 333 among them were positive. No cryptosporidiosis cases were registered. A stable increase in the nuber of samples sent to The National Center for Food Safety at NDSRVMI is registered. *S. Infantis*, *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* were the most often detected pathogens.

CONCLUSION. The incidence rate of enteral infections in 2018 decreases as compared to 2017 – 16840 cases and morbidity 238.86‰; and 19 087 cases and morbity 268.76‰, rexpectively.

Key words: food- and waterborne diseases, analysis, incidence rate.

ДОКЛАД НА НАЦИОНАЛНИЯ РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО МИКРОБНА ЛЕКАРСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ И АНТИБИОТИЧНА КОНСУМАЦИЯ

И.Н. Иванов[1], М. Недялков[1], К. Иванова[1], И. Филипова[1], Н. Корсун[1], И. Алексиев[1], С. Ангелова[1], Т. Тенев[1], Р. Харизанов[1], И. Кафтанджиев[1], Н. Владимирова[1], Е. Добрева[1], Р. Христова[1], В. Добринов[1], С. Събчева[2], Х. Даскалов[3], Т. Кантарджиев[1]

1 Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, гр. София
2 Университетска специализирана болница за активно лечение по онкология, гр. София
3 Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт, гр. София

Националният референтен център по микробна лекарствена резистентност и антибиотична консумация интегрира задълбочени проучванията на специалисти в областта на лекарствената резистентност при бактериални, гъбични, вирусни и паразитни причинители на инфекции в обществото, болничните заведения и проблемни изолати в селското стопанство и храните. От националната система за надзор на етиологичната структура на инфекциите, бактериалната резистентност и антибиотичната консумация в България – BulSTAR ще се представят последните тенденции обобщени за 2018 година и оформени след анализ на годишните отчети на над 150 микробиологични лабораториив страната. Събраните данни засягат и въпроси свързани с наблюдаваните необичайни фенотипове при конкретни двойки микроорганизъм/антибиотик и правилното им интерпретиране. Анализират се възможностите за тяхното отстраняване в бъдещата нирутинна дейност.

В тази връзка и с цел синхронизиране на работата на микробиологичните лаборатории с Европейските изисквания, ще се отдели време да се разяснят начините на електронно отчитане на предстоящия първи цикъл на външния контрол на качеството. Ще обсъдим повтарящите се грешки на участниците в интерпретацията на вродената резистентност, както и неприложимостта на даден антибиотик за лечение на конкретен причинител. Ще се обсъдят повтарящите се и чести проблеми при електронното отчитане на контрола и докладването по BulSTAR. Ще се дискутират наскоро публикуваните промени и новости в европейския стандарт EUCAST.

Ще бъдат докладвани последните национални данни за нивата на антиретровирусна резистентност при HIV, резистентността към противогрипни, противо-хепатитни и антипаразитни препаратати, както антимикотичната резистентност.

Ключови думи: BulSTAR, микробна резистентност, EUCAST

REPORT FROM THE NATIONAL REFERENCE CENTER FOR MICROBIAL DRUG RESISTANCE AND ANTIBIOTIC CONSUMPTION

I.N Ivanov[1], M. Nedyalkov[1], K.Ivanova[1], I. Philipova[1], N. Korsun[1], I. Alexiev[1], S. Angelova[1], T. Tenev[1], R. Harizanov[1], I. Kaftandjiev[1], N. Vladimirova[1], E. Dobreva[1], R. Hristova[1], V. Dobrinov[1], S. Sabtcheva[2], H. Daskalov[3], T.Kantardjiev[1]

1 National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia
2 University Specialized Hospital for Active Treatment in Oncology, Sofia
3 National Diagnostic and Research Veterinary Institute, Sofia

The National Reference Center for Microbial Drug Resistance and Antibiotic Consumption integrates in-depth studies from specialists in the field of drug resistance in bacterial, fungal, viral and parasitic agents involved in infections in the community and hospitals as well as antimicrobial resistance in the agriculture and food industry. The National surveillance system of etiological structure of infections, bacterial resistance and antibiotic consumption in Bulgaria – BulSTAR presents with the latest trends summarized up to 2018 and after analysis of annual reports of more than 150 microbiology laboratories. Collected data address the issues related to the registered unusual phenotypes in specific bug-drug combinations with respect to correct interpretation. The means to avoid misinterpretation in our future routine work will be discussed.

In this context and in order to synchronize the work of microbiological laboratories with European requirements, guidelines for the electronic reporting with respect to the upcoming first round of External control of the Quality Management System will be discussed. We will elaborate on the repetitive misinterpretation of intrinsic resistance, inapplicability of a given antibiotic to treat specific infections and what to report when there is insufficient data for an antibiotic in EUCAST. The frequent problems associated with the electronic reporting in BulSTAR will be presented and discussed. The recent major changes and novel categories in EUCAST will be presented and discussed.

The latest national data on the rates of antiretroviral resistance in HIV, anti-influenza and anti-hepatitis drug resistance, as well as antifungal and antiparasitic resistance will be reported.

Keywords: BulSTAR, microbial resistance, EUCAST.

НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ЗООАНТРОПОНОЗИ С ЕПИДЕМИЧЕН РИСК, НОВИ ИНФЕКЦИИ И УПРАВЛЕНИЕ НА БИОРИСКА -2018 (НРЦ ЗЕРНИ-УБ)

Т. Кантарджиев, И. Томова, Р. Ненова, И. Христова, И. Райнова, И. Иванов, П. Генова, Е. Георгиева, Н. Корсун, В. Толчков, Е. Панайотова, И. Трифонова, С. Ангелова, И. Кафтанджиев, Е. Кънева, А. Младжова, Н. Миткова, М. Николова, Т. Лазарова, В. Левтерова, И. Симеоновски

Национален Център по Заразни и Паразитни Болести (НЦЗПБ)

Зооантропонозите са голяма група инфекции, включително заболявания причиняващи епидемични взривове с тежки последствия за общественото здравеопазване. Причинителите на някои зооантропонози са микроорганизми от Рискови Гупи 3 и 4, а част от тях биха могли да се използват като биотерористични агенти. Управлението на биориска, особено ако произтича от такива патогени е от критично значение. Процесите на глобализация от една страна, както и имиграционния натиск от друга изисква особено внимание към способността ни за диагностика и реакция на новооткрити, новопоявяващи се или внос на екзотични за България инфекции.

През 2018г НРЦ ЗЕРНИ-УБ поддържаше готовност за своевременна и компетентна реакция при необходимост от детекция на потенциални биотерористични агенти. Няма потвърдени случаи на антракс при хора в страната. При изследване на 138 пациента бе диагностициран 1 нов случай на бруцелоза. През 2018г са диагностицирани 2 епидемиологично несвързани случая на туларемия. За годината бяха диагностицирани 2 случая на ККХТ и 7- на ХТБС. Отчита се скок в лабораторно доказаните случаи на Западно-Нилска треска – 15 заболели, от които 2 с фатален изход. През 2018 г. са диагностицирани 26 пациента, вкл. ветеринарни специалисти, с остра Ку-треска в 7 региона на страната. Проследени са и 3 пациента с хронична форма на инфекцията с развитие на ендокардит. За годината са диагностицирани 45 пациента с трихинелоза. Регистрирани с 4 взрива на заболяването в областите Бургас (2), Русе и Смолян. Регистрирани са 200 случая на ехинококоза, което отново ни поставя сред „водещите“ в това отношение Европейски страни. Специалисти на НРЦ ЗЕРНИ-УБ са участвали активно в разработването на научни тематики, методични указания за мрежата, наредби на МЗ, експертни съвети. Активно е и сътрудничеството към съответните мрежи на ECDC и WHO. НРЛ в състава на НРЦ ЗЕРНИ-УБ, успешно участваха в международни схеми за оценка качеството на диагностика на зооантропонозни инфекции при хора. Във връзка с повишаване квалификацията на медицинските специалисти са проведени курсове по всички специалности в инфектологията. Разнообразната дейност на НРЦ ЗЕРНИ-УБ през изтеклата година бе популяризирана чрез редица публикации и участия в и конгреси.

Ключови думи: зооантропонози, нови инфекции, управление на биориска

NATIONAL REFERENT CENTER OF ZOONOSES WITH EPIDEMIC RISK, NEW INFECTIONS AND BIOHAZARD MANAGEMENT – 2018 (NRC ZERNI-BM)

T. Kantardjiev, I. Tomova, R. Nenova, I. Christova, I. Rainova, I. Ivanov, P. Genova, E. Georgieva, N. Korsun, V. Tolchkov, E. Panayotova, I. Trifonova, S. Angelova, I. Kaftandjiev, E. Kaneva, A. Mladjova, N. Mitkova, M. Nikolova, T. Lasarova, V. Levterova, I. Simeonovski

National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD)

Zoonoses are a large group of infections, including diseases that may cause outbreaks with severe public health consequences. The causative agents of some zoonoses are microorganisms from Risk Groups 3 and 4 and several of them could be used as bioterroristic agents. Biohazard management, especially if derived from such pathogens is crucial. The globalization and the recent immigration pressure towards our country, require special attention on the diagnostic and responding abilities of the Public Health System with focus on newly discovered, re-emerging or imported exotic infections.

In 2018, NRC ZERNI-BM maintained preparedness for timely and competent reaction for detection of potential bioterrorist agents. There were no confirmed cases of human anthrax in the country. In a study of 138 patients, one new case of brucellosis was diagnosed. Two epidemiologically unrelated cases of tularemia were found in 2018. Two cases of CCHF and 7 of HFRS were diagnosed. A rise in the laboratory-proven cases of West Nile Fever was found – 15 cases, of which 2 with fatal outcome. Twenty-six patients, incl. veterinary specialists, with acute Q fever were diagnosed in 7 country regions during 2018. Three chronic Q fever patients with endocarditis were monitored. A total of 45 persons were diagnosed with Trichinellosis. Four outbreaks of this disease were reported in Burgas (2), Russe and Smolyan districts. There have been 200 cases of Echinococcosis registered in 2018. Those data again placed us among the „leading“ European countries in this respect.

NRC ZERNI-BM experts participated actively in the development of scientific projects, guidelines for the country, Ministry of Health regulations, expert commissions, etc. They were also active collaborators to the respective networks within ECDC and WHO. NRLs from ZERNI-BM participated successfully in several international EQAs. The results from various NRC ZERNI-BM activities during 2018 were presented in a number of articles and congresses.

Key words: zoonoses, new infections, biohazard management

БАКТЕРИАЛНИ, ВИРУСНИ И ПАРАЗИТНИ ВЕКТОР-ПРЕНОСИМИ ИНФЕКЦИИ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2018 Г.

И. Христова, Р.Харизанов, А. Курчатова, Е. Панайотова, И. Трифонова, Т.Гладнишка, П. Генова-Калу, О. Миков, В. Иванова, Е. Тасева, Н. Миткова, С. Буковска, И. Райнова

НЦЗПБ

През 2018 г. бяха регистрирани 599 потвърдени случая на Лаймска борелиоза (402 случая за 2017 г.), 229 случая на Марсилска треска (180 за 2017 г.) и 47 случая на Ку-треска (30 случая за 2017 г.). Доказани бяха 13 болни с вирусни хеморагични трески: 6 случая на Кримска-Конго хеморагична треска ККХТ (2 за 2017 г.) и 7 случая на хеморагична треска с бъбречен синдром (8 случая за 2017 г.). Регистрирани бяха неочаквано висок брой – 15 болни със Западнонилска треска: 8 вероятни и 7 потвърдени случая, както и един пациент с внесена денга инфекция. Регистрирани са 4 смъртни случая от Марсилска треска (3 за 2017 г.), 3 починали от ХТБС, 1 починал от ККХТ и 3 починали от Западнонилска треска. Няма регистрирани смъртни случаи от Ку-треска и Лаймска борелиоза. През 2018 г. продължи участието на специалисти от референтния център по векторни инфекции в Националната програма за профилактика и контрол на векторно-предавани трансмисивни инфекции при хората в Р. България, 2014–2018 г. Във всичките 28 области на страната беше проведен надзор за наличие на азиатския тигров комар *Aedes albopictus*. Установи се присъствието му в 21 области, седем от които са новоинвазирани. При 26 пациента беше доказана остра форма на инфекция от Ку-треска, хоспитализирани в различни клиники на страната. През 2018 г. в страната възникна един епидемичен взрив от Ку-треска в 4 села от района на община Габрово. От изследваните 52 животновъда и ветеринарни лекари, 11 лица са с положителни проби за Ку-треска (PCR и anti-*C. burnetii* ph. II IgM антитела), като от тях едно дете на 10 годишна възраст. При 3 пациента (двама от София и един от Плевен) беше доказана хронична форма на инфекцията с развитие на ендокардит. Заболяване от Марсилска треска беше установено при 19 пациента (17%), от общо 112 изследвани по метода ELISA с определяне на антитела от класовете IgM и IgG, както и чрез двустъпков конвенционален PCR. За първи път от десет години насам не бяха регистрирни случаи на автохтонна висцерална лайшманиоза. Продължава тенденцията ежегодно да се регистрират и случаи на внос на малария. През 2018 г. бяха регистрирани 8 случая на вносна малария, от които 7 първични и 1 случай на рецидив на малария терциана. По три от случаите причинители на заболяването са *P. falciparum,* и *P. VIVAX* (плюс един рецидив), а в един случай като причинител е установен *P. OVALE*. Двама от заболелите са български граждани, а останалите петима са чужди граждани. Случаи на заболяване бяха регистрирани на територията на три области: София (четири първични случая и един рецидив), Хасково (два случая) и Русе (един случай). През годината се регистрираха един случай на внесена висцерална лайшманиоза при български гражданин живеещ в Португалия и три случая на кожна лайшманиоза при мигранти от Афганистан. В ОПТМ към НЦЗПБ е диагностициран случай на дирофилариоза с периорбитална локализация с причинител *Dirofilaria repens*, при пациентка на 36 г. През 2018 г. беше изпитана ефективността на 5 репелента, предназначени за защита на хората от кръвосмучещи членестоноги.

Ключови думи: вектор-преносими инфекции, Лаймска борелиоза, ККХТ, Марсилска треска, Ку-треска, висцерална лайшманиоза

BACTERIAL, VIRAL AND PARASITIC VECTOR-BORNE INFECTIONS IN BULGARIA, 2017

I. Christova, R. Harizanov, A. Kurchatova, E. Panayotova, I. Trifonova, T. Gladnishka, P. Genova-Kalu, O. Mikov, V. Ivanova, E. Taseva, N. Mitkova, S. Bukovska, I. Rainova

NCIPD

A total of 599 confirmed cases of Lyme borreliosis (402 cases in 2017), 229 cases of Mediterranean spotted fever (180 in 2017) and 47 cases of Q-fever (30 cases in 2017) were registered in 2018. A total of 13 patients with viral haemorrhagic fevers were detected: 6 cases of Crimean-Congo hemorrhagic fever (2 in 2017) and 7 cases of hemorrhagic fever with renal syndrome (8 cases for 2017). Unexpectedly high number of patients with West Nile virus infection – 15 patients: 8 probable and 7 confirmed cases were detected as well as a patient with imported dengue infection. There are no recorded deaths from Lyme borreliosis and Q fever. 4 deaths from Mediterranean spotted fever, 3 deaths HFRS, 1 death from CCHF and 3 deaths from WNF were recorded. Specialists from National reference center for vector-borne diseases continue their activities as participants of the National Program for prophylaxis and control of vector-borne infections in Republic of Bulgaria, 2014–2018. A surveillance on the presence of Asiatic tiger mosquito *Aedes albopictus* was conducted in all the 28 regions of the country. The species was found in 21 regions, with seven of them being newly invaded. In 26 patients, an acute form of Q fever infection was demonstrated, hospitalized in different hospitals in the country. In 2018, one epidemic outbreak of Q fever occurred in 4 villages in Gabrovo. Of the 52 breeders and veterinarians surveyed, 11 individuals had positive samples for Q fever (PCR and anti-*C. burnetii* ph. II IgM antibodies), one of them being 10 years old. In 3 patients (two from Sofia and one from Pleven), chronic form of the infection with endocarditis was demonstrated. Mediterranean spotted fever was found in 19 patients (17%), out of a total 112 tested by the ELISA method (IgM and IgG antibodies) and by two-step conventional PCR. For the first time in ten years there were no cases of autochthonous visceral leishmaniasis. Imported cases of malaria continue to appear. In 2018, 8 imported malaria cases were registered, caused by *P. falciparum* (3 cases), *P. VIVAX* (3 cases, *and one relapse)* and *P. OVALE* (one case). Two of the patients are Bulgarians and 5 foreigners. Malaria cases are recorded on the territory of three regions: Sofia (four primary cases and one relapse), Haskovo (two cases), and Ruse (one case). During the year, one case of imported from Portugal visceral leishmaniasis in Bulgarian citizen and tree cases of cutaneous leishmaniasis in migrants from Afghanistan were registered in the country. A case of periorbital dirofilariasis caused by *Dirofilaria repens* in a 36-year-old patient was diagnosed in OPTM at the National Center of Infectious and Parasitic Diseases. In 2018, effectiveness of 5 repellents designed to protect people from blood-borne arthropods was tested.

Key words: vector-borne infections, Lyme borreliosis, CCHF, Mediterranean spotted fever, Q-fever, visceral leishmaniasis

НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР „СЕКСУАЛНО-ПРЕДАВАНИ ИНФЕКЦИИ (СПИ) И ВИРУСНИ ХЕПАТИТИ“

И. Филипова, Т. Тенев, М. Николова, Р. Емилова, З. Иванова, И. Иванов, Е. Шикова, В. Левтерова, И. Симеоновски, Е. Голкочева-Маркова, И.Райнова, Н. Цветкова, И. Алексиев, А. Минкова, А. Курчатова, Н. Владимирова

Националният референтен център (НРЦ) по СПИ и вирусни хепатити е създаден през 2013 г. и функционално обединява експерти от Националната референтна лаборатория по Микози и СПИ, Националната рефрентна лаборатория Молекулярна микробиология, Националната рефрентна лаборатория по Имунология, Националната референтна лаборатория Диагностика на паразитозите, Секция епидемиология и надзор на заразните болести, Националната рефрентна лаборатория Хепатитни вируси, Националната рефрентна лаборатория Херпесни и Онкогенни вируси, Националната рефрентна потвърдителна лаборатория по HIV.

Основна цел на НРЦ по СПИ и вирусни хепатити е осигуряване на интегриран мултидисциплинарен подход (микробиолози, имунолози, вирусолози, паразитолози, епидемиолози) при контрола, диагностиката, превенцията, профилактиката и етиотропното лечение на СПИ и вирусните хепатити, както и осъществяване на ефективно взаимодействие с Министерство на Здравеопазването (МЗ), Регионалните здравни инспекции (РЗИ), Европейския Център за Контрол и Профилактика на заболяванията (ECDC) и Световната Здравна Организация (СЗО).

В тази връзка ще бъдат обобщени и анализирани резултатите от диагностичната дейност, имунологичният мониторинг и епидемиологичния надзор на най-често срещаните сексуално предавани бактериални и вирусни инфекци и паразитози през 2017, както и ще бъдат обсъдени някои от съвременните тенденции при СПИ в Европа и у нас.

NATIONAL REFERENCE CENTER „SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS (STIS) AND VIRUS HEPATITIS“

I. Philipova, T. Tenev, M. Nikolova, R. Emilova, Z. Ivanova, I. Ivanov, E. Shikova, V. Levterova, I. Simeonovski, E. Golkolcheva-Markova, I. Rajnova, N. Tzvetkova, I. Aleksiev, A. Minkova, A. Kurchatova, N. Vladimirova

The National Reference Center for STIs and Viral Hepatitis was established in 2013 and functionally brings together experts from the National Reference Laboratory for Mycology and STIs, the National Reference Laboratory for Molecular Microbiology, the National Reference Laboratory for Immunology, National Reference Laboratory for Diagnosis of parasitoses, Epidemiology and surveillance of infectious diseases unit, National Reference Laboratory for Hepatitis Viruses, National Reference Laboratory for Herpes and Oncogenic Viruses, National Reference confirmatory laboratory for HIV.

The main objective of the Reference Center for Sexually Transmitted Infections and Viral Hepatitis is to provide an integrated multidisciplinary approach (microbiologists, immunologists, virologists, parasitologists, epidemiologists) in the control, diagnosis, prevention, prevention and etiotropic treatment of STIs and viral hepatitis, as well as to implement effective interaction with the Ministry of Health, Regional Health Inspections (RHI), European Center for Disease Control and Prevention (ECDC) and World Health Organization (WHO).

In this regard, the results of the diagnostic activity, immunological monitoring and epidemiological surveillance of the most common sexually transmitted bacterial and viral infections and parasitoses in 2017 will be summarized and analyzed as well as some of the current trends in STIs in Europe and in Bulgaria.

ДЕЙНОСТИ НА НАЦИОНАЛНИЯ РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ИНФЕКЦИИ, СВЪРЗАНИ С МЕДИЦИНСКО ОБСЛУЖВАНЕ (НРЦ-ИСМО) ПРЕЗ 2018Г.

Е. Добрева, Н. Владимирова, И.Н.Иванов, И. Томова, М. Николова, С. Йорданова, Т. Тенев, Е. Голкочева-Маркова, С. Крумова, Л. Николаева-Гломб, А. Дечева, М. Недялков, Р.Христова и К. Иванова

Национален Център по Заразни и Паразитни болести (НЦЗПБ), гр. София

Дейностите на НРЦ-ИСМО за 2018г. са организирани в ключови направления, свързани с ежегодния надзор и анализ на ИСМО; молекулярно-генетични изследвания на бактериални и вирусни причинители с риск за потенциал за здравето на пациенти и медицински персонал; проследяване на вирусно носителство сред медицински лица; обследване на вътреболнични взривове и проучвания, относно процесите на стерилизация и дезинфекция в болнична среда.

ACTIVITIES OF NATIONAL REFERENCE CENTER OF HEALTHCARE- ASSOCIATED INFECTIONS (NRC-HAI) IN 2018

E. Dobreva, N. Vladimirova, I. N. Ivanov, I. Tomova, M. Nikolova, S. Yordanova, T. Tenev, E. Golkocheva-Markova, S. Krumova, L. Nikolaeva-Glomb, A. Detcheva, M. Nedyalkov, R. Hristova and K. Ivanova

National Centre of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia

The main activities of the NRC-HAI in 2018 are organized in key areas related to the annual surveillance and analysis of the healthcare-associated infection (HAI); molecular-genetic approaches of bacterial and viral pathogens with potential risk for patient and medical staff; investigation of hospital outbreaks; viral screening studies among healthcare specialties and performance of surveys on sterilization and disinfection in hospitals.

Извършени са генетични анализи за идентификация и потвърждение на *Clostridium difficile,* като при амбулаторни пациенти положителен резултат е доказан при 11% от изследваните, докато сред лежащо болни достига 58%.

Сред 54.5% от предоставените болнични изолати от страната с фенотипно доказана резистентност към карабапенеми се запазва тенденцията за широко разпространение на клас В карбапенемази. Проучената гликопептидната резистентност сред ентерококи се детерминира от от *VAN A* генотип при 76% от изследваните изолати.

Продължават дейностите по мониториране на вътреболнични легионелни инфекции.

Бързата и адекватна молекулярна идентификация на вирусни патогени като етиологични причинители на ИСМО е неизменна част от приоритетните задачи на референтния център. Обследван е епидемичен взрив от морбили в област Бургас и са потвърдени единични случаи в гр. Ловеч и гр. София. Определен е имунния статус срещу морбили на 52 лица от рискови групи, контактни на потвърдени случаи на морбили. Наличие на защитен морбили IgG титър е доказан при 88% от изследваните.

През 2018г. е проследено носителството на HBsAg и anti HCV **на медицински специалисти от различни здравни и лечебни заведения в страната, и са проведени проучвания на имунитета срещу хепатит В вирусна инфекция при 251 души медицински персонал.**

Извършен е микробиологичен контрол на въздуха в девет операционни зали на три лечебни заведения в страната като е установена по-висока микробна контаминация от допустимата. Разработен е алгоритъм за приложение на бактерицидни UV лампи, с цел подпомагане на дезинфекционните мероприятия в медицинската практика и намаляване риска от възникване на ИСМО.

През 2018г. НРЦ-ИСМО осъществи редица дейности във връзка с функцията на НЦЗПБ като компетентна институция по нозокомиални инфекции към ECDC.

Ключови думи: Инфекции, свързани с медицинското обслужване (ИСМО)

Clostridium difficile genetic analyzes for identification and confirmation were performed as in outpatient a positive result was found in 11%, while in hospitalized patients reached 58%.

The country widespread of class B carbapenemases tendency was maintained in 54.5% of investigated hospital isolates with phenotypically determine carbapenem resistance. The glycopeptide resistance was determined by the *VANA* genotype in 76% of studied enterococci species.

Continue our activities for monitoring of legionella infections in the hospitals.

The rapid and adequate molecular identification of viral agents as suspected etiological agents of healthcare-associated pathogens is invariably part of the priority tasks of the referent center. The measles outbreak was investigated from Burgas region and sporadic confirmed cases in Lovech and Sofia. The immune status against measles was tested among 52 individuals from risk groups contacted with confirmed measles cases. The presence of protected measles IgG titer was demonstrated in 88% of investigated.

The carriage of HBsAg and anti-HCV among medical staff and HBV immunity has been studied in 251 individuals from various healthcare facilities in the country.

The microbiological control of the air was performed in nine operating theaters of three hospitals in the country and high microbial contamination was established. An algorithm for the use of bactericidal UV lamps was developed to help disinfection practices and to prevent and reduce healthcare-associated infections.

In 2018 the NRC-HAI put into practice a number of activities in regard to the NCIPD function as the competent body for healthcare-associated infections to ECDC.

Key words: Healthcare-associated infections (HAI)

НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ВАКСИНОПРЕДОТВРАТИМИ ИНФЕКЦИИ(НРЦ-ВПИ): ГОДИШЕН ДОКЛАД ЗА ДЕЙНОСТТА ПРЕЗ 2018 Г.

Н. Владимирова[1], А. Курчатова[1], Л. Николаева-Гломб[2], С. Крумова[2], А. Стоянова[2], Т.Тенев[2], Е. Маркова[2], Е. Шикова[2], В. Левтерова[3], Н. Бранкова[3], И. Симеоновски[3], А. Дечева[3]

НЦЗПБ, Национален референтен център по ваксинопредотвратими инфекции,

[1] Отдел Епидемиология;

[2] Отдел Вирусология;

[3] Отдел Микробиология

Цел на годишният доклад е да се представи обобщение на работата на НРЦ-ВПИ по епидемиологичния и лабораторния надзор, и профилактиката на ВПИ, по предоставянето на информация за ВПИ към специалисти в здравеопазването, национални и международни здравни организации и институции, и към обществото.

NATIONAL REFERENCE CENTER „VACCINE PREVENTABLE DISEASES“ (NRC-VPD): ANNUAL REPORT ON THE ACTIVITIES IN 2018

N. Vladimirova[1], A. Kurchatova[1], L. Nikolaeva-Glomb[2], S. Ivanova[2], A. Stoyanova[2], E. Markova[2], E. Shikova[2], V. Levterova[3], N. Brankova[3], I. Simeonovski[3], A. Decheva[3],

NCIPD, National Reference Center for Vaccine Preventable Diseases,

[1] Department of Epidemiology and Communicable Diseases Surveillance;

[2] Department of Virology;

[3] Department of Microbiology

Aim of the Annual Report is to present a summary of integrated work activities of the National Reference Center on Vaccine Preventable Diseases (NRC –VPD) in the area of the epidemiological and laboratory surveillance and prevention of vaccine preventable diseases, also communication of VPD information to medical specialists, national and international health institutions and organizations, and to the community.

Материали и методи: събрана и обобщена е информацията относно противоепидемичната, организационно-методичната, научната и учебната дейност на отделите на НЦЗПБ, влизащи в състава на НРЦ. Събрана е информация относно комуникации по темата за ВПИ с участието на експерти от НРЦ. Използван е и снимков материал от научни форуми и от публикации.

Резултати: Извършени са Анализ на ваксинопредотвратимите болести в България (2017 г.) и Анализ на имунизациите и имунизационния обхват с профилактични ваксини в България (2017 г.). Провеждана е текуща референтна лабораторна диагностика за доказване причинители на ВПИ, подлежащи на лабораторен надзор;

Подготвени са и са разпространени информационни материали за Европейската имунизационна седмица в България (2018).

Реализирана е интензивна съвместна дейност с Министерство на здравеопазването, с ECDC и с регионалния офис на СЗО (напр. изработване на раздели от наредби, становища по темата за профилактика и контрол на ВПИ, подаване на текуща и периодична информация от надзора на ВПИ в страната);

Резултатите от научната работа по ВПИ са представени в български научни форуми (10 доклада), публикувани са 2 статии по темата за ВПИ.

Преподавателската работа в областта на следдипломното обучение на експертите от НРЦ-ВПИ е по Програмата за СДО на НЦЗПБ и включва организирането и провеждането на тематични курсове(7) и индивидуално обучение на специалисти по микробиология, вирусология, епидемиология и имунология и алергология.

През цялата година, към обществото, основно чрез електронни медии, се предоставя информация за разпространението на конкретни ВПИ и за начините за предпазване от тях.

Заключение: Широк обхват дейности по отношение контрола, науката, преподаването и обучението в областта на ВПИ бяха проведени през 2018 г. Работата на НРЦ-ВПИ допринася за подобряване на епидемиологичната ситуация в страната при всяка една ВПИ, помага на здравните власти при вземането на решения основани на доказателства, при планирането и подобряването на услугите и действията по превенция и управление на ВПИ.

Ключови думи: ваксинопредотвратими болести, надзор, имунизации

Materials and methods: Information on the preventive, scientific, educational and methodical work of all departments belonging to the NRC is collected and summarized. Information related to participation of NRC experts in communication activities regarding VPD is also collected. Pictures from scientific forums and publications are applied.

Results: All reported vaccine preventable diseases, immunizations and immunization coverage in Bulgaria for 2017 are analyzed;

Results of routine reference lab diagnostics of different etiological VPI agents, subject of lab surveillance are summarized;

Information materials for European Immunization Week (EIW) 2018 were elaborated and shared mainly through electronic media. Activities performed in regard to EIW are collected;

An intensive collaboration with the Ministry of health, ECDC and with the regional office of WHO is realized (e.g. chapters of legislative documents, standpoints on VPD prevention and control issues; currently and periodically preparing, and distribution of information issued by the national VPD surveillance); Scientific work on VPI is presented at national fora (10 reports) and 2 articles are published. Teaching activities of our lecturers are in line with the annual NCIPD Continuous Professional Development education programme for professional training: 7 courses were carried out as well as individual training of microbiologists, virologists, epidemiologists, immunologists and allergologists. Updated information regarding VPD morbidity, prevention and control measures, was disseminated to the community regularly within whole year.

Conclusions: Wide range of activities in regard to VPD control, science, teaching and education were performed in 2018. The work of NRC-VPD contributes to improve the epidemiological situation of each VPD in the country; assists health authorities in making evidence-based decisions; forward planning and improving of services, and interventions for preventing / treating VPDs.

Key words: vaccine preventable diseases, surveillance, immunizations

СЕСИЯ II

Микробна лекарствена резистентност

ИВАЗИВНИ БАКТЕРИАЛНИ ИНФЕКЦИИ – ЕТИОЛОГИЧЕН СПЕКТЪР И АНТИБИОТИЧНА РЕЗИСТЕНТНОСТ – АНАЛИЗ ЗА 2ГОДИШЕН ПЕРИОД

Г. Лазарова[1,2], Х. Дженева[1], Д. Руканова[1], К. Рачкова[1], С. Исенджик[2], П. Георгиева[2], М. Тенева[1,2]

[1] ТУ – Медицински факултет, к-ра „Микробиология и Паразитология“ – Стара Загора
[2] Лаборатория по Клинична микробиология, УМБАЛ „Проф. Д-р Ст. Киркович“ гр. Стара Загора
6000 гр. Стара Загора, ул. „Армейска №11“, ет. 5, к-ра ра „Микробиология и Паразитология“, тел.: 042/696410

Анализирани са данни за бактериални изолати от хемокултури и ликвори за 2 годишен период от УМБАЛ „Проф. Д-р Ст. Киркович“ гр. Стара Загора.

За този период са изследвани общо 459 хемокултури, от които 40 са положителни (8,71 %). Преобладаващи микробни видове са: *CNS* – 10 бр. изолати (25 %), *E. faecalis* -5 бр. изолати (12,5 %), *Acinetobacter baumannii* и *P. aeruginosa* – по 4 бр. изолати (по 10 %)

За същия период са изследвани общо 238 ликворни проби, от които 13 са положителни (5,5 %). Етиологичната структура показва преобладаване на Gram отрицателни бактерии: ГОНФБ (*Acinetobacter baumannii* и *P. aeruginosa*) – 4 бр. изолати (30,7 %) и сем. *Enterobacteriaceae* – 3 бр. изолати (23 %). Следват *L. monocytogenes* – 2 бр. изолати (15,4 %) и Gram положителни коки – 4 бр. изолати (30,7 %), от които *S. pyogenes* – 2 изолата, *S. pneumoniae* – 1 изолат и *S. aureus* – 1 изолат.

Анализирана е антибиотичната резистентност на инвазивните изолати и серотиповата принадлежност на някои от тях (*S. pneumoniae*).

Ключови думи: инвазивни изолати, резистентност;

INVASIVE BACTERIAL INFECTIONS – ETIOLOGICAL SPECTRUM AND ANTIBIOTIC RESISTANCE – 2-YEARS ANALYSIS

G. Lazarova[1,2], H. Djeneva[1], D. Rukanova[1], K. Rachkova[1], S. Isendzhik[2], P. Georgieva[2], M. Teneva[1,2].

[1] Trakia University – Faculty of Medicine, Dept. „Microbiology and Parasitology“ – Stara Zagora
[2] Laboratory of Clinical Microbiology, University Hospital „Prof. Dr. St. Kirkovich „. Stara Zagora
6000 Stara Zagora, 11, Armeyska Str, Dept „Microbiology and Parasitology“,.: 042/696410

SUMMARY

Data on bacterial isolates from bloodcultures and CSFs for a period of 2 years from patients from the University Hospital „Prof. Dr. St. Kirkovich „. Stara Zagora have been analyzed.

A total of 459 specimens of blood were examined; 8.71%. were positive. Predominant microbial species were as follows: CNS – 10 isolates, E. faecalis -5 isolates, Acinetobacter baumannii -4 isolates and P. aeruginosa – 4 isolates.

A total of 238 samples of CSF were tested and 5.5% were positive. The etiological structure shows predominance of Gram negative bacteria as follows: GONFB (Acinetobacter baumannii and P. aeruginosa) – 4 isolates (30.7%) and Enterobacteriaceae – 3. isolates (23%). There were isolated 6 Gram positive strains as follows: L. monocytogenes – 2 isolates (15.4%), S. pyogenes – 2 isolates, S. pneumoniae – 1 isolate (7,7 %) and S. aureus – 1 isolate.

The antibiotic resistance of the invasive isolates and serotyping of some of them (S. pneumoniae) has been analyzed.

Key words: invasive isolates, resistance

ЕТИОЛОГИЧЕН СПЕКТЪР НА ПЕДИАТРИЧНИТЕ БАКТЕРИАЛНИ УНГ-ИНФЕКЦИИ И ПОДХОДИ В АНТИБИОТИЧНОТО ИМ ЛЕЧЕНИЕ

Н. Петров [1], Д. Панайотова [2], Гр. Неофитов[1], Ш. Тете [2], П. Петров[1], Е. Кьолеян [2]

Медицински институт – МВР
[1] Уши-нос гърло клиника;
[2] Отделение по Клинична микробиология

Цел на настоящето проучване е да анализира спектъра на бактериалните причинители на УНГ инфекции в амбулаторната отопедиатрич-

ETIOLOGICAL SPECTRUM OF PAEDIATRIC BACTERIAL ORL – INFECTIONS AND APPROACES IN THEIR ANTIMICROBIAL TREATMENT

N. Petrov [1], D. Panayotova D [2], G. Neofitov [1], Sh. Tete[2], P. Petrov [1], E. Keuleyan[2].

Medical Institute – Ministry of the Interior:
[1] Oto-Rhino-Laryngology – clinic;
[2] Department of Microbiology

The aim of the current study is to analyze the spectrum of bacterial pathogens of ORL-infections in the ambulatory otopaediatric practice, their antimicrobial susceptibility, and indicate the algorithms of their appropriate treatment.

на практика, антибиотичната им чувствителност, и посочи алгоритмите за правилното им антибиотично лечение.

Материали и методи: Ретроспективен анализ на изолираните микроорганизми от клинични УНГ-материали според стандартните процедури и антибиотичната им чудствителност по EUCAST за периода 2016 – 2018 г и прилагане на Препоръките за антибиотично лечение.

Резултати. За 3-годишния период са изолирани 131 щама *Haemophilus influenzae* /водещи причинители от назо-фарингеални секрети/, 135 щама *Streptococcus pneumoniae*, 90 щама *Moraxella catarrhalis*, 145 щама β-haemolytic *Streptococcus* gr. A. (GAS) /водещи причинители от гърлен секрет/. Най-висок относителен дял има резистентността към Erythromycin (и Clindamycin) при стрептококи и *M. catarrhalis,* и към co-trimoxazole, при всички видове. Водещи антибиотици в терапията бяха Amoxicillin/Clavulanic acid, Cefuroxime, както и Penicillin (спрямо GAS).

Изводи: Правилното лечение на УНГ-инфекциите в педиатричната амбулаторна практика се базира на микробиологичното изследване на клинични материали и насочена антибиотична терапия.

Ключови думи: причинители на УНГ-инфекции; антибиотична чувствителност; antimicrobial stewardship

Materials and methods: a retrospective analysis of the isolated organisms from clinical ORL specimens according the standard operating procedures and their antibiotic susceptibility by the EUCAST for the period 2016 – 2018, and the applications of the Guidelines for their usage.

Results. For the 3-year period 131 strains of *Haemophilus influenzae* /leading pathogens in naso-pharyngeal secretions/ have been isolated, 135 strains of *Streptococcus pneumoniae*, 90 strains of *Moraxella catarrhalis*, 145 strains of β-haemolytic *Streptococcus* gr. A. (GAS) /leading pathogens in throat secretions/. Resistance towards Erythromycin (and Clindamycin) had the highest relative rate in streptococci and *M. catarrhalis,* and to co-trimoxazole, in all species. Amoxicillin/ Clavulanic acid and Cefuroxime were the leading antibiotics in therapy, as well as to Penicillin (against GAS).

Conclusions: The appropriate treatment of ORL-infections in paediatric ambulatory practice is based on Microbiology investigation and targeted antibiotic therapy.

Key words: pathogens in ORL-infection; antibiotic susceptibility; antimicrobial stewardship

ПРОУЧВАНЕ IN VITRO АКТИВНОСТТА НА АНТИМИКРОБНИТЕ КОМБИНАЦИИ *CEFTAZIDIME-AVIBACTAM*, *MEROPENEM-VABORBACTAM* И *PLAZOMICIN* ВЪРХУ МНОЖЕСТВЕНО-РЕЗИСТЕНТНИ КЛИНИЧНИ ЩАМОВЕ ACINETOBACTER BAUMANNII И PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Е. Савов,[1], А.Трифонова[1], Кр. Ковачка[2], Е. Кьосева[1], Т.Стратева[3]

[1] Военно-медицинска академия – София,
[2] МБАЛ – Самоков,3 – Медицински Университет – София

РЕЗЮМЕ

Цел: Да се проучи in vitro чувствителността на множествено – резистентни /MDR / щамове Acinetobacter baumannii и Pseudomonas aeruginosa към ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam и plazomicin

Материали и методи: Колекция от 28 MDR щама Acinetobacter baumannii и Pseudomonas aeruginosa, изолирани от клинични материали с определена фенотипна и генотипна характеристика. MIC на ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam и plazomicin бе определена с помощта на E-тест / Liofilchem / Italy, съгласно препоръките на фирмата производител. Интерпретацията на получените резултати бе извършена според изискванията на EUCAST 2019

Резултати: Щамовете A.baumannii са резистентни в 100% към комбинацията ceftazidim-avibactam с MIC 24–256g/L, в 93% към meropenem-vaborbactam и в 86% към plazomicin. Щамовете P. aeruginosa показват чувствителност към комбинацията ceftazidim-avibactam в 50% от щамовете с MIC от 2–8 g/L, 22% чувствителност към meropenem-vaborbactam и plazomicin.

Заключение: Ограничени са възможностите на комбинациите ceftazidime-avibactam и meropenem-vaborbactam като опция за третиране на MDR щамове A.baumannii за разлика от по-добрия ефект на of ceftazidim-avibactam при изследваните щамове P.aeruginosa. Добавянето на vaborbactam не подобрява активността на meropenem по отношение на изследваните от нас щамове

Ключови думи: A.baumannii, P.Aeruginosa, ceftazidim-avibactam, meropenem-vaborbactam, plazomicin

IN VITRO INVESTIGATION THE ACTIVITY OF *CEFTAZIDIM-AVIBACTAM*, *MEROPENEM-VABORBACTAM* COMBINATIONS AND *PLAZOMICIN* ON THE MULTIDRUG-RESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNI AND PSEUDOMONAS AERUGINOSA STRAINS

E. Savov[1], A.Trifonova[1], Kr.Kovachka[2], E.Kioseva[1], T.Strateva[3]

[1] Military Medical Academy, Sofia
[2] MBAL, Samokov
[3] Medical University, Sofia

ABSTRACT

Aim: To investigate in vitro the sensitivity of MDR Acinetobacter baumanni and Pseudomonas aeruginosa strains to ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam and plazomicin

Materials and methods: Collection of 28 MDR A.baumanni and P.aeruginosa strains, isolated from clinical samples with certain phenotypic and genotypic characteristics. MIC of ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam and plazomicin was determined by E-test / Liofilchem / Italy, according to manufacturer's instructions. Interpretation of the Antimicrobial susceptibility testing was done according to EUCAST 2019 criteria

Results: A.baumannii strains tested were 100% resistant to the ceftazidim-avibactam combination with an MIC of 24 – > 256g/L, to meropenem-vaborbactam in 93% and to plazomicin – in 86% respectively. The P.aeruginosa strains tested showed sensitivity to the ceftazidime-avibactam combination in 50% of the strains with an MIC of 2–8 g/L and 22% sensitivity to meropenem-vaborbactam and plazomicin.

Conclusions: The capabilities of ceftazidim-avibactam and merpenem-vaborbactam combinations are limited as an option for the MDR A.baumannii strains treatment in contrast to the better effect of ceftazidim-avibactam combination in P.aeruginosa strains studied. The addition of vaborbactam does not improve the meropenem activity with regard to the strains studied by us.

Key words: A.baumannii, P.Aeruginosa, ceftazidim-avibactam, meropenem-vaborbactam, plazomicin

ПОЯВА И РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА ЕКСТРЕМНО-РЕЗИСТЕНТНИ ЩАМОВЕ *PROVIDENCIA STUARTII* КАТО ВЪТРЕБОЛНИЧНИ ПАТОГЕНИ В ИНТЕНЗИВНИ ОТДЕЛЕНИЯ НА УМБАЛСМ „Н.И. ПИРОГОВ“

М. Лесева[1], Е. Замфирова[1], С. Събчева[2], И. Иванов[3], Ц. Господинова[1], Ц. Чалашканов[1]

[1] Лаборатория по микробиология, УМБАЛСМ „Н.И. Пирогов“;
[2] Микробиологична лаборатория, Университетска специализирана болница за активно лечение по онкология;
[3] Националната референтна лаборатория „Контрол и мониториране на антибиотичната резистентност“, НЦЗПБ.

Цел: Да се характеризира появата и разпространението на вътреболнични патогени от вида Providencia stuartii с екстремна „ин витро“ резистентност към антимикробни препарати в УМБАЛСМ „Н.И. Пирогов“.

Материали и методи: През периода 09.2017г – 12.2018г са изолирани общо 106 щама Providencia stuartii от различни клинични материали (хемокултури, трахео-бронхиални секрети, плеврални ексудати, урокултури и други) при 63 пациента от интензивните отделения на три клиники в Болницата. Изолатите са идентифицирани с рутинни методи и Vitek-2 Compact (Bio-Merieux), а чувствителността „ин витро“ е тествана по дисково-дифузионния метод на Kirby-Bauer. Продукцията на метало-бета-лактамаза (MBL) е анализирана чрез метода Mastdiskscombi Carba Plus (Mast Group Ltd). Генетично изселдване на три изолата е извършено в Националната референтна лаборатория „Контрол и мониториране на антибиотичната резистентност“.

Резултати: В началото на периода на проучване щамовете са с интермедиерна чувствителност „ин витро“ към меропенем и чувствителни към амикацин. В края на периода се установяват два фенотипа: чувствителни само към амикацин и напълно резистентни към всички тествани антимикробни препарати. Молекулярното изследване показа, че те са носители на кодиращия MBL VIM ген, отговорен за резистентността към карбапенеми.

Заключение: Широкото разпространение на множествено-резистентни Грам-негативни патогени, причиняващи тежки и трудно-лечими вътреболнични инфекции, наложи завръщането в клиничната практика на полимиксиновия антибиотик колистин и нарастващата му употреба. Едно от неблагоприятните последствия от това е селекцията на щамове от бактериални видове с вродена резистентост към колистин като нови вътреболнични патогени. Някои от тях, какъвто е случаят с разпространените в УМБАЛСМ „Н.И. Пирогов“ щамове Providencia stuartii, притежават множество механизми на резистентност и представляват изключително сериозно предизвикателство за контрола и терапията на причинените от тях инфекции.

Ключови думи: Providencia stuartii, колистин-резистентни Грам(–) бактерии.

EMERGENCE AND DISSEMINATION OF EXTREME-RESISTANT STRAINS *PROVIDENCIA STUARTII* AS NOSOCOMIAL PATHOGENS IN INTENSIVE CARE UNITS OF UMHATEM „N.I. PIROGOV“

M. Leseva[1], E. Zamfirova[1], S. Sabtcheva[2], I. Ivanov[3], Tz. Gospodinova[1], Tz. Chalashkanov[1]

[1] Laboratory of Microbiology, UMHATEM „N.I. Pirogov“;
[2] Laboratory of Microbiology, University Specialised Hospital for Active Treatment in Oncology;
[3] National Reference Laboratory for Control and Monitoring of Antibiotic Resistance, NCIPD.

Aim: To characterize the emergenece and dissemination of nosocomial strains Providencia stuartii with extreme „in vitro“ resistance to antimicrobial agents in UMHATEM „N.I. Pirogov“.

Materials and Methods: A total of 106 strains Providencia stuartii from diverse clinical specimens (blood cultures, tracheo-bronchial secretions, pleural exudates, urine cultures and others) were isolated in 63 patients from intensive care units of three different clinics of the hospital during the period September 2017 – December 2018. The identification of the isolates was done using routine methods and Vitek-2 Compact (Bio-Merieux) and the „in vitro“ susceptibility was tested by Kirby-Bauer disk-diffusion method. Metal-beta-lactamase (MBL) production was analyzed using Mastdiskscombi Carba Plus method (Mast Group Ltd). Three isolates were genetically explored in the National Reference Laboratory for Control and Monitoring of Antibiotic Resistance.

Results: In the beginning of the study period the strains expressed intermedial susceptibility „in vitro“ to meropenem and susceptibility to amikacin. In the end of the period two phenotypes were found: one susceptible only to amikacin and another – fully resistant to all antimicrobial agents tested. The molecular assay revealed that the strains carry the MBL-encoding gene VIM, that is responsible for the carbapenem resistance.

Conclusion: The broad dissemination of multidrug-resistant Gram-negative pathogens causing severe and difficult to treat nosocomial infections forced return of the polimixin antibiotic colistin to clinical practice and its increasing use. An adverse consequence of this is the selection of strains from bacterial species with intrinsically resistance to colistin as new nosocomial pathogens. Some of them, as is the case with the strains Providencia stuartii, disseminated in UMHATEM „N.I. Pirogov“, possess multiple resistance mechanisms and are exclusively serious challenge for the control and therapy of the infections they cause.

Keywords: Providencia stuartii, colistin-resistant Gram-negative bacteria.

ГЛОБАЛЕН МОНИТОРИНГ НА АНТИМИКРОБНАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ ПОСРЕДСТВОМ МЕТАГЕНОМЕН АНАЛИЗ НА ГРАДСКИ ОТПАДЪЧНИ ВОДИ – ПРЕДСТАВЯНЕ НА РЕЗУЛТАТИ ОТ ПИЛОТНАТА ФАЗА НА GLOBAL SEWAGE PROJECT

И.Н. Иванов[1], R. Hendriksen[2], The Global Sewage Surveillance project consortium[3]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ)
[2] Национален институт по храните, Датски технически университет (ДТУ)
[3] The Global Sewage Surveillance project consortium

Увод:. Канализационните системи са признати за важен източник на човешки патогени, особено в пренаселени райони с лоша инфраструктура. Метагеномното секвениране на проби от градска канализация и количественото определяне на гени асоциирани с антимикробна резистентност (AMR гени) и остатъчни антибиотици, комбинирано с епидемиологични данни, е нов подход за определяне на появата и тежестта на резистентността при определени здрави човешки популации.

Проектът „Глобален надзор на канализационни води (Global Sewage Surveillance-GSS)" се осъществява с подкрепата на СЗО. Резултатите от него ще послужат като доказателство за прилагане на метагеномни подходи, които биха могли да инициират глобален мониторинг на инфекциозните заболявания, включително антимикробната резистентност.

Цел: Представяне на основните резултати от пилотната фаза на проекта Global Sewage Surveillance с акцент върху данните за България

Материали и методи: Изследвани бяха композитни проби събирани непосредствено преди пречистване на канализационни води от 74 големи градове в 60 държави на територията на шест континента. Анализите са извършени в ДТУ. Използвано е високо продуктивно новогенерационно секвениране (HiSeq, Illumina), като от всяка проба са генерирани средно 120 млн. прочита (>1.4 Tb). Анализът на остатъчните количества антибиотици е извършен посредством течна хроматография и тандемна масспектрометрия (LC-MS/MS). Извършено е картиране на данните посредством QGIS и спрямо различни икономически индикатори.

Резултати и дискусия: Подобно на резултатите от други метагеномни проучвания едва 32% от получените секвенции бяха отнесени към познати организми като гените асоциирани с AMR възлизаха приблизително на 0.03%. Най-големи количества AMR гени се регистрираха в африканските страни, а най-ниски в Австралия и Нова Зенландия. Данните сочат, че въпреки установената положителна корелация между остатъчното количество от даден клас антибиотици във водите и количеството AMR гени асоциирани конкретно с този клас, общата консумация на антибиотици не корелира с установените нива на AMR гени. Преобладаващите гени установени за България са предимно асоциирани с резистентност към макролиди (*msr*, *mph,ermB)*, пеницилини (*blaOXA* cluster 8) и аминогликозиди [ant(3'')-Ih-aac(6')-IId], което се наблюдава и в повечето страни от ЕС.

Заключение. Настоящето пилотно проучване показва за пръв път, че данните от метагеномния анализ на канализационни води в съчетание с епидемиологични, икономически и демографски данни може да бъде изключително информативен подход за за откриване, контрол, предотвратяване и прогнозиране на инфекциозни заболявания при хората.

Ключови думи: метагеномен анализ, антимикробна резистентност, антибиотици

GLOBAL MONITORING OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE THROUGH METAGENOMIC ANALYSIS OF URBAN WASTEWATER – RESULTS OF THE GLOBAL SEWAGE PROJECT PILOT PHASE

I. N. Ivanov[1], Hendriksen R.[2], The Global Sewage Surveillance project consortium[3]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD)
[2] National Food Institute, Danish Technical University (DTU-Food)
[3] The Global Sewage Surveillance project consortium

Introduction:. Sewer systems are recognized as an important source of human pathogens, especially in crowded areas with poor infrastructure. Metagenome sequencing of samples from urban sewage and quantification of genes associated with antimicrobial resistance (AMR genes) and residual antibiotics combined with epidemiological data, is a new approach for determining the incidence and severity of resistance in certain healthy human populations.

The „Global Sewage Project" (Global Sewage Surveillance-GSS)" is supported by the WHO. The results will serve as proof of concept for application of metagenomic approaches that could initiate global monitoring of infectious diseases, including antimicrobial resistance.

Objective: Presentation of the main results of the pilot phase of the Global Sewage Surveillance focusing on data for Bulgaria

Materials and methods: Composite samples of sewage were collected immediately prior to purification from 74 cities in 60 countries within six continents. All assays were performed in DTU. Using high throughput sequencing (HiSeq, Illumina), from each sample were generated an average of 120 million reads (>1.4 Tb). The analysis of antibiotic residues was carried out by liquid chromatography and tandem mass spectrometry (LC-MS / MS). Mapping of data was performed by a QGIS and to various economic and demographic indicators.

Results and discussion: Similar to other metagenomic studies only 32% of the obtained sequences were referenced to known organisms whereas as genes associated with AMR amounted to approximately 0.03%. The most abundant AMR genes were registered in African countries, a lowest in Australia and New Zealand. The data show that although a positive correlation between the residual quantity of a given class of antibiotics in the water and the amount of AMR genes associated with this particular class was observed, the total consumption of antibiotics does not correlate with established levels of AMR genes. Dominant genes identified for Bulgaria were mainly associated with resistance to macrolides (*msr, mph, ermB*), betalactams (blaOXA cluster 8) and aminoglycosides [*ant(3'')-Ih-aac(6')–IId*], which is also seen in most EU countries.

Conclusion. This pilot study shows for the first time that data from metagenomic analysis of sewage combined with epidemiological, economic and demographic data can be very informative approach for detection, control, prevention and prediction of infectious diseases in humans.

Keywords: metagenome analysis, antimicrobial resistance, antibiotics

INVITED SPEAKER'S LECTURE

UTILIZATION OF MALDI TOF IN CLINICAL MICROBIOLOGY: BEYOND IDENTIFICATION

СЕСИЯ III

Инфекции на респираторния тракт

БЪРЗА СИНДРОМНА МИКРОБИОЛОГИЧНА ДИАГНОСТИКА НА РЕСПИРАТОРНИ ИНФЕКЦИИ С МУЛТИПЛЕКСЕН PCR

М. Мурджева[1,2,3], Г. Ленгерова[1], Й. Калчев[1,2], П. Гарджева[1,2], Е. Христова[4]

[1] Катедра Микробиология и Имунология, Фармацевтичен факултет, Медицински Университет – Пловдив
[2] Лаборатория по Микробиология, УМБАЛ „Св. Георги“– Пловдив
[3] Технологичен център по спешна медицина-Пловдив
[4] Катедра Социална медицина и обществено здраве, Факултет по Обществено здраве, Медицински Университет – Пловдив

Цел: Да се анализират възможностите за бърза микробиологична диагностика на респираторни инфекции чрез мултиплексен PCR.

Материали и методи: 83 клинични материала (гърлен, назофарингален секрет, храчка, ендотрахеален и БАЛ) от пациенти на УМБАЛ „Св. Георги“ – Пловдив бяха изследвани микробиологично с два панела на мултиплексен PCR (FilmArray, BioMerieux). Чрез FilmArray Respiratory Panel се доказват от една проба за 70 минути (едновременно) 17 вируса и 3 бактерия. С FilmArray Pneumonia panel освен 15 бактерии, 8 вируса и 3 атипични бактерии, могат да се установят и 8 гени за резистентност към антибиотици. Резултатите бяха сравнени с рутинни микробиологични методи.

Резултати: Всички постъпили материали бяха от хоспитализирани пациенти, селектирани по клинико-лабораторни данни и симптоми за дихателна инфекция от горни и/или долни дихателни пътища. С респираторния панел бяха изследвани 53 гърлени или назофарингеални секрета от пациенти на средна възраст 19.0 ±3.37 години. При 32 (60,38 %) се доказа патоген, като при 7 (21,87%) се установи повече от един. Най–често доказаните микроорганизми бяха Human Rhinovirus/Enterovirus (29.6 %), RSV (29.6 %), Influenza A virus (22.2 %) и *B. pertussis* (7.4%). С другия панел бяха изследвани 30 проби (ендотрахеален секрет, храчка или БАЛ) от пациенти с данни за пневмония и средна възраст 41.66±5.45 години. При 24 бяха доказани патогени. mPCR Pneumonia panel доказа 34 (73,9 %) бактерии и 12 (26.1 %) вируси от положителни материали. В 44% резултатите се потвърдиха със стандартните микробиологични методи. Най-честите бактериални причинители бяха *P. aeruginosa* (12.5 %), *S. pneumoniae* (10.4 %), *S. aureus* (10.4 %), *H. influenzae* (7.7 %), а от вирусите- Human Rhinovirus/ Enterovirus (14,6 %) и Adenovirus (6.3 %). При 13 (43,3 %) болни се доказа повече от един патоген. В 14 случая PCR показа наличие на гени за антибиотична резистентност, 10 от които бяха потвърдени културелно.

Заключение: Мултиплексният PCR е с по-висока чувствителност, сравнена с културелните методи. Възможността за бързо комплексно изследване на вируси и бактерии улеснява избора на адекватна терапия и ненужното използване на антибиотик при вирусни инфекции.

Ключови думи: мултиплексен PCR, респираторни инфекции, гени за антибиотична резистентност

RAPID SYNDROME MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF RESPIRATORY INFECTIONS BY MULTIPLEX PCR

M. Murdjeva[1,2,3], G. Lengerova [1], Y. Kalchev[1,2], P. Gardjeva[1,2], E. Hristova [4]

[1] Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Plovdiv
[2] Laboratory of Microbiology and Immunology, St. George University Hospital, Plovdiv, Bulgaria
[3] Technological Center for Emergency Medicne-Plovdiv
[4] Department of Social Medicine and Public Health, Faculty of Public Health, Medical University – Plovdiv

Aim: To analyze the possibilities for rapid microbiological diagnostics of respiratory infections by multiplex PCR.

Materials and Methods: 83 clinical materials (throat secretion, nasopharyngeal secretion, sputum, endotracheal and BAL) from patients of „St. George“ University Hospital - Plovdiv were tested with two panels of multiplex PCR (FilmArray, BioMerieux). 17 viruses and 3 bacteria can be detected simultaneously from each specimen for 70 min with FilmArray Respiratory Panel. In addition to 15 bacteria, 8 viruses and 3 atypical bacteria, 8 genes for resistance to antibiotics can be identified with FilmArray Pneumonia Panel. The results were compared with routine microbiological methods.

Results: All tested specimens were from hospitalized patients who were selected for clinical-laboratory data and symptoms of respiratory infection from the upper and/ or lower respiratory tract. Fifty three throat or nasopharyngeal swabs collected from patients of mean age 19.0 ± 3.37 years were examined with the Respiratory Panel. One pathogen was found in each of 32 (60.38%) cases, whereas more than one was detected in 7 (21.87%). The most common microorganisms were Human Rhinovirus/Enterovirus (29.6%), RSV (29.6%), Influenza A virus (22.2%) and *B. pertussis* (7.4%). Thirty specimens (endotracheal secretions, sputum or BAL) of patients suspicious for pneumonia and mean age 41.66 ± 5.45 years were tested with the other panel. Pathogens were detected in 24 samples.. mPCR Pneumonia panel detected 34 (73.9%) bacteria and 12 (26.1%) viruses from positive specimens. The results were confirmed in 44% with standard microbiological methods. The most common bacterial pathogens were *P. aeruginosa* (12.5%), *S. pneumoniae* (10.4%), *S. aureus* (10.4%), *H. influenzae* (7.7%) while viruses were Human rhinovirus / Enterovirus (14.6%) and Adenovirus (6.3%). More than one pathogen was detected in 13 (43.3%) patients. In 14 cases, PCR revealed the presence of antibiotic resistance genes, 10 of which were confirmed with culture procedures.

Conclusion: Multiplex PCR has higher sensitivity compared to culture methods. The possibility for rapid and complex identification of viruses and bacteria facilitates the choice of adequate therapy and unnecessary use of antibiotics for viral infections.

Key words: multiplex PCR, respiratory infections, antibiotic resistance genes.

СЪВРЕМЕННИ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОДХОДИ ЗА МОНИТОРИНГ НА МТВ ИНФЕКЦИЯТА – ПРЕДИМСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ

Я. Тодорова[1], Р. Емилова[1], В. Миланов[2], М. Тюфекчиева[3], Т. Върлева[3], М. Николова[1]

[1] Национална референтна лаборатория по Имунология, Национален център по заразни и паразитни болести, София;
[2] Клиника по фтизиатрия, **Многопрофилна** болница за активно лечение на белодробни болести „Света София“, София;
[3] Програма „Подобряване на ***устойчивостта на Националната програма*** по ***туберкулоза»***, Министерство на здравеопазването, София

Увод. Латентната МТВ инфекция (LTBI) засяга над една трета от световното население, с 10% риск от развитие на заболяване, нарастващ значително в условия на имунен дефицит. Честотата на нови инфекции у нас остава над средната за Европа. Широко използваните интерферон-гама базирани тестове (IGRA) се отличават с висока специфичност, но прогностичната им стойност е несигурна.

Цел. Да се оцени приложимостта на IGRA от последно поколение за мониториране на МТВ инфекцията при различни категории пациенти.

Материал и методи. Анализирани са данни на НРЛИ, НЦЗПБ за периода 2015 – 2019 г., от скрининг на здравни работници в риск (ЗР, n= 559) или изследвани по клинични показания пациенти (n=342) с T-Spot (Oxford Immunotec), QuantiFERON-TB Gold In-Tube test (QFT-GIT) и QFT- Plus (Qiagen).

Резултати. Честотата на МТВ инфекция варира от 38–40% при ЗР до 17% при новооткрити HIV+ лица и 15% при останалите, изследвани по клинични показания. При ЗР с повече от едно изследване (n=136) се установява значителна честота на реверсия (7%) и конверсия (15%). Резултатите от QFT-GIT при ЗР се разпределят в 4 подгрупи по количеството измерен IFNγ, без връзка с продължителността и активността на инфекцията или приложената МТВ-специфична терапия. TB1- и TB2-специфичната IFNγ секреция (QFT- Plus) не разграничава групите с активна ТВ (n=32), продължителна (n= 15) или скорошна LTBI (n=14). Същото се отнася за съотношението TBAg/M. По-висок дял дискордантни TB1 и TB2 отговори се установяват при АТВ. С T-spot се установява по- често преобладаващ отговор към CFP10 (31%) отколкото към ESAT 6 (18%).

Заключение. IGRA тестовете са удобни и сравними за целите на периодичен скрининг. Задълбочената прогноза, в т.ч. за необходимостта и ефекта от специфична терапия изискват включването на маркери на вродения и адаптивен протективен имунен отговор към МТВ антигени, характерни за различини фази от развитието на инфекцията.

Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект ДН13/1/14.12.2017

IMMUNOLOGY OF MTB INFECTION: THE CONTEMPORARY DIAGNOSTIC CHALLENGES

Y. Tododrova[1], R. Emilova[1], V. Milanov[2], M. Tyufekchieva[3], T. Varleva[3], M. Nikolova[1]

[1] National Reference Laboratory of Immunology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria
[2] University Hospital for Respiratory Diseases „St. Sofia“, Tuberculosis Clinic, Sofia, Bulgaria
[3] Programme „Improving the sustainability of the National Tuberculosis Programme“, Ministry of Health, Sofia, Bulgaria

Background. One third of the world population is estimated to have latent TB infection (LTBI), with 10% lifetime risk for activation, which increases considerably in case of immune deficiency. Bulgaria remains a high-priority European country to stop TB. The widely applied interferon-gamma release assays (IGRAs) are of high specificity, yet their predictive value is uncertain.

Material and methods. Screening data for highly exposed healthcare workers (HCWs n= 559) or test results of patients with observation for MTB infection (n= 342) obtained in NRLI, NCIPD with either T-Spot (Oxford Immunotec), QuantiFERON-TB Gold In-Tube test (QFT-GIT) or QFT- Plus (Qiagen) in the period 2015 – 2019 г. were retrospectively analyzed.

Results. The rate of MTB infection varied from 38 – 40% in HCWs to 17% in newly diagnosed HIV+ individuals and 15% in the rest of tested patients. In HCWs with consecutive test results (n=136), a high share of reversions (7%) and conversions (15%) were established. QFT-GIT results from HCWs were distributed in four subgroups according to the quantity of measured IFNγ, not associated with infection duration, activity, or MTB-specific treatment. The patterns of TB1- and TB2- specific IFNγ secretion (QFT-Gold) did not discriminate between patients with active TB (n=32), recent contacts (n=14) or with long-term LTBI (n= 15). The same was valid for the TBAg/M ratio. A higher rate of discordant TB1 and TB2 responses was established in ATB. With T-spot, a prevalent response to CFP10 was more frequent than to ESAT-6 (31% vs. 18%).

Conclusions. IGRAs are convenient and comparable for large-scale screening. The reliable prognosis and monitoring of MTB infection including the need and effect of specific therapy require additional markers of innate and adaptive immunity to MTB antigens representative for different phases of infection.

Acknowledgement: Supported by research grant DN13/1/14.12.2017, Bulgarian National Science Fund.

Key words: MTB infection, IGRA-test

ГРИПЕН СЕЗОН 2018/2019 – ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ И ВИРУСОЛОГИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

С. Волева[1], С. Ангелова[1], И. Григорова[1], И. Трифонова[1], А. Минкова[2], С. Стоицова[2], Н.Владимирова[2], А. Курчатова[2], Н. Корсун[1]

[1] Национална референтна лаборатория „Грип и ОРЗ“;
[2] Отдел Епидемиология, НЦЗПБ, София

Цел: Анализ на епидемиологичните и вирусологични особености на грипен сезон 2018/2019 г.

Материали и методи: Данните за регистрираните случаи на грип и ОРЗ в периода от 40-та седмица на 2018 г. до 9 седмица на 2019 г. са получени от информационната система за сентинелен надзор. В него са включени общо 227 лечебни заведения за извънболнична помощ, които обслужват 381 376 души от всички възрастови групи в 28-те областни града на страната. За оценка на епидемията са използвани методите на персентилите и верижните епидемии. За наличие на грипни вируси са изследвани клинични проби (назофаренгиални секрети) от амбулаторно лекувани и хоспитализирани пациенти с грипоподобни заболявания/ОРЗ от цялата страна. Доказването и типирането/субтипирането на грипните вируси е извършено чрез Real-time RT-PCR реакции. Първите доказани в България грипни вируси са секвенирани в CDC, Атланта и WHO-CC, Лондон.

Резултати: Грипната епидемия през сезон 2018/2019 започна през седмица 2/2019 г. и епидемичният пик беше достигнат през седмица 4/2019 г. Тогава бяха регистрирани 9455 случая на грип и ОРЗ и заболяемост от 247.92 на 10 000 души. В някои области на страната като Благоевград, Бургас, Варна, Видин, Враца, Добрич, Кърджали, Кюстендил, Пазарджик, Плевен, Разград, Русе, Сливен, София-град, Търговище и Шумен беше регистрирана много висока интензивност. От лабораторно изследваните 1551 клинични проби, грипни вируси бяха открити в 562 (36%): A(H1N1)pdm09 – 372 (24%), A(H3N2) – 190 (12%). Секвенираните 16 вируса A(H1N1)pdm09 попадат в генетичен клейд 6B.1. Секвенираните 9 вируса A(H3N2) принадлежат към генетични субгрупи 3C.2a1b и 3C.2a2.

Заключение: Грипната епидемия през сезон 2018/2019 в България се характеризираше с по-висока заболяемост по време на епидемичния пик в сравнение с предходните два сезона. По време на епидемията циркулираха вирусите A(H1N1)pdm09 и A(H3N2) в съотношение 2:1. Секвенираните A(H1N1)pdm09 вируси попадат в същия генетичен клейд, към който се отнася и ваксиналният вирус A/Michigan/45/2015.

Ключови думи: сентинелен надзор, грип, грипни вируси

INFLUENZA SEASON 2018/2019 – EPIDEMIOLOGICAL AND VIROLOGICAL CHARACTERISTICS

S. Voleva[1], S. Angelova[1], I. Grigorova[1], I. Trifonova[1], A. Minkova[2], S. Stoitzova[2], N.Vladimirova[2], A. Kurchatova[2], N. Korsun[1]

[1] National Reference Laboratory „Influenza and ARD“,
[2] Department of Epidemiology, NCIPD, Sofia

Aim: analysis of epidemiological and virological features of influenza 2018/2019 season.

Methods: Data on registered cases of influenza and ARI during the period from 40 week 2018 to 9 week 2019 are obtained from the information system for influenza and ARI sentinel surveillance. A total of 227 outpatient health care units, serving 381 376 people of all age groups from 28 regional cities are included in the sentinel surveillance. The percentile and moving epidemic methods are used for epidemic evaluation. Clinical specimens (nasopharyngeal swabs) of ambulatory treated and hospitalized patients with influenza like illness/ARI from the whole country are tested for influenza viruses. Detection and typing/subtyping of influenza viruses are carried out by Real Time RT-PCR. The first influenza viruses detected in Bulgaria are sequenced in the CDC, Atlanta and WHO-CC, London.

Results: The influenza 2018/2019 epidemic started during the week 2 of 2019 and the epidemic peak was reached in week 4 of 2019 with 9455 influenza and ARI cases registered and 247.92 per 10 000 population incidence rate. The intensity level was very high in some regions of the country: Blagoevgrad, Burgas, Varna, Vidin, Vratsa, Dobrich, Kardjali, Kjustendil, Pazardjik, Pleven, Razgrad, Russe, Sliven, Sofia city, Targovishte and Shumen. Out of the 1551 clinical samples laboratory tested, 562 (36%) were positive for influenza viruses: 372 (24%) for A(H1N1)pdm09 and 190 (12%) for A(H3N2). The sequenced 16 A(H1N1)pdm09 viruses fall into the genetic clade 6B.1. The sequenced 9 A(H3N2) viruses belong to the genetic subgroups 3C.2a1b and 3C.2a2.

Conclusions: The influenza 2018/2019 season in Bulgaria was characterised by a higher incidence rate in week 4/2019 compared to the incidence rate during the epidemic peak in the previous two seasons. During the epidemics influenza A(H1N1)pdm09 and A(H3N2) viruses circulated in a 2:1 ratio. The sequenced A(H1N1)pdm09 viruses belonged to the same genetic clade as the vaccine virus A/Michigan/45/2015.

Key words: sentinel surveillance, influenza, influenza viruses

ЕКОЛОГИЧНОТО АДАПТИРАНЕ НА ГЕНОТИПОВЕТЕ НА MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS КАТО ФАКТОР ЗА РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА ТУБЕРКУЛОЗАТА

С. Панайотов[1], Д. Маджаров[2], Ю. Атанасова[1], А. Байкова[1], Е. Бачийска[1], В. Толчков[1], В. Монев[1], Т. Кантарджиев[1]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести
[2] Исторически факултет, Софийски университет

Туберкулозата е глобално разпространено инфекциозно заболяване. Видът *Mycobacterium tuberculosis* се е разпространил и екологично адаптирал във всички географски райони на земята. Миграцията е основен движещ фактор за разпространението на туберкулозата. Молекулярно-епидемиологичните данни сочат, че различни филогенетични групи на *Mycobacterium tuberculosis* са се адаптирали към различни общности и раси. Факторите, които формират локалното биоразнообразие на *M. tuberculosis* в даден географски район са сложни и не добре проучени. Не е известно дали генотиповете на *Mycobacterium tuberculosis,* носени от преселващи се общности, успешно се адаптират в нови географски райони и екологични условия.

Целта на нашето изследване бе да проучим екологичното адаптиране на нови генотипове на *M. tuberculosis* навлизащи в България с мигриращи общности.

Материали и методи: Ние изследвахме резултатите от сполиго- и 24 локусно MIRU-VNTR типиране на повече от 750 чувствителни и 350 мултирезистентни щама на *M. tuberculosis* събрани от България за последните 15 години. Бяха изследвани документирани масови миграционни вълни към България от последните 10 века.

Резултати: Нашите резултати показаха, че група 4 (Euro-American) на *M tuberculosis* е единствено разпространена в България. Изключение правят 2 щама *M. BOVIS* и 12 щама от група 2 Пекин за които имаме доказателства, че са се разпространили в страната след 2007 г. Анализът на документирани масови преселения на цигански общности от Северозападните части на Индийския субконтинент след 10–12 век, на турци от Централна Азия през Средновековието и скорошни преселения на арменци, руснаци и африканци през 20 век не са повлияли биоразнообразието на *M tuberculosis* в България с генотипове от групи 1, 2, 3, 5, 6 и 7.

Обсъждане: Ние правим закючение, че импортираните в миналото генотипове на *M tuberculosis,* различни от група 4, екологично не са се адаптирали в България. Ние изказваме хипотезата, че миграцията не е основен фактор за разпространение на туберкулозата, а локалните екологични фактори имат основна роля за адаптирането и биоразнообразието на генотиповете на *M. tuberculosis* в България.

Благодарности: Авторите изказват своята благодарност за финансовата подкрепа на Фонд „Научни изследвания" по проект *ДН13/4 15.12.2017*

THE ECOLOGICAL ADAPTATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS GENOTYPES AS A DRIVER FOR TUBERCULOSIS SPREADING

S. Panaiotov[1], D. Madjarov[2], Y. Atanasova[1], A Baykova[1], E. Bachiyska[1], V. Tolchkov[1], V. Monev[1], T. Kantardjiev[1]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases
[2] Faculty of History, Sofia University

Tuberculosis is globally spread. The *Mycobacterium tuberculosis* species has spread and ecologically adapted to all geographic regions on the earth. It is recognized that migration is a major driving force for the spread of tuberculosis. Molecular epidemiology data suggest that various phylogenetic groups of *Mycobacterium tuberculosis* have adapted to different communities and races. The factors that form the local biodiversity of *M. tuberculosis* in a given geographical area are complex and not well studied. It is not known whether genotypes of *M. tuberculosis* carried by migratory communities successfully adapt to new geographic areas and environmental conditions.

The aim of our study was to investigate the adaptation of newly imported genotypes of *M. tuberculosis* in Bulgaria with migratory communities.

Materials and Methods: We have investigated the results of spoligo- and 24 loci MIRU-VNTR typing of more than 750 susceptible and 350 MDR strains of *M. tuberculosis* collected in Bulgaria for the past 15 years. Documented mass migratory waves to Bulgaria from the last 10 centuries have been investigated.

Results: Our results showed that group 4 (Euro-American) of *M tuberculosis* is the only one spread in Bulgaria. Exceptions are 2 strains of *M. BOVIS* and 12 strains from group 2 Beijing for which we have evidence that they were imported and spread in the country since 2007. The analysis of documented mass migrations of Gypsy communities from the Northwest parts of the Indian subcontinent after the 10th-12th centuries, Central Asian Turks during the Middle Ages and recent Armenian, Russian, and African migrations in the 20th century did not affect the biodiversity of *M tuberculosis* in Bulgaria with genotypes of groups 1, 2, 3, 5, 6 and 7.

Discussion: We conclude that previously imported genotypes of *M tuberculosis*, other than group 4, have not adapted ecologically in Bulgaria. We hypothesize that migration is not a major driver for the spread of tuberculosis, but local ecological factors play a major role in the adaptation and biodiversity of genotypes of *M. tuberculosis* in Bulgaria.

Acknowledgment: *This work was supported by grant ДН13/4 15.12.2017* of National Science Fund, Bulgaria.

СЕСИЯ IV

Сексуално-предавани инфекции

АНАЛИЗ НА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА HIV-1 СУБТИП C В БЪЛГАРИЯ (ПРЕДВАРИТЕЛЕН АНАЛИЗ)

И. Алексиев[1], Р. Димитрова[1], А. Ганчева[1], А. Костадинова[1], Л. Николова[1], М. Николова[2]

HIV-1 субтип C е най-разпространеният щам на HIV в света. В това проучване ние анализираме еволюционната история на въвеждането и разпространението на HIV-1 субтип C в България, използвайки Bayesian коалесен подход и методи на молекулярен часовник.

Материали и методи. Анализирани са проби от лица с HIV-1 субтип C. Генът *pol* на HIV-1 беше секвениран с Applied Biosystems 3130x1 или OpenGene ДНК секвениращи системи. Субтипът на HIV-1 беше определен с COMET v2.2. От световните базите данни в Los Alamos бяха изтеглени всички налични секвенции от HIV-1 субтип C. Две отделни групи данни бяха анализирани (Данни-1 и Данни-2), съдържащи съответно 1768 и 300 секвенции. Филогенетичният сигнал беше изследван с помощта на програмата TreePuzzle, а наличието на времеви сигнал и „clocklikeness" беше оценено и анализирано със софтуер TempEst v1.5.1. Глобалният филогенетичен анализ беше извършен с Данни 1 с алгоритъм Maximum likelihood с IQ-TREE v1.6. Средната еволюционна скорост е изчислена с Данни 2, с използването на Bayesian-Markov-Chain-Monte-Carlo (MCMC) с BEAST v1.8.3.

Резултати. Мъжете и жените са разпределени еднакво: 51,4% мъже и 48,6% жени. 75,7% от лицата са придобили инфекцията в България, а 24,3% в чужбина. Секвенциите изолирани в България, бяха разпръснати по цялото глобално филогенетично дърво, което показа, че въвеждането на HIV-1 субтип C в България е осъществено от различни страни на света. Анализът с помощта на молекулярния часовник показа, че най-близките общи предшественици на българските секвенции от субтип C на HIV-1 са от началото на 1970-те години, което показва и ранно въвеждане на тези вирусни щамове в България.

Заключение. Нашият анализ показа, че HIV-1 субтип C е бил въведен още през първите години от епидемията в България и е с произход от различни страни на света. Поради широките мерки за превенция и контрол през 1980-те години, този щам на HIV-1 е разпространен в ограничени мащаби и не е бил широко разпространен сред общото население на страната.

Благодарности. Това проучване е финансирано от: Фонд научни изследвания на Министерството на образованието и науката, България. (договор: DN03 / 16.12.2016 г.). От Националния център по заразни и паразитни болести. От „Националната програма за превенция и контрол на ХИВ и сексуално предавани инфекции (СПИ)".

Ключови думи: HIV, субтип C, молекулярна епидемиология

ANALYSIS OF DISTRIBUTION OF HIV-1 SUBTYPE C IN BULGARIA (PRELIMINARY ANALYSIS)

I. Alexiev[1], R. Dimitrova[1], A. Kostadinova[1], L. Nikolova[1], M. Nikolova[2]

[1] National Reference Confirmatory Laboratory of HIV, NCIPD
[2] National Reference Laboratory of Immunology, NCIPD

Aim. HIV-1 subtype C is the most prevalent HIV strain in the world. In this study, we analyze the evolutionary history of the introduction and dissemination of HIV-1 subtype C in Bulgaria using Bayesian coalescent-based approach and molecular clock methods.

Materials and Methods. HIV-1 subtype C samples were analyzed. The HIV-1 *pol* gene was sequenced using Applied Biosystems 3130xl or an OpenGene DNA sequencing systems. HIV-1 subtype C was determined using COMET v2.2. *All AVAILABLE HIV-1 subtype C sequences were downloaded from the Los Alamos sequence database. Two datasets (Dataset 1 and Dataset 2) were built RESPECTIVely containing 1768 and 300 sequences.* The phylogenetic signal was investigated by TreePuzzle program, and the presence of temporal signal and „clocklikeness" with TempEst v1.5.1. Global phylogenetic analysis was performed with the Dataset 1 using Maximum likelihood in IQ-TREE v1.6. The mean evolutionary rate was estimated on the *Dataset 2* by Bayesian–Markov–Chain–Monte–Carlo (MCMC) in BEAST v1.8.3.

Results. Men and women were equally assigned: 51.4% men and 48.6% women. 75.7% were infected in Bulgaria, whereas 24.3% reported have been likely infected abroad. *Bulgarian sequences were dispersed across the entire global phylogenetic tree, demonstrating that the introduction of HIV-1 subtype C in Bulgaria has been carried out from VARIOUS countries of the world.* Molecular clock analysis demonstrated that the most recent common ancestors of Bulgarian HIV-1 subtype C clades are back in the 1970s, indicating early introduction of those strains in Bulgaria.

Conclusions. Our analysis demonstrated that HIV-1 subtype C was introduced in the early years of the epidemic, originating from different countries of the world. Due to the comprehensive measures for the prevention and control of HIV in particular in the 1980s, HIV-1 subtype C was not rapidly disseminated among the general population of the country.

Acknowledgment. This work was supported: By a grant from the Ministry of Education and Science, Bulgaria. (contract: DN03 / 16.12.2016). By National Center of Infectious and Parasitic Diseases. By the National Program for the Prevention and Control of HIV and Sexually Transmitted Infections.

Keywords: HIV, Subtype C, Molecular epidemiology

АНТИБИОТИЧНА РЕЗИСТЕНТНОСТ ПРИ MYCOPLASMA GENITALIUM

И. Филипова, В. Левтерова, И. Симеоновски, Т. Кантарджиев

Въведение. Антибиотичната резистентност при *Mycoplasma genitalium* към препоръчваните за лечение антибиотични средства възниква и се разпространява бързо. Досега в България не са докладвани случаи на антимикробна резистентност и неуспешна терапия при *M. genitalium*. Целта на това проучване е да се определи разпространението на мутации, свързани с резистентност към макролиди и флуорохинолони в *M. genitalium* в София, България, 2018–2019.

Материали и методи. Установените положителни за *M. genitalium* по време на диагностичното изследване урогенитални проби, бяха ретроспективно анализирани за свързани с резистентност мутации в 23S рРНК и parC гени, използвайки конвенционално ДНК секвениране.

Резултати. Бяха анализирани общо 7 *M. genitalium*-положителни проби от София, България 2018–2019. Мутации, свързани с резистентност към макролиди, бяха открити в 42.9% от пробите. Мутацията A2059G беше открита във всички случаи. Не бяха открити мутации, свързани с резистентност към флуорохинолон.

Заключение. Разпространението на мутации, свързани с резистентност към макролиди и флуорохинолон при *M. genitalium*, бе съответно 42,9% и 0%. Поради установените високи нива на резистентност към макролиди в това проучване, силно се препоръчва наздзор на антимикробната резистентност и тестване за свързани с резистентност мутации в положителни случаи с *M. genitalium*.

Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект ДН 13/5 от 15.12.2017 „Молекулярно-генетичен подход за подпомагане надзора на антибиотичната резистентност на гонорея и генитална микоплазмена инфекция“

Ключови думи: *Mycoplasma genitalium*, ДНК секвениране на 23S rRNA и parC гени, свързани с резистентност мутации, антибиотична резистентност

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN MYCOPLASMA GENITALIUM

I. Philipova, V. Levterova, I. Simeonovski, T. Kantardjiev

Introduction. Resistance in the sexually transmitted bacterium *Mycoplasma genitalium* to all recommended therapeutic antimicrobials have rapidly emerged. However, to date, antimicribial resistance and treatment failures cases for *M. genitalium* haven't been reported in Bulgaria. The aim of this study was to estimate the prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in M. genitalium in Sofia, Bulgaria, 2018–2019.

Materials and methods. Consecutive urogenital samples found positive for *M. genitalium* during diagnostic testing were retrospectively analyzed for resistance-associated mutations in the 23S rRNA and *parC* genes using conventional Sanger sequencing.

Results. In total, 7 *M. genitalium* positive samples from Sofia, Bulgaria 2018–2019 were analyzed. Macrolide resistance-associated mutations were detected in 42.9% of the samples. The mutation A2059G was detected in all cases. Possible fluoroquinolone resistance-associated mutations weren't detected.

Conclusions. The prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in M. genitalium was 42.9% and 0%, respectively. Because of the emerging high rates of macrolide resistance in this study, antimicrobial resistance surveillance and testing for resistance-associated mutations in *M. genitalium* positive cases would be highly recommended.

Acknowledgment: Supported by Research grant DN 13/5–15.12.2017, Bulgarian National Science Fund

Keywords: *Mycoplasma genitalium*, 23S rRNA and *parC* gene sequencing, resistance-associated mutations, antimicrobial resistance

АНАЛИЗ НА ТИПОВЕТЕ ЧОВЕШКИ ПАПИЛОМНИ ВИРУСИ (HPV), ОТКРИТИ ЧРЕЗ ПОЛИМЕРАЗНО ВЕРИЖНА РЕАКЦИЯ (PCR) ЗА ПЕРИОД 2016 – 2018Г.

М. Кунчев, Н. Томов, В. Ковальова

Лаборатория по „Вирусология“, Военномедицинска академия, София

Човешкият папиломен вирус (HPV) се открива и типизира чрез полимеразно верижна реакция (PCR) и в зависимост от онкогенния си потенциал се дели на три групи: високо-, средно- и нискорискови. Цел на нашето проучване е да анализираме типовете HPV, установени с мултиплекс PCR от клетъчен материал (цервикален канал) на 192 жени при профилактични прегледи за период 2016 – 2018г. В 14 % от изследваните се открива HPV. Разпределението по типове е 6-ти тип – 40,7%; 11-ти тип – 7,4%, 16-ти тип – 14,8%, 31-ви тип – 7,4%, 52-ри тип – 7,4%, 56-ти тип – 18,6% и 58-ми тип – 3,7%. Нашето проучване установи, че нискорисковите типове 6 и 11 са най-често откривани, а при високорисковите – 56 тип.

Ключови думи: HPV, типизиране, мултиплекс PCR.

ANALYSIS OF TYPES OF HUMAN PAPILLOMAVIRUSES (HPV) DETECTED BY POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) FOR THE PERIOD 2016–2018.

M. Kunchev, N. Tomov, V. Kovaleva

Laboratory „Virology“, Military Medical Academy, Sofia

Human papillomavirus (HPV) is detected and typified by polymerase chain reaction (PCR) and, depending on its oncogenic potential, divided into three groups: high-, medium- and low-risk. The aim of our study is to analyze the HPV types detected by multiplex PCR of cell material (cervical canal) of 192 women in prophylactic examinations for the period 2016–2018. In 14% of the tested, HPV was detected. The distribution by type is 6th type – 40,7%; 11th type – 7,4%, 16th type – 14,8%, 31st type – 7,4%, 52th type – 7,4%, 56th type – 18,6% and 58th type – 3.7%. Our study found that low-risk types 6 and 11 were most often detected, and high-risk 56 types.

Key words: HPV, typing, multiplex PCR

СЕСИЯ V

Ваксино-предотвратими инфекции

ПОЛИОМИЕЛИТ – БЛИЗО ЛИ Е ЕРАДИКАЦИЯТА?

Л. Николаева-Гломб

Национална референтна лаборатория „Ентеровируси“,
Национален център по заразни и паразитни болести, София

Почти 20 години след първоначалния срок, поставен от Инициативата за глобална ерадикация на полиомиелита полиовирусите продължават да циркулират и общественото здравеопазване среща редица предизвикателства, забавящи постигането на целта.

За да се приеме, че полиовирусите са изкоренени, трябва да е налице безупречен надзор на циркулацията им и липса на случаи на полиомиелит поне в три последователни години.

СЗО сертифицира дадена страна като свободна от полиомиелит, ако в продължение на една година в нея не се откриват случаи на болестта. Установено е обаче, че в такава страна полиовируси все още могат да циркулират. Така се случва с Нигерия, където една година след сертифицирането й са регистрирани нови случаи на полиомиелит с див полиовирус тип 1.

Последният случай на полиомиелит от див полиовирус тип 2 е през октомври 1999 г. Оттогава полио 2 не се среща и през 2015 г. СЗО декларира изкореняването му. Последният случай с див полиовирус тип 3 е от ноември 2012 г. Всички случаи на полиомиелит след това са предизвикани от див полиовирус тип 1 или от циркулиращи ваксинодериватни щамове.

Предизвикателства пред Глобалната ицциатива:

- Наличие на ендемични страни – Афганистан, Пакистан и Нигерия;
- Циркулация на ваксинодериватни полиовируси – за пръв път през 2017 г. случаите на полиомиелит от ваксинодериватни полиовируси са повече от случаите с диви;
- „Умора“ на системите за надзор и оттам ненавременна детекция на циркулиращи полиовируси;
- Все по-висока цена, която и в бъдеще ще продължи да расте, на глобалните усилия за ерадикация;
- Активизиране на антиваксиналните движения.

Едва ли има някой, който да си спомня дали програмата за ерадикация на вариолата е изпълнила в срок заложената цел. Постигнатият блестящ успех позволява такъв дребен детайл да бъде забравен. Въпреки забавянето в изпълнението на Инициативата за ердикация на полиомиелита, човечеството се надява, че в обозримо бъдеще тази мечта ще бъде осъществена.

Ключови думи: полиомиелит, остра вяла парализа, полиовирус

POLIOMYELITIS – IS THE ERADICATION NEAR?

L. Nikolaeva-Glomb

National Reference Laboratory of Enteroviruses,
National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

Nearly 20 years after the initial deadline set by the Global Polio Eradication Initiative (GPEI), polioviruses are still circulating and public health authorities meet a number of challenges that delay the achievement of the goal.

To assume that polioviruses have been eradicated, there must be impeccable surveillance of their circulation and no polio cases reported for at least three consecutive years.

The WHO certifies a country as polio free one, if no cases of disease are detected for a year. It has been found, however, that polioviruses can still circulate in a polio free country. This is the case with Nigeria where a year after its certification, new cases of poliomyelitis with wild poliovirus type 1 were recorded.

The latest case of poliomyelitis with wild poliovirus type 2 date back to October 1999. Since then, polio 2 has not been detected and in 2015 the WHO has declared its eradication. The latest case of wild poliovirus type 3 dates back to November 2012. Currently, all cases of paralytic poliomyelitis are induced either by wild poliovirus type 1 or circulating vaccine-derived polioviruses (cVDPV).

Challenges to the Global Polio Eradication Initiative:

- Existence of endemic countries – Afghanistan, Pakistan and Nigeria;
- Circulation of VDPVs – for the first time in 2017, the number of paralytic poliomyelitis cases caused by VDPVs exceeds those caused by wild types;
- „Fatigue“ of surveillance systems and hence, untimely detection of circulating polioviruses;
- An ever higher price, which will continue to grow in the future, of global eradication efforts;
- Activation of anti-vaccination movements.

There is hardly anyone who remembers whether the Smallpox Eradication Program has fulfilled its target in time. The achieved brilliant success allows such a small detail to be forgotten. Despite the delay in the implementation of the Global Polio Eradication Initiative, humanity hopes that the dream for a polio free world will be realized in the foreseeable future.

Key words: poliomyelitis, acute flaccid paralysis, poliovirus

ЕТИОЛОГИЯ И РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА НАЙ-ЧЕСТИТЕ БАКТЕРИАЛНИ МЕНИНГИТИ (*N. MENINGITIDIS*, *S. PNEUMONIAE* И *H. INFLUENZAE*) В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ ПЕРИОДА 2013Г.– 2018Г.

И. Симеоновски[1], В. Левтерова[1], М. Малчева[1], Н.Бранкова[1], И.Томова[2], А.Мангъров[2], Н.Дървеняшка[2], М.Мурджева[3], Ц. Дойчинова[3], Ангелова-Стойчева[4], Г.Лазарова[5], Р.Панчева[6], А.Бъчварова[7], Г. Ганчева [8], В.Едрева [8], Стаматова[9], Баев[10], Игова[11], Т. Стоева[12], С. Ашкова-Попова[13], Д.Димитров[14], С.Павлова[15], Т.Кантарджиев[1]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести, София;
[2] СБАЛИПБ „проф. Иван Киров, гр.София;
[3] УМБАЛ „Св. Георги“, гр.Пловдив;
[4] ЕМБАЛ „Хр. Ботев“, гр. Враца;
[5] МБАЛ „Проф. д-р Ст. Киркович“, гр. Стара Загора“;
[6] МБАЛ „Св. Иван Рилски“, гр.Дупница;
[7] МБАЛ „Токуда“, гр. София;
[8] УМБАЛ „д-р Георги Странски“, гр. Плевен;
[9] МДЛ Бургас;
[10] МБАЛ „Д-р Иван Селимински“, гр.Сливен;
[11] МБАЛ-Русе
[12] УМБАЛ „Св. Марина „ Варна;
[13] МБАЛ Ловеч;
[14] МБАЛ Благоевград;
[15] Перник ОАРИЛ

Цел: Целта на това изследване беше да се проучи етиологията на циркулиращите сред обществото в България бактериални менингити причинявани от трите патогена – през периода 2013г. – 2018 г.

Материали и методи: Използвани бяха молекулярни методи за диагностика на изпратените материали (ликвор, хемокултура, щамове и секрети) на пациенти с бактериален менингит. Материалите бяха изпратени в Националната референтна лаборатория по „Молекулярна микробиология“ за идентификация и типизиране. Идентификацията и типизирането на трите патогена беше извършено с молекулярни методи за диагностика – полимеразно-верижната реакция в реално време (Real Time PCR) и конвенционален PCR.

Резултати: През периода 2013–2018 г. успешно продължаваше съвместната работа на специалистите от НРЛ „Молекулярна микробиология“ и лекарите от болниците в цялата страна по проблемите на етиологичната диагностика на бактериалните менингити. Получени бяха 245 клинични материала, които бяха изследвани за *N.meningitidis, S.pneumoniae* и *H.influenzae.* Положителни за *N.meningitidis* бяха 52 броя, за *S.pneumoniae* бяха 72 и за *H.influenzae* бяха 9. В последствие положителните за *N.meningitidis, S.pneumoniae* и *H.influenzae* бяха типизирани за определяне на серогрупата и серотипа чрез полимеразно верижна реакция.

Заключение: Проведените лабораторни изследвания в НРЛ „Молекулярна микробиология“ показаха, че при *N. meningitidis* преобладаващите за България серогрупи са били В и С. При *S. pneumoniae* са преобладавали серотип 3 и 19А, както и други серотипове от неваксинални щамове. Имаше наличие на ваксинални серотипове, но те бяха изолирани от пациенти, които не са били ваксинирани. При *H.influenzae* преобладаваха неваксиналните серотипове.

Ключовидуми: менингококова инфекция, типизиране, *N. Meningitidis, S.pneumoniae и H.influenzae*

VACCINE-PREVENTABLE INFECTIONS ETIOLOGY AND SPREAD OF MOST COMMON BACTERIAL MENINGITIS INFECTIONS (*N.MENINGITIDIS*,*S. PNEUMONIAE* AND *H.INFLUENZAE*) IN BULGARIA DURING THE PERIOD 2013–2015

I. Simeonovski [1], V. Levterova [1], K. Tankova[1], N.Brankova [1], S.Panayotov [1], I.Tomova [2], A.Mangarov[2], N. Darvenyashka [2], M.Murdzheva[3], T.Doychinova[3] Angelova-Stoicheva [4], G.Lazarova[5], R.Pancheva[6], A.Bachvarova [7], D. Gancheva[8], V.Edreva [9], Tsvetanova[9], Stamatova [9], Baev [10], Igova [11], T. Stoeva [12], S. Ashkova-Popova [13], D.Dimitrov[14], S.Pavlova[15], T.Kantardzhiev [1]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia;
[2] SBALIPB „Professor. Ivan Kirov, Sofia;
[3] „St.. George „, Plovdiv;
[4] Emil „Hr. Botev „,. Vratsa;
[5] Hospital „Prof. Dr. Stefan. Kirkovich“ Str., Stara Zagora „;
[6] Hospital „St. Ivan Rilski „, Dupnitsa;
[7] „Tokuda“, Sofia;
[8] University Hospital „Dr. George Stransky“ city. Pleven;
[9] MDL Burgas;
[10] Hospital „Dr. Ivan Seliminski“ Sliven;
[11] „Hospital Ruse“;
[12] Hospital „St.. Marina „Varna;
[13] “Hospital Ruse“;
[14] MBAL Blagoevgrad;
[15] Pernik OARIL

Objective: The aim of this study was to investigate the etiology of bacterial meningitis circulating among people in Bulgaria, caused by the three pathogens during the period 2013 – 2018.

Materials and Methods: Molecular methods were used for diagnostics of sent materials (cerebrospinal fluid, blood culture, strains and secretions) of patients with bacterial meningitis. The materials were sent to the National Reference Laboratory „Molecular Microbiology“ for identification and typing. The identification and typing of the three pathogens was performed with molecular methods for diagnostics – polymerase chain reaction in real time (Real Time PCR) and conventional PCR.

Results: During the period 2013–2018 successfully continued the joint work of experts from NRL Molecular Microbiology and doctors from hospitals across the country analyzing the etiological diagnosis of bacterial meningitis. Clinical materials – 245, were received and examined for *N. meningitidis, S. pneumoniae* and *H. influenzae*. The positive for *N. meningitidis* were 52, for *S.pneumoniae* were 72 and for *H. influenzae* – 9. Subsequently, the positive ones for *N. meningitidis* and *S. pneumoniae* were typed for determination of the serotype and serogroup by the polymerase chain reaction.

Conclusions: The laboratory tests conducted in NRL „Molecular Microbiology“ showed that serogroups B and C of *N. meningitidis* were prevailing in Bulgaria. The prevalent strains for *S. pneumoniae* were serotype 3 and serotype 19 A and serotypes of other non-vaccine strains. There were vaccine – included serotypes but they were isolated from patients who have not been vaccinated. *H. influenzae* predominates with its non-vaccinal serotypes.

Keywords: meningococcal infection, typing, *N. meningitidis, S. pneumoniae* and *H. influenzae.*

РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА КОКЛЮШНАТА ИНФЕКЦИЯ В БЪЛГАРИЯ. АНАЛИЗ ЗА ДЕСЕТГОДИШЕН ПЕРИОД 2009–2018Г.

Н. Бранкова, В. Левтерова, И. Симеоновски, Т. Кантарджиев

Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, София

Цел на проучването е да се направи сравнителен анализ на разпространението на случаите на коклюш по възрастови групи сред населението в България за десетгодишен период (2009–2018г.). Целиси е и да се анализира и уточни разпределението на случаите по години и да се направи съпоставка с данните за Европа и света.

Материали / Методи: Материалите, използвани за молекулярно-генетична диагностика на коклюша бяха назофарингеални секрети, взети от ресничестия епител на горните дихателни пътища. За периода 2009 – 2018г. бяха събрани и анализирани 3798 бр. материали от суспектни и контактни деца и възрастни за коклюшна инфекция. За детекция на етиологичния агент на коклюша Bordetella pertussis използвахме молекулярно-генетичния метод полимеразно-верижна реакция (PCR).

Резултати: При анализиране на получените резултати по възрастови групи за периода 2009–2018г. най-високо ниво на потвърдени случаи на коклюш доказахме при деца под 1г. (33,45%), следвани от групата 1–4г. с 22,35% потвърдени случаи на заболяването. Сравнително високи нива на положителни PCR резултати доказахме при подрастващи и юноши (17,08% и 20,83%) поради намаляващия с времето имунитет.

За десетгодишният период 2009–2018г., включен в проучването, най-високо ниво на потвърдени случаи на коклюш в България доказахме през 2012г. и 2017г. (30,14% и 26,22%). Най-ниски нива на разпространение на инфекцията се наблюдаваха през 2010г. (9,49%) и 2015г. с 12,62% положителни случаи.

Заключение: Получените от нас резултати потвърждават световните данни за най-високи нива на инфекцията при деца под 1г. поради липсващ или все още неизграден напълно имунитет, при които възможността за настъпване на тежки усложнения или дори смъртни случаи е най-голяма. Потвърдихме и ролята на подрастващи и възрастни в поддържане на циркулацията на причинителя на коклюш сред населението поради намаляване с времето на естествения имунитет на популацията и предаване на инфекцията към кърмачета и малки деца.

Анализът на данните за разпределението на потвърдените случаи на коклюш по години показва еднаква тенденция с европейските и световните данни за най-високо ниво на заболяемост през 2012г. и 2017г., когато в световен мащаб са регистрирани последните епидемии от коклюш.

Ключови думи: коклюш, PCR диагностика, имунитет.

SPREAD OF THE PERTUSSIS INFECTION IN BULGARIA. ANALYSIS OF A TEN YEAR PERIOD 2009–2018

N. Brankova, V. Levterova, I. Simeonovski, T. Kantardjiev

National Center for Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

Objective: The aim of the study is to make a comparative analysis of the prevalence of cases of pertussis by age group among the population in Bulgaria for a 10-year period (2009–2018). It also aims to analyze and specify the distribution of pertussis cases by year and comparing the data for Europe and the world.

Materials/Methods: For the period 2009–2018 we collected and tested 3798 nasopharyngeal swabs from the ciliary epithelium of the upper respiratory tract. Nasopharyngeal swabs were collected from infants and adults suspected for infection and who have been in contact with infected people. The molecular method PCR was used for detection of *Bordetella pertussis*.

Results: When analyzing the results obtained by age groups for the period 2009–2018, the highest level of confirmed pertussis cases has been proven in children under 1 year of age (33.45%), followed by group 1–4 year with 22.35% confirmed cases of the disease. Relatively high levels of positive PCR results have been demonstrated in adolescents due to immune-related impairment.

For the ten-year period 2009–2018, included in the survey, the highest level of confirmed cases of pertussis in Bulgaria proved in 2012 and 2017 (positive PCR results 30.14% and 26.22%.). The lowest rates of infection spread were observed in 2010 (9.49%) and 2015 with 12.62% positive cases.

Conclusion: The results we obtained confirm the world's highest rates of infection in children under 1 year of age due to a lack of or not yet fully developed immunity, where the possibility of serious complications or even deaths is greatest. We also confirmed the role of adolescents and adults in maintaining the pertussis circulation among the population due to a decrease in the natural immunity of the population and the transmission of the infection to infants and young children.

Analysis of the data on the distribution of confirmed cases of pertussis per year shows the same trend with European and world data for the highest incidence rate in 2012 and 2017 when the latest outbreaks of pertussis were recorded worldwide.

Key words: pertussis, PCR diagnosis, immunity.

ИНФЕКЦИИ С ВАРИЦЕЛА ЗОСТЕР ВИРУС: ДИАГНОСТИКА, РИСКОВЕ, СТРАТЕГИИ ЗА ПРЕВЕНЦИЯ И КОНТРОЛ

Е. Шикова, А. Куманова, С. Ралева

НРЛ „Херпесни и онкогенни вируси“, НЦЗПБ, София

Цел. Инфекциите с варицела зостер вирус (VZV) са причина за сериозни заболявания при пациенти от различни възрастови групи, могат да доведат и до тежки последици за майката и плода. Целта на настоящото проучване е да установи участието на VZV в развитието на някои неврологични заболявания в страната, както и да определи риска, свързан с тези инфекции при бременни.

Материали и методи. В проучването бяха включени ликвори от 336 пациенти с неврологични заболявания и 150 серумни проби от бременни, постъпили за изследване в НРЛ „Херпесни и онкогенни вируси“. Доказването на VZV в ликворите се осъществяваше с PCR като използвахме търговски китове за RT PCR и in house nested PCR системи. Серумите бяха изследвани с ELISA за наличие на специфични антитела от клас IgG и IgM срещу VZV.

Резултати. По-голяма част (около 56%) от изследваните ликвори бяха от пациенти с енцефалити, миелити и менингити. 17.6% от всички ликвори бяха позитивни за VZV. В 4 от ликворите бе установена коинфекция с HSV. Изследвана бе преваленцията на VZV в зависимост от възрастта, пола и клиничната диагноза на пациентите.

87.3% от изследваните серуми бяха положителни за VZV IgG. В същото време, 12.7% от бременните бяха отрицателни за IgG антитела и при тях съществува риск от заразяване с VZV по време на бременността. От серумите, изследвани за VZV IgM 5.1% бяха положителни, което е доказателство за активна инфекция с този вирус по време на бременността.

Заключение. Установен е сравнително висок процент на ликворите, позитивни за VZV, което предполага важна роля на този вирус за невропатологията в страната и необходимост от своевременна етиологична молекулярна диагностика.

Резултатите показват и висок процент на жените в риск от заразяване с VZV по време на бременността, както и на VZV инфекции, възникнали по време на бременността. Необходими са адекватни профилактични и организационни мерки с цел ограничаване на тази инфекция, в т.ч. и възможно най-бързо въвеждане на имунизация срещу варицела в страната.

Ключови думи: VZV инфекции, невропатология, бременни

VARICELLA ZOSTER VIRUS INFECTIONS: DIAGNOSTICS, RISKS, STRATEGIES FOR PREVENTION AND CONTROL

E. Shikova, A. Kumanova, S.Raleva

NRL „Herpes and oncogenic viruses“, NCIPD, Sofia

Objective. Varicella Zoster Virus (VZV) Infections are the cause of serious diseases in patients of different age groups, can also lead to severe consequences for the mother and the fetus. The aim of this study is to determine the involvement of VZV in the development of certain neurological diseases in the country as well as to estimate the risk associated with these infections in pregnant women.

Materials and Methods. In the study were included 336 CSF samples obtained from patients with neurological diseases and 150 serum samples obtained from pregnant women, submitted for testing at the NRL „Herpes and oncogenic viruses“. Detection of VZV in CSFs was performed by PCR using commercial kits for RT PCR and by in house nested PCR systems. Sera were tested by ELISA for the presence of specific antibodies of class IgG and IgM against VZV.

Results. Most (approx.56%) of the CSFs we tested were from patients with encephalitis, myelitis and meningitis. 17.6% of all CSFs were positive for VZV. Co-infection with HSV was found in 4 CSFs. The prevalence of VZV according to the age, gender and clinical diagnosis of patients was estimated.

87.3% of all tested sera were positive for VZV IgG. At the same time, 12.7% of women were negative for VZV IgG antibodies and therefore they might be at risk of being infected during pregnancy with VZV. Of all sera tested for VZV IgM 5.1% were positive, which is evidence of active infection with this virus during pregnancy.

Conclusions. *A RELATIVely high percentage of VZV-POSITIVe liquors has been identified, suggesting an important role of this VIRUS for neuropathology in the country and the need for timely etiological molecular diagnostics.*

The results also show a high proportion of women at risk for VZV infection during pregnancy. Therefore, appropriate prophylactic and organizational measures are needed to limit this infection, incl. introduction as soon as possible the chickenpox immunization in the country.

Key words. VZV infections, neuropathology, pregnant

ХЕПАТИТ А: ХАРАКТЕРИСТИКИ НА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА 2003–2017 Г. И ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА ОГРАНИЧАВАНЕ НА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА БОЛЕСТТА

С. Стоицова, Н. Владимирова, А. Курчатова

Национален център по заразни и паразитни болести, София

Цел: България е страна със серопревалентност и заболяемост от вирусен хепатит А (ВХА), по-високи от средните за Европейския съюз и Европейското икономическо пространство. Целта на настоящия анализ е да обобщи актуалните характеристики на разпространението на ВХА в България за периода 2003–2017 г.. Ще бъдат разгледани и практиките за превенция и контрол на заболяването в България в контекста на съвременните познания за ефективността на различни стратегии за борба с ВХА по света.

Материали/методи: За характеризиране на разпространението на ВХА и на мерките, прилагани за ограничаване на взривове в България, са използвани данните за случаи с ВХА за периода 2003–2017 г., и справките за епидемични взривове от ВХА през 2012–2017 г., получени в Националния център по заразни и паразитни болести в съответствие с Наредба № 21 за регистрация, съобщаване и отчет на заразните болести.

Резултати: В България има области със средно (20–199 случая на 100 000 души население) и ниско (2–19 случая на 100 000 души) ниво на годишна заболяемост, като в разглеждания период (2003–2017) 5 области в североизточна България са преминали от средно към ниско ниво на заболяемост. Тези области обаче имат относително малко значение за заболяемостта на национално ниво, която се определя най-вече от няколко области със сериозни циклични подеми, в които разпространеиието все още не намалява значително, в резултат на което, в периода 2003–2017 г. България остава със средно ниво на заболяемост. Съобщават се взривове в цели общности с контактно-битов път на предаване, хранителни взривове и взривове в затворени колективи, като по-ниският социално икономически статус играе роля в разпространението. Практическият опит от региони с подобен тип разпространение на ВХА демонстрира ефективността на въвеждането на масова имунизация срещу ВХА както в цели страни, така и в отделни области с по-голям риск. Към момента в България ваксината срещу хепатит А е препоръчителна и не се прилага масово. При идентифицирани огнища на заболяването често на контактните се прилага имуноглобулин, като има и няколко взрива през последните 5 години, при които се прилага детска ваксина срещу хепатит А за профилактика на контактните деца, като с това мерките по време на взривове в България са в съответствие със световните препоръки дотолкова, доколкото е възможно от гледна точка на достъпа до имуноглобулин и ваксини при конкретните взривове.

Заключение: България е страна със средно ниво на заболяемост от хепатит А, циклично разпространение и разлики в риска между областите и социалните класи. В областите от североизточна България се наблюдава стабилна тенденция към намаляване на заболяемостта, но в други области разпространението не намалява. Ваксината срещу хепатит А е ефективна мярка за превенция, която се прилага по време на взривове, в съответствие с международния опит и препоръки.

Ключови думи: вирусен хепатит А, епидемиология, превенция

HEPATITIS A: EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS IN BULGARIA (2003–2017) AND POSSIBLE STRATEGIES TO LIMIT DISEASE SPREAD

S. Stoitsova, N. Vladimirova, A. Kurchatova

National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

Aim: Bulgaria is a country with hepatitis A (HAV) seroprevalence and incidence levels higher than the average in the European Union and European Economic Area. The aim of this analysis is to summarize the current epidemiology of HAV in Bulgaria (2003–2017). The prevention and control practices, used in Bulgaria to limit disease spread, will be summarized in the context of current knowledge of the effectiveness of different global approaches in the fight against this disease.

Materials/Methods: To characterize the epidemiology of HAV and the measures, applied in outbreak situations in Bulgaria, we used the data on cases, notified between 2003 and 2017 and the outbreak reports for HAV outbreaks, received between 2012 and 2017 at the National Center of Infectious and Parasitic Diseases in accordance with Ordinance 21 on the registration, notification and reporting of infectious diseases.

Results: Bulgaria has regions with intermediate (20–199 cases per 100 000 population) and low (2–19 cases per 100 000 population) levels of annual incidence. During the period under study (2003–2017) the incidence levels in 5 regions in southeast Bulgaria changed from intermediate to low. However, these regions have a relatively low significance when it comes to the incidence at national level, which is determined predominantly by several regions with serious cyclical increases in incidence, where the spread of this disease is still not significantly limited. As a result, in the studied period Bulgaria remains with an overall intermediate incidence level. The received outbreak reports describe community-wide outbreaks with person-to-person transmission in households, foodborne outbreaks, and outbreaks in closed facilities. Lower socio-economic status is a determinant influencing disease spread. The practical experience from areas with similar epidemiological characteristics has shown the effectiveness of introducing large-scale hepatitis A vaccination either across whole countries or on a smaller scale in regions at higher risk. Currently, the hepatitis A vaccine is recommended, but not widely used in Bulgaria. When an outbreak is recognized, the contact persons often receive immunoglobulin. There are several outbreaks in the last 5 years, during which hepatitis A vaccine for children was administered to children who were classified as contacts. This demonstrates that the outbreak response measures for HAV outbreaks are in line with international recommendations, conditional on the availability of immunoglobulin and vaccines during specific outbreaks.

Conclusion: Bulgaria is a country with intermediate HAV incidence, a cyclical temporal pattern in incidence, and differences in risk among regions and socio-economic classes. There is a stable downward trend in incidence in the areas in south-east Bulgaria, but incidence has not decreased in other areas. The hepatitis A vaccine is an effective prevention measure, applied in Bulgaria during outbreaks, in accordance with international experience and guidelines.

Keywords: hepatitis A virus, epidemiology, prevention

ПРОУЧВАНЕ НИВОТО НА ANTI HBS АНТИТЕЛАТА ПРИ ВАКСИНИРАНИ ЛИЦА

А. Гоцева[1], Д. Велчева[2], Г. Попов[3]

[1] Лаборатория Вирусология, Военномедицинска академия, София
[2] МДЛ Цибалаб, София [3] Катедра по инфекциозни болести, Военномедицинска академия, София

Цел: Целта на настоящото изследване е да се проучи имунният отговор след ваксинация с хепатит В ваксина. Ваксинопрофилактиката се приема за най- ефективната мярка за превенция и контрол на HBV инфекцията. В България от 1992 г. е въведена задължителна имунизация срещу вирусен хепатит В. Наличието на поствaксинален протективен имунитет се осъществява чрез изследване на antiHBs антитела. СЗО приема като долна граница на минимален защитен титър >10 mIU/mL.

Материали/методи: За периода декември 2016 – февруари 2019 г. са изследвани 558 серумни проби на имунизирани лица с рекомбинантна хепатит В ваксина. Количественото определяне на anti HBs антитела в човешки серумни проби е извършено по метода CLIA (Chemiluminescence immunoassay) със съвременен имунологичен анализатор LIAISON XL (DiaSorin, Italy).

Резултати: Изследвани са 558 серумни проби на 340 (61%) жени и 218 (39 %) мъже във възрастовия диапазон от 2 месеца до 26 години (лица родени след 1992 г.). Концентрациите на anti HBs антителата изразени в mIU /mL са изчислени автоматично от анализатора. 158 жени и 95 мъже са негативни за anti HBs антитела (< 9 mIU /mL), 12 жени и 10 мъже са с неопределен резултат (9–11 mIU /mL), 170 жени и 113 мъже са позитивни (>11 mIU /mL). При 74 жени и 52 мъже е отчетен протективен титър на anti HBs >100 mIU /mL.

Заключение: › Оценката на поствaксиналния имунитет се извършва чрез количествено определяне на anti HBs антителата

› CLIA е чувствителен, специфичен и икономически ефективен диагностичен метод с широк линеен диапазон (от 3 – 1000 mIU /mL)

› При изследваните лица се установяват вариращи нива на anti HBs антителата и при двата пола в различните възрастови групи

› Установяването на недектируеми нива на anti HBs антителата при част от изследвания контингент имунизирани лица поставя въпроса за необходимостта от мониторинг на антителния отговор след ваксинация

Ключови думи: HBV инфекция, antiHBs антитела, хемилуминесцентен имунен анализ

STUDY OF THE LEVEL OF ANTI HBS ANTIBODIES IN VACCINATED INDIVIDUALS

A. Gotseva[1], D. Velcheva[2], G. Popov[3]

[1] Laboratory of Virology, Military Medical Academy, Sofia
[2] MDL Cibalab LTD, Sofia [3] Department of Infectious Diseases, Military Medical Academy, Sofia

Aim: The aim of this study to determinate the immune response after vaccination with hepatitis B vaccine. Vaccine prophylaxis is considered the most effective measure for the prevention and control of HBV infection. In Bulgaria, a compulsory immunization against viral hepatitis B has been introduced since 1992. The presence of post-vaccine protective immunity is accomplished by testing anti-HBs antibodies. WHO accepts as a lower limit of minimum protective titer > 10 mIU / mL.

Materials/methods: Between December 2016 and February 2019, 558 serum samples of immunized individuals with recombinant hepatitis B vaccine were examined. In order to determine the post-vaccination protective titer of anti HBs antibodies, a LIAISON XL (DiaSorin, Italy) immunological analyzer using modern CLIA (Chemiluminescence immunoassay) was used to quantitate anti HBs antibodies in human serum specimen.

Results: 558 serum samples were tested in 340 (61 %) women and 218 (39 %) men in the age range from 2 months to 26 years. Anti-HBs concentrations expressed in mIU / mL were calculated automatically by the analyzer. 158 women and 95 men were negative for anti HBs antibodies (<9 mIU / mL), 12 female and 10 men were undetermined (9–11 mIU / mL), 170 women and 113 men were positive (> 11 mIU / mL). In 74 women and 52 men, a protective titer of anti HBs> 100 mIU / mL was reported.

Conclusions:

› The evaluation of post-vaccination immunity is performed by quantification of anti HBs antibodies;

› CLIA is a sensitive, specific and cost-effective diagnostic method with a wide linear range (3–1000 mIU / mL);

› Variable levels of anti HBs antibodies in both sexes were found in different age groups of study subjects;

› In some of the immunized subjects cannot be established detectable levels of anti HBs antibodies. This raises the question of the need for monitoring the antibody response after vaccination;

› With the decrease in anti-HBs levels <10 mIU / mL – the long-term protection depends on the immune memory;

Key words: HBV infection, antiHBs antibodies, Chemiluminescence immunoassay (CLIA)

РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА ХЕПАТИТ В В СЕВЕРОИЗТОЧНА БЪЛГАРИЯ

Д. Цанева-Дамянова[1,3], Л. Иванова[1,2], С. Павлова[4], Ц. Костадинова[2,5], Ж. Стойкова[1,2]

[1] Катедра по Микробиология и вирусология- Медицински университет- Варна, ул. „Брегалница“ No. 3, Варна, България
[2] Лаборатория по клинична вирусология- УМБАЛ „Св. Марина“, Бул. „Христо Смирненски“No.1, Варна, България
[3] Медико-диагностична лаборатория „Статус“, Бул. „Съборни „ No. 24, Варна, България
[4] Катедра по Социална медицина и организация на здравеопазването- Медицински университет-Варна, ул. „Брегалница“ No. 3, Варна, България
[5] Учебен сектор „Медицински лаборант“, Медицински колеж, Медицински университет-Варна, Бул.“Цар Освободител“ No. 84, Варна, България

Вирусен хепатит В е един от най-разпространените инфекциозни заболявания в света, включително и у нас.

Цел: Да се установи разпространението на серологичните маркери на хепатит В вирусна инфекция в случайно подбрана популация.

Материали/методи: Ретроспективно са изследвани 8 380 лица от Североизточна България. Пробите за определяне на серологичните маркери на HBV са изработени в ELISA и CLIA.

Резултати: Относителният дял на позитивните за HBsAg лица е 2.8%. Положителни резултати за anti-HBc total Ab установихме в 42.3%. Положителни резултати за anti-HBs Ab получихме в 49.1%. HBeAg позитивност установихме в 8.6%. Anti-HBe Ab положителни са 73.8%, от всички изследвани.

Заключение: Установена е трайна тенденция на спад в относителния дял на носителите на HBsAg. Мъжете са по-засегнатия пол от жените. Очертава се тенденция за обратна зависимост между повишен относителен дял носители на anti-HBc total Ab и намален относителен дял HBsAg положителните лица на популационно ниво

Ключови думи: *HBV, HBsAg, anti-HBc total Ab*

HEPATITIS B VIRAL INFECTION IN NORTHEASTERN BULGARIA

D. Tsaneva-Damyanova[1,3], L. Ivanova[1,2], S. Pavlova[4], T. Kostadinova[2,5], J. Stoykova[1,2]

[1] Department of Microbiology and Virology-Medical University, 3 Bregalnitsa Str., Varna, Bulgaria
[2] Laboratory of Clinical Virology-University hospital „St.Marina“, 1 Hristo Smirnenski Blvd., Varna, Bulgaria
[3] Medical- Diagnostic Laboratory“ Status“ Varna, 24 Saborni Blvd., Varna, Bulgaria
[4] Department of Social Medicine and Health Care Organization, Medical University, 3 Bregalnitsa Str., Varna, Bulgaria
[6] Education and Research Sectors of Medical Laboratory Assistant, Medical College, Medical University, 84 Tsar Osvoboditel Blvd., Varna, Bulgaria

ABSTRACT

Viral hepatitis B is one of the most common infectious diseases in the world, as well as in Bulgaria.

Aim: To establish the prevalence of serological markers for hepatitis B virus infection in common population.

Materials/Methods: We investigated 8,380 people, retrospectively. Samples for serological markers of HBV were tested via ELISA and CLIA.

Results: The relative share of HBsAg-positive individuals was 2.8%. Positive results for anti-HBc total Ab were found in 42.3%. Positive results for anti-HBs Ab were obtained in 49.1%. We found HBeAg positive results for 8.6% and for anti-HBe Ab – 73.8%, of all tested.

Conclusion: We have found a steady decline in the relative share of HBsAg. Men are more affected than women. There is a tendency for inverse relationship between an increased relative share of anti-HBc total Ab carriers and a reduction in the relative share of HBsAg positive individuals at population level.

Key words: *HBV, HBsAg, anti-HBc total Ab*

ВНЕСЕНИ СЛУЧАИ НА МОРБИЛИ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2018 Г.

Н. Владимирова[1], С. Крумова[1], К. Пармакова[2], А. Курчатова[1], епидемиолози от РЗИ[3]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести
[2] Министерство на здравеопазването
[3] РЗИ Бургас, РЗИ София, РЗИ Ловеч

Цел: Епидемиологичен анализ на внесени случаи на морбили в България през 2018 г., както и поддържане на знания и методологична подкрепа за всички медици, работещи по надзора и контрола на морбили.

Материали и методи: Анализирани са данни от Националната уеб-базирана система за епидемиологичен надзор на морбили в България, както и данни от собствени проучвания, включително лабораторни данни за детекция на генотипове на морбилния вирус. Случаите са класифицирани като „внесени“, ако има вирусологични и/или епидемиоло-

IMPORTED MEASLES CASES IN BULGARIA, 2018

N. Vladimirova[1], S. Krumova[1], K. Parmakova[2], A. Kurchatova[1], epidemiologists from RHI[3]

[1] National Centre of infectious and parasitic diseases, Sofia
[2] Ministry of Health
[3] Regional health Inspectorates in Burgas, Sofia, Lovech

Aim: An epidemiological analysis of imported measles in Bulgaria in 2018 as well as knowledge maintenance and methodological support for all medical specialists dealing with measles surveillance and control.

Materials and methods: The surveillance data, retrieved from the National web based system for epidemiological surveillance of measles in Bulgaria were analyzed as well as data from our own investigations including laboratory data on detected genotypes of measles viruses. Cases were classified as *imported* if there was virological and/or epidemiological evidence of exposure outside the

гични доказателства за контакт извън страната или региона 7–18 дни преди появата на обрива, и като „свързани с внесен случай“, когато са инфекции, придобити на място, причинени от внесен вирус и подкрепени с вирусологични и/или епидемиологични доказателства. Представен е и се обсъжда националният ваксинален обхват.

Резултати: На последната среща на Регионалната верификационна комисия за елиминация на морбили и рубеола, през юни 2018 г., България беше обявена като страна с елиминация на ендемично разпространение на морбили. През 2018 г., в страната бяха съобщени 16 суспектни за морбили случая. Диагнозата за морбили беше потвърдена с положителни лабораторни резултати (серология, вирусна детекция) в 13 (81%) от случаите. Останалите 3 бяха отхвърлени. Възрастовото разпределение на случаите е между 2 и 39 години, но най-засегната е възрастовата група 15–19 г. (5 случая), следвана от възрастовите групи 20–39 години (5 случая); останалите три случая са съответно на 2, 6 и 8 годишна възраст. Сред случаите с известен произход на инфекцията, 7 (53, 84%) са съобщени като внесени, а 6 (46, 15 %) като свързани с внесени. От 13 случая, 3 са неваксинирани, 2 са ваксинирани с две или повече дози морбилна ваксина, а 8 са с неизвестен ваксинален статус. Частта на случаите с неизвестен ваксинален статус(54 %), е най-висока при чужденците посетили България като туристи или като сезонни работници на Черноморските курорти, както и при български граждани (предимно ромски етнос), живеещи в Европа и завърнали се за кратка ваканция. Националният ваксинален обхват срещу морбили през 2017 г. за втора доза е 91,6%, и 93,8% за първа доза (което е под целевата стойност от 95%).

Заключение: В страни, които са близо до елиминация на морбили се наблюдава нарастване на дела на внесените инфекции чрез лица пристигащи от места с разпространение на морбили.. За постигане на елиминация на морбили е съществено подсилването на дейностите, насочени към оптимизиране на ваксиналния обхват и качеството на надзора.

Ключови думи: морбили, елиминация, имунизация

region or country 7–18 days prior to rash onset and, as *import-related*, if they were locally-acquired infections caused by imported virus, and supported by epidemiological and/or virological evidence. National vaccination coverage is presented and also discussed.

Results: At the last meeting of the Regional Verification Commission for Measles and Rubella Elimination in June 2018, Bulgaria was declared to have eliminated endemic transmission of measles. In 2018, 16 suspected cases of measles were reported in the country. The diagnosis of measles was confirmed by positive laboratory results (serology, virus detection) in 13 (81 %) of all reported cases. The rest 3 were discarded. Age distribution is between 2 and 39 years of age but most affected age group is 15–19 yrs (5 cases) followed by age groups 20–39 yrs (5 cases); the rest 3 cases are 2 yrs, 6 yrs and 8 yrs of age respectively. Among cases with known origin of infection, 7 (53, 84%) were reported as imported and 6 (46, 15 %) as import-related. Of the 13 cases, 3 were unvaccinated, 2 were vaccinated with two or more doses and 8 had an unknown vaccination status. The proportion of cases with unknown vaccination status (54 %), was highest in foreigners visiting Bulgaria as tourists, or season workers at Black sea resorts as well as, in Bulgarian citizens (mainly Roma ethnos) living in Europe and coming back for short vacation.

The national vaccination coverage during 2017 for the second dose of measles-containing vaccine is 91, 6%, and 93, 8% for the first dose (which is below the target value of 95%).

Conclusion: In countries close to achieve measles elimination an increasing proportion of imported infections through international travelers is observed. To reach the goal of eliminating measles, reinforcement of the activities aimed at optimizing vaccination coverage and surveillance quality is essential.

Key words: measles, elimination, immunization

ИЗМЕНЕНИЯ В ЗАДЪЛЖИТЕЛНИТЕ ИМУНИЗАЦИИ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ ПОСЛЕДНОТО ДЕСЕТИЛЕТИЕ (2009–2018 Г.) И ОТРАЖЕНИЕТО ИМ ВЪРХУ ИМУНИЗАЦИОННИЯ ОБХВАТ И ЗАБОЛЯЕМОСТТА ОТ ВАКСИНОПРЕДОТВРАТИМИ БОЛЕСТИ: АНАЛИЗ И ТЕНДЕНЦИИ

Н. Владимирова, А. Курчатова, А. Минкова

отдел „Епидемиология“, Национален Център по Заразни и Паразитни Болести (НЦЗПБ), София

Цел: Представяне на промените в имунизационния календар на България в периода 2009–2018 г., анализ на имунизационния обхват със задължителните ваксини и на тенденциите в заболяемостта от ваксинопредотвратими болести (ВПБ), обект на задължителни ваксинации за същия период. Насочване към възможни епидемиологични зависимости и извеждане на препоръки, свързани с превенцията на ВПБ на настоящия етап.

Материали / методи: Обобщени са данните за десетгодишен период за заболяемостта от ВПБ: дифтерия, полиомиелит, коклюш, тетанус,

CHANGES IN THE MANDATORY IMMUNIZATIONS IN BULGARIA DURING THE LAST DECADE (2009–2018) AND THEIR REFLECTION ON THE IMMUNIZATION COVERAGE AND VACINE-PREVENTABLE DISEASES' MORBIDITY: ANALISYS AND TRENDS

N. Vladimirova, A. Kurchatova, A. Minkova

Department „Epidemiology“, National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

Aim: Presentation of changes made in Bulgarian immunization schedule during the period 2009–2018, analyses of vaccination coverage of mandatory vaccines and trends of vaccine-preventable diseases (VPD) morbidity, especially VPD subject to mandatory vaccinations within the same period. Guidance to possible epidemiologic dependencies and issue recommendations for VPD prevention at the current stage.

Materials/methods: Data of VPD morbidity: diphtheria, polio, pertussis, tetanus, hepatitis B, measles, mumps, rubella, pneumococcal infections and infections due to Hi*b* are summarized for 10 years period. National immunization coverage data are summarized too for the same period and for the mandatory

хепатит Б, морбили, епидемичен паротит, рубеола, инфекции причинени от пневмококи и от хемофилус инфлуенце б. Обобщени са националните данни за имунизационния обхват със задължителните ваксини срещу посочените ВПБ. Приложен е епидемиологичен анализ. Тенденциите при основни епидемиологични показатели са графично илюстрирани.

Резултати: В периода 2009–2018 г., България въведе следните ваксини в детския имунизационен календар : 10-валентна конюгатна пневмококова ваксина (PCV10) (през 2010) и шествалентна комбинирана ваксина срещу дифтерия, тетанус, коклюш, полиомиелит, хепатит Б, Hi*b* инфекции. Последната замени 4- и 5-валентните ваксини (DTPa-IPV и DTPa-IPV-Hi*b*), използвани в кърмаческа възраст до този момент, също така добави допълнителна (4-та) доза към схемата на хепатит Б ваксината. При морбилните ваксини и имунизации не са правени промени. През периода не са съобщавани случаи на дифтерия, полиомиелит и тетанус при деца. Заболяемостта от коклюш остана почти стабилна. Заболяванията от хепатит Б показат стабилно снижение във всички възрастови групи между 0 и 25-години. Разви се голяма епидемия от морбили (24364 случая в 2009–2011), следвана от спорадични внесени случаи и ограничени взривове (2017). Намаляха заболяемостта от рубеола, както и от пневмококовите заболявания и инфекциите, причинени от Hi*b* при деца. Спорадично се съобщават случаи на епидемичен паротит. През периода националното имунизационно покритие при всички изброени ваксини е между 90–95%.

Заключение: През последното десетилетие наблюдаваме тенденция на стабилно снижение на заболяванията при повечето ВПБ, включително нула случаи при дифтерия и полиомиелит. България е обявена за страна с елиминация на морбили и рубеола. Рутинната имунизация срещу хепатит Б, прилагана в продължение на 25 години доказа своята ефективност. Въпреки относително добрия имунизационен обхват в България, съществуващата имунизационна програма все още се нуждае от подобрение и постигане на по-добро имунизационно покритие.

Ключови думи: ваксино-предотвратими болести, имунизационен обхват

vaccines against before listed VPD. Epidemiological analysis is applied. Trends of basic epidemiological indicators are graphically illustrated.

Results: Within the period 2009 – 2018, Bulgaria introduced the following vaccines into the national childhood immunization schedule: 10-valent conjugate pneumococcal vaccine (PCV10) (in 2010) and 6-valent combined vaccine against diphtheria, tetanus, pertussis, polio, hepatitis B, Hi*b* infections. The latter one replaced 4- and 5- valent vaccines (DTPa-IPV and DTPa-IPV-Hi*b*) in use to that moment in infancy, as well as added an additional (4-th) dose to the scheme of hepatitis B vaccine. No changes have been made to the measles containing vaccines and vaccinations. During the period no diphtheria, polio and tetanus cases in children have been reported. Pertussis morbidity remains almost stable. Hepatitis B cases showed stable decline in all age groups between 0 and 25 yrs of age. Measles exploded in large epidemic (24364 cases in 2009–2011), followed by sporadic imported cases and limited outbreaks (2017). Rubella incidence, as well as pneumococcal diseases and Hi*b* infections in children got down. Mumps is sporadically reported. National vaccination coverage of all above mentioned vaccines is between 90–95 % during the period.

Conclusion: During the last decade we observed a tendency of stable decline in most VPD, including zero diphtheria and polio. Bulgaria has been declared as a country with measles and rubella elimination. 25 years lasting routine immunization against hepatitis B evidenced its effectiveness. Despite relatively good vaccination coverage in Bulgaria, the existing advanced immunization programme still needs to be improved and better immunization coverage to be achieved.

Key words: vaccine-preventable diseases, vaccination coverage, morbidity

СЕСИЯ VI

Инфекции, причинявани от храни и води

ЕКСТРАХЕПАТАЛНИ ПРОЯВИ ПРИ HEV – ИНФЕКЦИЯСОБСТВЕНИ НАБЛЮДЕНИЯ

М. Пишмишева[1], Е. Голгочева-Маркова[2], Е. Насева[3], Р. Аргирова[4], М.Стойчева[5]

[1] Инфекциозно отделение –МБАЛ- Пазарджик
[2] НРЛаборатория по хепатитни вируси – гр.София
[3] Факултет по обществено здраве – МУ – София
[4] Вирусологична лаборатория – АСС – болница Токуда – гр. София
[5] Клиника по инфекциозни болести, тропическа медицина и паразитология- МУ- Пловдив

РЕЗЮМЕ: Хепатитен вирус Е е най-честият причинител на ентераленнон-А хепатит. Той причинява субклинична, остра, хронична инфекция, както и екстрахепатални прояви. Броят на заболелите виндустриалните страни в последните години се увеличава, като все повече вниманиесе овбръща на екстрахепаталните прояви, които може да са водещи в клиничната картина, да се тежки и дори фатални.

ЦЕЛ: Целта на настоящето съобщение е да представим наблюдаваните от нас екстрахепатални прояви при остра хепатит Е вирусна инфекция.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: 181 болни от остра хепатит Е, лекувани в инфекциозно отделение МБАЛ-Пазарджик за периода 2014–2018г. Използвани са методите на клинично наблюдение, клинико-лабораторни и инструментални изследвания, серологични изследвания – ELISA за установяване на специфични антитела, а при част от болните и PCR за установяване на HEV – RNA в кръв на болен.

РЕЗУЛТАТИ: Наблюдавани са неврологични прояви – синдром на Гилен-Баре – 1, енцефалопатия – 1, хематологични – тромбоцитопения – 36, панкреатит – 4, безсимптомно повишаване на креатинини-киназа – 4.

ОБСЪЖДАНЕ: Екстрахепатални прояви при HEV-инфекция трябва да бъдат търсени активно. Най-често такива болни не се изследват и заболяването остава неразпознато. Интердисциплинарният подход към тази инфекция ще доведе до по-доброто и разбиране и познаване.

Ключови думи: синдром на Гилен-Баре, тромбоцитопения, хепатит Е

EXTRA-HEPATIC MANIFESTATIONS ASSOCIATED WITH HEPATITIS E VIRUS INFECTION

M. Pishmisheva–Peleva[1], E. Golcocheva-Markova[2], T. Tenev[3], E. Naseva[3], R. Argirova, M. Stoicheva[5]

[1] Department of Infectious Disease – Pazardjik
[2] Department of Virology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases – Sofia,
[3] Faculty of Public Health – Medical University –Sofia
[4] Laboratory of Virology – ACC -Tokuda Hospital – Sofia
[5] Department of Infectiuos Diseases, parasitology and Tropical medicine – medical University – Plovdiv

ABSTRACT: Hepatitis E virus causes sub-clinical, acute and chronic infections, characterized by hepatitis, though extra-hepatic manifestations have been described. The AIM of this study is to describe extra-hepatic manifestations associated with Hepatitis E virus infection.

MATERIAL METHODS and RESULTS: We investigate 181 patients with acute hepatitis E and describe neurological disorders – Guillain-Barré syndrome – 1, encephalopathy -1, hematological disorders – thrombocytopenia -36, pancreatitis -4, increasing level of creatin-kinase without symptoms.

Conclusions: HEV infection should be considered in patients with acute pancreatitis, Guillain -Barré syndrome, severe thrombocytopenia. Alternatively, signs and symptoms of these conditions should be sought in patients with acute or chronic HEV infection. More data are needed to confirm the role of HEV in other extra-hepatic disorders.

Keywords: Guillain-Barré syndrome, thrombocytopenia, hepatitis E

ПРОБИОТИЧНИ ЛАКТОБАЦИЛИ СРЕЩУ *ESCHERICHIA COLI*

С. Данова[1], Л. Добрева, В. Немска[1,2], Н. Ботева[1] Р. Тропчева[1]*

[1] Институт по микробиология „Стефан Андгелов“, БАН, 26, „Акад. Георги Бончев „, София, България. *E mail: stdanova@yahoo.com

[2] ХТМУ, бул. „Св. Климент Охридски „, 1756, София, България

Цел: Определяне способноста на лактобацили от различни местообитания да потискат растежа на *Escherichia coli* и подбор на щамове с потенциал да се прилагат в профилактиката и превенцията на инфекции на уро-генитал ния тракт.

Материали/методи: 50 щама лактобацили, изолирани от традиционни млечни продукти и 16 щама от майчина кърма, са изпитани *in vitro* по метода дифузия в агар, срещу *E.coli* K-12; щам HB101 и щам 420, референтни E.c. ATCC 25927 и ATCC®11775™, и клиничен щам *E.coli* TU-5.

Резултати: В борбата с патогените все повече внимание се отделя на пробиотичните добавки. В тази връзка бе оценена способността на български новоизолирани и подбрани като кандидат-пробиотични лактобацили – 16 щама с човешки и 50 с млечен произход, да подтискат E. *coli*. Непатогенен щам E. *coli* K12 се отличава като силно чувствителен към продуцираните метаболити от 35 МКБ култури. Най-висока активност срещу останалите щамове E.*coli* е отчетена в опитите с кисели безклетъчни филтрувани супернатанти от 24 и 48 ч. лактобацилни култури в среда MRS, vegMRS и в заквасено, с отделните лактобацили, стерилно мляко. Тази активност е следствие от продуцираните млечна и други киселини, катосамо два изолата са определени като бактериоциногенни. В групата на лактобацили от кърма 25% са способни да инхибират растежа на E. *coli* ATCC 25725. С практическо значение е способността на 12 щама *Lactobacillus plantarum*, култивирани в мляко, да подтискат E.c. ATCC 25725 и 1 от тях E. c ATCC 11775. Положителни резултати са отчетени и срещу уропатоген E.c. щам TУ5. От подбраните ефективни антагонисти е създаден прототип на пробиотична мултибактериална формула, която при редовен прием за последните 3 месеца е показала обещаващи резултати.

Заключение: Лактобацилите от различни хабитати са естествени антагонисти срещу уро-патогенни E. *coli u* притежават щамово-специфичен пробиотичен потенциал.

Ключови думи: *Escherichia coli, Lactobacillus, Antibacterial* ACTIVITY

Работата понастоящем е финансирана от ФНИ –България по проект КП-06 ОПР 03/16.

PROBIOTIC LACTOBACILI AGAINST PROBIOTIC LACTOBACILI AGAINST *ESCHERICHIA COLI*

S. Danova[1], L. Dobreva[1], V. Nemska[1,2], N. Boteva, R. Tropcheva[1]*

[1] The Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences, 26, „Acad. Georgi Bontchev“ Str., Sofia, Bulgaria. *Email:* STDANOVA@YAHOO. *com*

[2] University of Chemical Technology and Metallurgy, 8, „St. Kliment Ohridski“, Blvd., 1756 Sofia, Bulgaria

Aim: To estimate the ability of lactobacilli, from different habitats, to inhibit the growth of *Escherichia coli* and to select of strains with potential to be applied in the prevention and prophylaxis of urogenital tract infections.

Materials / Methods: 50 strains of lactobacilli isolated from traditional dairy products and 16 strains of breast milk were tested *in vitro* by the agar diffusion method against *E. coli* K-12; E.c HB101; *E.c.* 420, *E.c.* ATCC 25927, *E.c.* ATCC®11775™, and a clinical strain of *E. coli* TU-5.

Results: Probiotic supplements gain increased attention in dealing with pathogens. In this contest, the capacity of newly isolated lactobacilli – 16 human strains and 50 milk strains -to antagonize *E.coli*, was estimated, and candidate probiotics acting as natural antagonists, were selected among them. The nonpathogenic strain *E. coli* K12 was distinguished as highly sensitive to the produced metabolites from 35 *Lactobacillus* cultures. The highest activity was recorded in all tests with acid cells-free supernatants, obtained after 24 – 48 h *Lactobacillus* cultivation in MRS, vegMRS broth and in sterile milk. Thus, produced lactic and other acids are active compounds, with only two isolates defined as bacteriocinogenic. Into the group from breast milk, 25%, of the isolates possessed inhibitory activity to *E. coli* ATCC 25725. High prominent is the result with 12 *Lactobacillus plantarum* strains, cultivated in milk o/n. Their whey fractions showed bactericidal effects on *E.coli* ATCC 25725 and 1 of them on *E.c.* ATCC 11775. This activity was confirmed against uropathogenic *E.c* TU5. Based on the selected effective antagonists, a prototype of a probiotic multibacterial formula has been established, which has shown promising results at regular administration.

Conclusion: Lactobacilli from different habitats are natural antagonists against uropathogenic *E.coli* and have strain-specific probiotic potential.

Key words: *Escherichia coli, Lactobacillus, Antibacterial* ACTIVITY

The work is partially funded by NSF Bulgaria under project КП-06 -OPR 03/16.

ПАРАЗИТНИ ИНВАЗИИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ХРОНИЧНИ АЛЕРГИЧНИ ПРОЯВИ

Б. Чакърова

Тракийски университет – Стара Загора, Медицински факултет, Катедра „Микробиология и паразитология“,

Пускови механизми за голям брой болести се явяват протозои, хелминти и фунги, паразитиращи в организма на човека. По данни на СЗО по света с паразити са инвазирани повече от 3 млд. души. В Европа е поразен всеки трети човек. Едни от най-разпространените съвременни заболявания при човека – алергичните, честосе асоциират с опаразитявания с ендопаразити.

Цел на проучването е да се представят най-често диагностицираните паразитни инвазии при лица с хронични алергични симптоми и заболявания.

Материал и методи: В проучването са включени общо 348 лица с хронични алергични симптоми и заболявания: хроничен пруритус, уртикария, атопичен дерматит, пациенти с хронични кожни заболявания и алергични респираторни прояви. От мъжки пол са 135 (38.8%), а от женски – 71 (61.2%). Използваните диагностични методи са: цитохематологични и биохимични клинико-лабораторни тестове; дерматологични биопсични патохистологични и парзитологични: изследнане на фецес – морфологична диагностика – макроскопски и светлинномикроскопски и имунохроматографски чрез бързи in vitro ангигенни тестове за откриване на *Cryptosporidium PARVUM*, *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica/dispar*; имуноензимни методи чрез комерсиални ELISA китове за диагностика на токсоплазмоза, ехинококоза, трихинелоза и токсокароза.

Резултати: Опаразитените са 129 (37.1%). С ентеропаразити – протозои и хелминти са 39 (11.2%): *Giardia intestinalis* 9 (2.6%), *Blastocystis hominis* 9 (2.6%), *Entamoeba coli* 6 (1.7%), *Hymenolepis nana* 6 (1.7%), *Enterobius VERMICULARIS* 3 (0.9%) and *Cryptosporidium PARVUM* 3 (0.9%), and *Ascaris lumbricoides* 3 (0.9%). Положителни за парзити с тъканна локализация са 90 (25.95%): за токсоплазмоза (позитивни Toxoplasma gondii antibodies IgG, IgM) са 57 (16.4%), за трихинелоза (позитивни *Trichinella Antibody* ELISA Kits) са 15(4.3%), за токсокарозаса 9 (2.6%) и за ехинококоза за също 9 (2.6%). При 12 пациенти еустановена инвазия с два вида паразити и при 6 – с три. Най-голям брой позитивни за опаразитявания пациенти са във възрастовата група между 25 и 54 години. При 69 (19.8%) от опаразитените пациентис хронични алергични симптоми и заболявания провеждането на антипаразитно лечение (до отрицателен паразитилигичен резултат) доведе до преминаване на основните симптоми – сърбеж, зачервяване, кашлица, довеждане до референтни стойности на левкоцитите и еозинофилните клетки.

Заключение: Пациентите с хронични алергични симптоми и заболявания са с висока честота на опаразитеност с ендопаразити. Включването на паразитологичните изследвания в диагностичния панел при тези симптоми и заболявания в голяма степен установяват паразитната етиология като провокиращ ги фактор.

PARASITIC INVASIONS AMONG PATIENTS WITH CHRONIC ALLERGIC MANIFESTATIONS

B. Chakarova

Trakia University – Stara Zagora, Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Parasitology

Some of the most common present diseases in humans – the allergic diseases, are often associated with endoparasitic invasions.

The aim of the study is to present the most frequently diagnosed parasitic invasions in people with chronic allergic symptoms and diseases.

Materials and Methods: The study included a total of 348 individuals with chronic allergic symptoms and diseases: chronic pruritus, urticaria, atopic dermatitis, patients with chronic skin diseases and allergic respiratory manifestations. The males are 135 (38.8%) and females – 71 (61.2%). The used methods for diagnostic are: cytohematological and biochemical laboratory tests; histopathology dermatological biopsy and parasitological tests: examination of feces – morphological diagnostics – macroscopic and light microscopic and rapid immunochromatographic tests for in vitro diagnostics for high-quality detection of *Cryptosporidium PARVUM, Giardia lamblia and Entamoeba histolytica/dispar*; enzyme immunoassay tests by commercial ELISA kits for the diagnosis of toxoplasmosis, echinococcosis, trichinellosis and toxocarosis.

Results: The people with parasitic invasions are 129 (37.1%). The invasion patients with enteroparasites – protozoa and helminths are 39 (11.2%), with *Giardia intestinalis* are 9 (2.6%), with *Blastocystis hominis* are 9 (2.6%), with *Entamoeba coli* are 6 (1.7%), with *Hymenolepis nana* are 6 (1.7%), with *Enterobius VERMICULARIS* are 3 (0.9%), with *Cryptosporidium PARVUM* – 3 (0.9%), and with *Ascaris lumbricoides* – 3 (0.9%). Positive for parasites with tissue localisation are 90 (25.95%): for Toxoplasmosis (positive for *Toxoplasma gondii antibodies* IgG, IgM) are 57 (16.4%) patients, for Trichinellosis (positive for *Trichinella* Antibody ELISA Kits) are 15 (4.3% 2.6%) and for Toxocarosis are 9 (2.6%), and for Echinococcosis – 9 (2.6%) people. Invasion with two species of parasites is established in 12 patients and with three species – in 6 patients. In 69 (19.8%) of the patients with parasitic invasions and chronic allergic symptoms and diseases, antiparasitic treatment (until a negative parasitic outcome) resulted in the passing the main symptoms – itching, redness, coughing, normalization of the leukocyte and eosinophil count.

Conclusion: Patients with chronic allergic symptoms and diseases have a high incidence of endoparasitic invasions. The inclusion, of parasitological examinations in the diagnostic panel in cases with patients manifesting those symptoms and diseases, largely identifies parasitic etiology as a provoking factor.

Key words: Chronic allergies, endoparasites

СЕСИЯ VII

Векторно-предавани инфекции

„ПАПАТАЦИЕВА ТРЕСКА“ И МЕНИНГИТ, ПРИЧИНЕНИ ОТ ФЛЕБОВИРУС ТОСКАНА

И. Христова, Е. Панайотова, И. Трифонова, Т. Гладнишка, Е. Тасева, В. Иванова

НРЛ „Векторно-предавани инфекции“, НЦЗПБ

Флебовирус Тоскана (TOSV) принадлежи към вида Sandfly fever Naples species complex, род *PLEBOVIRUS*, сем. *PHENUVIRIDAE*, разред *BUNYAVIRALES*. Подобно на причинителите на Кримската Конго хеморагична треска и хеморагичната треска с бъбречен синдром вирусната РНК е едноверижна, с отрицателна полярност и се състои от 3 сегмента: малък, среден и голям, кодиращи съответно нуклеопротеина, гликопротеините и РНК-полимеразата. Предаването на инфекцията е посредством флеботомуси. Клиничното протичане най-често е под формата на фебрилно заболяване. Не са редки и случаите на менингит или менингоенцефалит. В ендемични страни като Италия, Испания, Франция, TOSV е сред трите най-чести причинители на вирусен менингит през лятото. Флеботомусни вектори от няколко вида са разпространени в нашата страна. Наше проучване върху серопревалентността на TOSV в страната потвърди широкото разпространение на TOSV. В Националната референтна лаборатория към НЦЗПБ доказваме вирусна РНК в ранния стадий с RT-PCR в кръвта на болния, а при изявена вече симптоматика откриваме специфични ИгМ и ИгГ антитела с ELISA. Очевидно диагнозата се пропуска, затова лекарите трябва да имат възможна TOSV инфекция в диференциално диагностичен план през летните месеци.

Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект ДН03/15/19.12.2016

„PAPPATACI FEVER“ AND MENINGITIS CAUSED BY PFLEBOVIRUS TOSCANA

I. Christova, E. Panayotova, I. Trifonova, T. Gladnishka, E. Taseva, V. Ivanova

NRL „Vector-borne pathogens“, NCIPD

Phlebovirus Toscana (TOSV) belongs to Sandfly fever Naples species complex, genus *PLEBOVIRUS*, fam. *PHENUVIRIDAE*, order *BUNYAVIRales*. Similar to the viruses causing Crimean Congo hemorrhagic fever and hemorrhagic fever with renal syndrome, viral RNA is single-stranded, negative-sense, and consists of three segments: small, medium and large, encoding nucleoprotein, glycoproteins and RNA-polymerase, respectively. Transmission of TOSV is by phlebotomine sandflies. Clinical manifestation is usually as febrile illness. However, cases of meningitis or meningoencephalitis are not rare. In endemic countries like Italy, Spain and France, TOSV is among the three main causes of viral meningitis during the summer. Phlebotomus vectors belonging to several species are distributed in our country. Our investigation on seroprevalence of TOSV in the country confirmed the wide distribution of TOSV. In the National Reference Laboratory at NCIPD, we detect viral RNA at early stage with RT-PCR in blood samples from patients, and in case of already manifested symptoms, we detect specific IgM and IgG antibodies by ELISA. Obviously, the diagnosis is missed, that is why physicians should include possible TOSV infection to the differential diagnosis during the summer months.

Acknowledgement: This work is supported by research grant ДН03/15/19.12.2016, Bulgarian National Science Fund

РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА АЗИАТСКИЯ ТИГРОВ КОМАР AEDES ALBOPICTUS В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2018 Г.

О. Миков

Национален център по заразни и паразитни болести, София

Цел: Азиатският тигров комар *Aedes albopictus* е инвазивен вид, установен за първ път в България през 2011 г. в област Бургас. Между 2012 и 2017 г. е установен в 15 области на страната, като се очаква ареалът му да се разширява.

Материали и методи: От август до октомври 2018 г. в изпълнение на дейностите, заложени в Национална програма за профилактика и контрол на векторно-предавани трансмисивни инфекции при хората в Република България 2014–2018 г., са проведени полеви проучвания за

EXPANSION OF THE ASIAN TIGER MOSQUITO AEDES ALBOPICTUS IN BULGARIA IN 2018

O. Mikov

National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

Aim: The Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* is an invasive species found for the first time in Bulgaria in 2011 in Burgas region. Between 2012 and 2017, it has established in 15 regions of the country, and its range is expected to expand.

Materials and methods: From August to October in 2018, by implementing the activities planned in the National programme for prevention and control of vector-borne infections in humans in the Republic of Bulgaria 2014–2018, field studies to detect the species were conducted in all regions of the country. The sampling was performed by ovitraps used to detect eggs laid by the females

установяване на вида във всички области на страната. Уловът е провеждан с капани за яйцеснасяне, посредством които се установяват яйца, снесени от женските на *Ae. albopictus*. Общо 250 сбора на субстратите за яйцеснасяне са проведени в 30 локации на 28 области. В 22 локации от капаните са събрани ларви, които са отгледани до имаго в лабораторни условия. Възрастните комари са определяни видово по морфологични белези.

Резултати: Присъствието на *Ae. albopictus* се потвърждава в областите Благоевград, Бургас, Варна, Велико Търново, Видин, Враца, Кърджали, Монтана, Пазарджик, Пловдив, Русе, Сливен, Стара Загора, Хасково и Ямбол. За пръв път се установява в областите Габрово, Добрич, Ловеч, Плевен, Силистра и Търговище. В областите Кюстендил, Перник, Разград, Смолян, София, София (столица) и Шумен тигровият комар не е установен.

В областите, в които е разпространен, *Ae. albopictus* е установяван в селища с надморска височина между 10 и 398 м. Присъствието му в различни части на България предполага разпространение както от една област в съседните й, така и многобройни, независими една от друга точки на внос.

Ключови думи: *Aedes albopictus*, разширение на ареала, България

of *Ae. albopictus*. A total of 250 oviposition substrates were collected from 30 locations in 28 regions. Mosquito larvae collected from ovitraps in 22 locations were raised to adults under laboratory conditions. Adult mosquitoes were identified morphologically.

Results: The establishment of *Ae. albopictus* was confirmed in the regions of Blagoevgrad, Burgas, Varna, Veliko Tarnovo, Vidin, Vratsa, Kardzhali, Montana, Pazardzhik, Plovdiv, Ruse, Sliven, Stara Zagora, Haskovo and Yambol.. For the first time it was detected in the regions of Gabrovo, Dobrich, Lovech, Pleven, Silistra and Targovishte. In the regions of Kyustendil, Pernik, Razgrad, Smolyan, Sofia, Sofia (stolitsa) and Shumen, the Asian tiger mosquito was not found.

In areas where it was present, *Ae. albopictus* was found in settlements with an altitude between 10 and 398 metres above sea level. Its presence in different parts of Bulgaria suggests both distribution from one region to the neighbouring ones, and numerous independent introductions from different points of entry.

Keywords: *Aedes albopictus*, expansion, Bulgaria

СЪСТОЯНИЕ НА ПАРАЗИТОЗИТЕ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2018 Г.

И. Райнова, Р. Харизанов, Н. Цветкова, Р. Борисова, Е. Кънева, А. Иванова, И. Кафтанджиев, О. Миков, М. Виденова

Отдел „Паразитология и тропическа медицина“
Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София

Анализът на паразитните болести се извършва всяка година в нашата страна поради спецификата на заразяването и продължителното хронично протичане на голям брой от тях. Характерно за паразитните инвазии е честото засягането на децата, посещаващи детски заведения, поради липсата на изградени хигиенни навици и близкия контакт помежду им. Цел на настоящата работа е оценка на състоянието на паразитозите в България през 2018 г. Като материали са използвани данните от годишните отчети на паразитологичните структури от РЗИ, ЛЗ, МУ и НЦЗПБ. Общо през 2018 г. са изследвани над 600 000 лица, от които диагностицирани с различни паразитози са над 1% от посочените в отчетните форми. Ехинококозата и трихинелозата запазват своето здравно значение, въпреки че през 2018 г. са регистрирани най-малък брой случаи на кистна ехинококоза през последните 10 години – 206. Заболяемостта от трихинелоза е 0,64‰ от съобщени общо 4 епидемични взрива в три области на страната. При геохелминтозите (аскаридоза и трихоцефалоза) заболяемостта е съответно 11‰ и 1,7‰. В сравнение с предходни години данните за ентеробиозата показват ново увеличение на случаите през 2018 г. (6331 към 5472 за 2017 г.). При вектор-преносимите паразитози през годината вносна малария е диагностицирана при 8 пациенти, като 5 от тях са български граждани и 3 са чужденци. Анализът на данните показва, че паразитните болести в България не намаляват и затова е необходимо запазване и укрепване на мрежата за надзор и контрол и особено включването в структурите по медицинска паразитология на нови кадри.

Ключови думи: паразитози, заболяемост, зоонози

STATUS OF PARASITIC DISEASES IN BULGARIA IN 2018

I. Rainova, R. Harizanov N. Tsvetkova, R. Borisova, E. Kaneva, A. Ivanova, I. Kaftandjiev O. Mikov, M. Videnova

Department «Parasitology and Tropical Medicine»
National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia

Analysis of parasitic diseases in our country is carried out annually due to the specificity of infection and prolonged chronic course of a large number of them. Parasitic infections typically most often affect children attending childcare facilities due to the lack of hygienic habits and the close personal contact among them. The **aim** of the present work is to assess the condition of the parasitic diseases in Bulgaria in 2018. The data from the annual reports of the parasitic structures from the RHI, private diagnostic laboratories, MU and NCIPD are used as materials. A total number of more than 600,000 individuals were examined in 2018, more than 1% of whom were diagnosed with different parasitoses of those indicated in the reporting forms. **Echinococcosis and trichinellosis** retain their health importance, although in 2018 was registered the lowest number of cases of cystic hydatid disease in the last 10 years – 206. *Trichinella* incidence is 0,64‰ of the total reported four outbreaks in three country regions. In **soil transmitted** parasitoses (ascariasis and trichuriasis) morbidity is 11‰ and 1.7‰ respectively. Compared to previous years data for enterobiosis show a new increase in cases in 2018 (6331 to 5472 to 2017). In **vector-transmitted parasitic diseases** imported malaria was diagnosed in 8 patients, 5 of them Bulgarian citizens and 3 foreigners. The analysis of the data shows that the parasitic diseases in Bulgaria are not diminishing and therefore it is necessary to preserve and strengthen the surveillance and control network and especially the inclusion of new specialists in the structures of medical parasitology.

Keywords: parasitoses, morbidity, zoonoses

СЕСИЯ VIII

Инфекции, свързани с медицинското обслужване и при имунодефицитни състояния

HELICOBACTER PYLORI ИНФЕКЦИЯ ПРИ ДЕЦА С БОЛЕСТТА НА CROHN, УЛЦЕРОЗЕН КОЛИТ И ЦЕЛИАКИЯ

Л. Боянова[1], П. Хаджийски[2], Р. Марковска[1], И. Митов[1]

[1] Катедра медицинска микробиология, Медицински университет-София, България
[2] СБАЛДБ, Медицински университет-София, България

Цел: Да се проучи връзката между Helicobacter pylori инфекцията с автоимунните чревни заболявания (AIMD като възпалително заболяване на червата и целиакия) сред педиатричните пациенти у нас. Материали/методи: Беше изследвана честотата на *H. pylori* инфекцията при 47 български деца с AIMD спрямо тази при 569 деца без тези заболявания. Резултати: Пациентите с AIMD имаха 2 пъти по-ниска честота на *H. pylori* инфекцията (12.8%) спрямо контролната група (26.0%, p=0.044). Само 12.5% от децата с Болестта на Crohn, 10.0% от тези с улцерозен колити 14.3% от децата с целиакия бяха *H. pylori* позитивни. Възможните причини за асоциацията са обсъдени. Заключение: Въпреки че имуномодулаторните последствия от H. pylori инфекцията в патогенезата на AIMD продължава да бъде противоречива тема, ние намерихме сигнификантна обратна асоциация между тези интестинални болести и *H. pylori* инфекцията при българските педиатрични пациенти.

Ключови думи: *Helicobacter pylori*; възпалителна чревна болест-IBD; целиакия

HELICOBACTER PYLORI INFECTION IN BULGARIAN CHILDREN WITH CROHN'S DISEASE, ULCERATIVE COLITIS AND CELIAC DISEASE

L. Boyanova[1], P. Hadzhiyski[2], R. Markovska[1], I. Mitov[1]

[1] Department of Medical Microbiology, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria
[2] Specialized Hospital for Active Pediatric Treatment, Medical University of Sofia, Bulgaria

Purpose: To assess *Helicobacter pylori* infection prevalence among Bulgarian pediatric patients with autoimmune intestinal diseases (AIMDs such as inflammatory bowel disease and celiac disease). *Methods:* We evaluated *H. pylori* infection rates in 47 Bulgarian children with AIMDs in comparison with 569 children lacking the diseases. *Results:* AIMD patients had 2-fold lower prevalence of *H. pylori* infection (12.8%) compared with the control group (26.0%, p=0.044). Only 12.5% of Crohn's disease patients, 10.0% of those with ulcerative colitis and 14.3% of the children with celiac disease were *H. pylori* positive. The possible reasons for the association are discussed. *Conclusions:* Although immunomodulatory consequence of *H. pylori* infection in AIMD pathogenesis still remains a topic of controversy, we observed a significant inverse association between these intestinal diseases and *H. pylori* infection in Bulgarian pediatric patients.

Keywords: *Helicobacter pylori;* inflammatory bowel disease-IBD; celiac disease

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ИНФЕКЦИОЗЕН ЕНДОКАРДИТ, ПРИЧИНЕН ОТ S.GALLOLYTICUS SUBSP. PASTEURIANUS, АСОЦИИРАН С КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

И. Гергова[1], Л. Демиревска [2], В. Иванов[3], А. Чобанов[2], В. Димов[4], И. Даскалов[2]

[1] Клиника Кардиология, Военномедицинска академия, София
[2] Катедра Военна епидемиология и хигиена, Военномедицинска академия, София
[3] Клиника Чернодробно-панкреатична и трансплантационна хирургия, Военномедицинска академия, София
[4] Катедра Анестезиология, реанимация и интензивно лечение, Военномедицинска академия, София

Въведение. Представяме случай на инфекциозен ендокардит, причинен от S.gallolyticus subsp. pasteurianus, асоциран с две асимтоматични синхронни неоплазми, локализирани в колона, различаващи се хистологично.

CLINICAL CASE OF INFECTIVE ENDOCARDITIS CAUSED BY S.GALLOLYTICUS SUBSP. PASTEURIANUS, ASSOCIATED WITH COLORACTAL CARCINOMA

L. Demirevska [1], I. Gergova [2], V. Ivanov[3], A. Chobanov[1], V. Dimov[4], I. Daskalov[2]

[1] Cardiology Department, Military Medical Academy, Sofia
[2] Department of Military Epidemiology and Hygiene, Military Medical Academy, Sofia
[3] Clinic of Hepato-pancreatic surgery and transplantology, Military Medical Academy, Sofia
[4] Department of Anaesthesiology and Critical Care, Military Medical Academy, Sofia

Introduction. We present a case of *S.gallolyticus subsp. pasteurianus* infective endocarditis associated with two asymptomic synchronic colonic neoplasms. The histopathogical result of the two neoplasms were different.

Клиничен случай. 65-годишен мъж постъпва в Клиника „Кардиология“ с анамнестични и клинични данни, насочващи към инфекциозен ендокардит. Проведените трансторакална и трансезофагеална ехокардиографии установяват вегетации по платната на митралната и аортната клапи. Взеха се два сета хемокултури и се стартира емпирична комбинирана антимикробна терапия, съгласно „Справочник за емпирична антимикробна терапия на ВМА“. Изолира се *S.gallolyticus subsp. pasteurianus* и според определената антимикробна чувствителност, не се наложи промяна в антимикробната терапия. Въпреки, че асоциацията между *S.gallolyticus subsp. pasteurianus* и колоректалния карцином е едва 18%, при клинико-лабораторното обсъждане се взе решение пациентът да бъде скриниран за колоректален карцином, чрез фиброколоноскопия. Установиха се две синхронни неоплазми, определени хистологично като високодиференциран аденокарцином (G1pT2N0Mx), локализиран в coecum и умерено диференциран аденокарцином (G2pT3N0Mx), в colon sigmoideum, и множество хиперпластични полипи, разпръснати в colon descendens. На 20-тия ден от приема, след общо четири негативни хемокултури (две двойки, взети през интервал от пет дни), се извърши субтотална колектомия с илео-сигмоанастомоза, изпреварваща насроченото клапно протезиране. Контролната фиброколоноскопия на 6-тия месец не установи нови лезии или образувания в колона.

Заключение. Мултидисциплинарният подход, приложен от широк екип от специалисти, включващ кардиолог, микробиолог, гастроентеролог, патоанатом, хирург и др. е ключов момент в диагностично-лечебния процес на инфекциозния ендокардит, причинен от *S.gallolyticus subsp. pasteurianus* и асоциран с колоректален карцином. При подобни на описания случаи, е необходимо извършването на скрининг за колоректален карцином.

Ключови думи: колоректален карцином, инфекциозен ендокардит, *S.gallolyticus subsp. pasteurianus*

Case presentation. 65-year-old male presented to The Cardiology Department with anamnestic and clinical data guided to infective endocarditis. Transthoracic and transesophageal echocardiography were performed showing vegetations of the mitral and aortic valves. Two sets of haemocultures were taken and empirical combined antimicrobial therapy was started according to the Guideline for empiric antimicrobial therapy of MMA. *S.gallolyticus subsp. pasteurianus* was isolated. There was no change of the empiric therapy according to antimicrobial susceptibility result. The clinical-laboratory group decided to screen the patient for colorectal carcinoma by fibrocolonoscopy, although the association between *S.gallolyticus subsp. pasteurianus* and the colorectal carcinoma is only 18%. The fibrocolonoscopy revealed two synchronic neoplasms and a lot of hyperplastic colon polyps. The first neoplasm from the caecum was histopathologically determined as well-differentiated adenocarcinoma (G1pT2N0Mx) and the second one – moderately-differentiated adenocarcinoma (G2pT3N0Mx). The patient underwent a subtotal colectomy with ileosigmoid anastomosis, after four negative haemocultures (two sets were taken at an interval of 5 days), on the 20th day of the hospitalization, before a scheduled valve reconstruction. Fibrocolonoscopy performed 6 months later, did not detect new lesions or formations.

Conclusion. The multidisciplinary approach, implemented by a broad spectrum of professionals – cardiologist, microbiologist, gastroenterologist, pathologist, surgeon etc., is a key point of the diagnostic and therapeutic decision-making process in infective endocarditis caused by *S.gallolyticus subsp. pasteurianus,* associated with colorectal carcinoma. Screening fibrocolonoscopy should be performed in patients exhibiting any *S.gallolyticus* bacteremia.

Key words: colorectal carcinoma, infective endocarditis, *S.gallolyticus subsp. pasteurianus*

БИОФИЛМ ОБРАЗУВАНЕ ОТ *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* – ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА И ПРЕДВАРИТЕЛНИ РЕЗУЛТАТИ

Т. Стратева[1], А. Трифонова[2], Е. Савов[3], И. Митов[1]

[1] Катедра по медицинска микробиология, Медицински факултет, Медицински Университет – София; [2]Лаборатория „Микробиология“, Катедра „Военна епидемиология и хигиена“, Военномедицинска академия – София; [3]Лаборатория „Микробиология“, МБАЛ Самоков.

BIOFILM FORMATION BY *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* – A LITERATURE REVIEW AND PRELIMINARY RESULTS

T. Strateva[1], A. Trifonova[2], E. Savov[3], I. Mitov[1]

[1] Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Medical University of Sofia;
[2] Laboratory of Microbiology, Department of Military Epidemiology and Hygiene, Military Medical Academy, Sofia;
[3] Laboratory of Microbiology, MHAT Samokov.

Stenotrophomonas maltophilia е един от най-важните и проблемни за лечение вътреболнични патогени. Разнообразие от фактори на вирулентност участват в патогенезата на инфекциите, която е пряко свързана и със способността на бактериалните клетки да образуват биофилм върху абиотични повърхности и тъкани на макроорганизма.

Цел: Представяне на фенотипните характеристики и генетичните механизми при формиране на биофилм от *S. maltophilia*, неговото участие в междуклетъчната сигнализация и възможните терапевтични подходи за отстраняването му, описани в литературата, както и собствени предварителни резултати от проучвания на биофилм-свързаните гени.

Материали и методи: Общо 168 нозокомиални изолати *S. maltophilia*, идентифицирани чрез полимеразно-верижна реакция (PCR) за детекция

Stenotrophomonas maltophilia is one of the most important and problematic nosocomial pathogens. A variety of virulence factors contributes to the pathogenesis of infections which is directly associated with the ability of bacterial cells to form biofilms on abiotic surfaces and host tissues.

Purpose: This work presents the literature data regarding phenotypic characteristics and genetic mechanisms of biofilm formation by *S. maltophilia*, its involvement in the cell-to-cell signaling and possible therapeutic approaches for removal, as well as preliminary personal results obtained by a study on the biofilm-associated genes.

Materials and methods: A total of 168 *S. maoltophilia* nosocomial isolates identified by a polymerase chain reaction (PCR) of the 23S rRNA gene was collected during 2011–2016 from five university hospitals in Sofia. Biofilm-related genes, including *spgM*, *rmlA* and *rpfF*, were also detected by PCR.

на 23S рРНК гена, бяха събрани през периода 2011–2016 г. от пет университетски болници в София. Биофилм-свързаните гени, *spgM*, *rmlA* и *rpfF*, също бяха доказани чрез PCR.

Резултати: Общата честота на биофилм-асоциираните гени беше следната: *spgM* – 26.8%, *rmlA* – 85.1%, и *rpfF* – 60.7%. Частта от щамовете, притежаващи едновременно два гена (*rmlA*+*rpfF*), беше 37.5%, в 29.8% от тях беше установен един ген (*rmlA* или *rpfF*), а в 14.3% тройната генна комбинация. Беше установена значимо по-висока честота на *rpfF* сред изолатите от долни дихателни пътища (ДДП) спрямо изолатите от рани (61.4% *спрямо* 37.5%, p<0.05), както и по-голямо разпространение на *spgM* при изолатите от рани в сравнение с тези от ДДП (58.3% / 15.8%, p<0.001).

Заключение: Ограничените към момента терапевтични подходи за предотвратяване образуването на биофилм и присъщата антимикробна резистентност на бактериалните клетки, включени в него, представляват сериозна заплаха за общественото здраве. Необходими са бъдещи проучвания за по-доброто разбиране как на механизмите на формиране, така и на динамиката на биофилма при *S. maltophilia*, за да бъдат разработени стратегии за неговия контрол.

Ключови думи: *Stenotrophomonas maltophilia*, биофилм, биофилм-свързани гени.

Results: The overall prevalence of biofilm-associated genes was as follows: *spgM* – 26.8%, *rmlA* – 85.1%, and *rpfF* – 60.7%. The part of strains harboring both genes (*rmlA*+*rpfF*) was 37.5%, 29.8% of the strains possessed either the *rmlA* or the *rpfF* gene, and 14.3% of them exhibited the triple gene combination. The *rpfF* gene showed a significantly higher incidence among lower respiratory tract infection (LRTI) isolates of *S. maltophilia* compared to those causing wound infections (WI) (61.4% *vs.* 37.5%, p<0.05) while *spgM* was more prevalent in WI (58.3%) than in LRTI (15.8%) isolates (p<0.001).

Conclusion: The currently limited therapeutic approaches to prevent the biofilm formation and the typical antimicrobial resistance of the bacterial cells included therein pose a serious threat to the public health. Further studies are needed to better understanding both the mechanisms of formation and the dynamics of biofilm in *S. maltophilia* in order to develop strategies for its control.

Keywords: *Stenotrophomonas maltophilia*, biofilm, biofilm-associated genes.

СЕСИЯ IX

Зооантропонози с епидемичен риск. Разни.

ПРОУЧВАНЕ НА КРЪСТОСАНИ СЕРЛОГИЧНИ РЕАКЦИИ ПРИ БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТИ С БРУЦЕЛОЗА И ТУЛАРЕМИЯ

Р. Ненова, И. Томова, Т. Кантарджиев

НРЛ"Особено опасни бактериални инфекции", НЦЗПБ

Наблюдавани са кръстосани серологични реакции между *Brucella* spp и други Грам отрицателни бактерии, като *Y enterocolitica* O:9, *F tularensis, V cholera, и Sallmonella* O:30. Кръстосаната реактивност се дължи на близки имунодоминантни епитопи, (N-acylated D-perosamine) в състава на О-липополизахарида (ЛПЗ) на клетъчната им стена. При срещата на макроорганизма с тези бактерии е възможно изработването на кръстосано реагиращи антитела в значими титри, което би могло да създаде диагностични проблеми при използване на серологични тестове, базирани на доказването на антитела към бактериалния ЛПЗ.

Цел: Да се проучат кръстосаните серологични реакции при български пациенти с доказани бруцелоза и туларемия.

Материали и методи: Изследвани са серумни проби от пациенти с доказана туларемия, от огнищата на заболяването в Пернишка и Софийска области (1998–2004г.). За серологична диагноза са използвани: Реакция степенна аглутинация; Реакция непряка хемаглутинация (PHXA) и имунохроматографски тест VIRAPID (Vircell). Серумни проби от пациентис доказана бруцелоза от три епидемични огнища и отспорадични случаи са изследвани с: тест с Бенгалско розово (RBST); стандартен аглутинационен тест (SAT); реакция COOMBS и Brucellacapt (Vircell).

Резултати и обсъждане: Петнайсет броя (3,76%) от общо 398 серумни проби със сигнификантни за туларемия титри в SAT (≥ 1:80) реагираха кръстосано с *Brucella* антигени в RBST и/или в SAT. От 376 серумни проби изследвани за бруцелоза (≥ 1:160), при 5 (1,33%) бяха доказани кръстосани реакции с *F tularensis* антигени. Третирането на споменатите 20 проби с dithiothreitol (DTT), който разкъсва дисулфидните мостове и деполимеризира антителата от клас М доведе до редукция на титрите в RBST и SAT.

Резултатите сочат, че кръстосаните аглутинационни титри се дължат главно на антителата от клас IgM, които са DTT чувствителни.

Заключение: В случаите, когато се използват диагностични тестове доказващи антитела към ЛПЗ на *Brucella* spp или *F tularensis* е необходимо да бъдат отчитани евентуални неспецифични реакции. Това е особено наложително в райони, където се срещат и двете инфекции, както е и в нашата страна.

Ключови думи: F tularensis, Brucella spp, *серологична диагноза, кръстосани реакции*

A STUDY OF SEROLOGICAL CROSS-REACTIONS AMONG BULGARIAN PATIENTS WITH BRUCELLOSIS OR TULAREMIA

R. Nenova, I. Tomova, T. Kantardjiev

NRL High Medical Risk Infections (NRL HMRI), NCIPD

Serological cross-reactions between *Brucella* species and other Gram-negative bacteria, such as *Y enterocolitica* O:9, *F tularensis, V cholera*, and *Sallmonella* O:30 have been detected. This cross-reactivity is due to a similar immundminant epitope (N-acylated D-perosamine) in O-polysaccharide (LPS) of these organisms. The contact between macro-organism and these bacteria can result in production of significant titres of cross-reactive antibodies. This could create serious diagnostic problems when using serological tests based on bacterial LPS antigens.

Aim of the study: To assess cross-serological reactions in Bulgarian patients with proven brucellosis or tularemia.

Materials and Methods Serum samples from patients with tularemia from epidemic foci in Pernik and Sofia districts (1998–2004) were tested in Standard agglutination test (SAT); Indirect haemagglutination test and VIRAPID (Vircell). Serum samples from patients with brucellosis from three outbreaks and from sporadic cases were tested in Rose Bengal test (RBST); SAT; $COOMB_S$ and Brucellacapt (Vircell).

Results and discussion: Cross-reaction titers to *Brucella* antigens were found in 15 of 389 (3,76%) tularemia positive serum samples (≥ 1:80) by using RBST and SAT. Five (1.33%) of 376 serum samples tested for brucellosis (≥ 1: 160), cross-react with *F tularensis* antigens. Treatment of these 20 sera with dithiothreitol (DTT), which cleaves disulfide bonds and depolymerizes immunoglobulin M antibodies, resulted in a reduction in agglutinins'titers.

These results suggest that cross-reaction titers are due mainly to IgM antibodies.

Conclusion It is necessary to take into account any non-specific serological reactions when using agglutination tests based on *Brucella* or *F tularensis* LPS antigens. This is crucial in areas where both infections occur among humans, as is the case in our country.

Key words: *F tularensis, Brucella spp, serological diagnosis, cross reactions*

ВИСЦЕРАЛНА ЛАЙШМАНИОЗА ПРИ ХОРАТА В БЪЛГАРИЯ: РАЗПРОСТРАНЕНИЕ И ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗА 30-ГОДИШЕН ПЕРИОД (1988–2018 Г.)

Р. Харизанов[1], И. Райнова[1], И. Кафтанджиев[1], О. Миков[1], Н. Цветкова[1], Р. Борисова[1], А. Иванова[1], М. Виденова[1]

[1] Национален Център по Заразни и Паразитни болести, Отдел Паразитология и тропическа медицина

Цел. Целна проучването е да се направи ретроспективен анализ на разпространението на автохтонната и внасяна ВЛ, както и на крайните резултати от сероепидемиологично проучване, проведено в рамките на Национална програма за контрол и профилактика на векторно предавани инфекции при хората в България 2014–2018.

Материали/Методи. Използвани са данни на ОПТМ за преминали пациенти и резултати от лабораторни изследвания и данни от карти за епидемиологично проучване на случаи на заболяване подлежащи на задължително оповестяване.

Резултати. За проучвания период в страната са регистрирани общо 160 случая на ВЛ, от които 149 първични местни, 4 случая на рецидив и 7 случая на внос на заболяването от други Европейски страни с ендемично разпространение на ВЛ. Разпределението на заболелите по пол показва преимуществено засягане на мъжкия (n=147) пред женския (n=43) в съотношение 3.4:1, докато броят на заболелите в лица в детско-юношеска възраст и възрастни е идентичен (n=80). Сероепидемиологичното проучване сред здрави контингенти е с данни за 1.27% серопревалентност за ВЛ. Проучването в двете области с най-голям брой регистрирани случаи на заболяване в последните години е с данни за 0.67% серопревалентност в обл. Благоевград и 1% за обл. Пловдив.

Заключение. Независимо че заболяемостта от ВЛ в България е относително ниска, тежестта на клиничните прояви и риска от смъртен изход са причина да се приеме, че ВЛ е заболяване с голямо медицинско значение за общественото здравеопазване.

Ключови думи: висцерална лайшманиоза; серопревалентност; разпространение

HUMAN VISCERAL LEISHMANIASIS IN BULGARIA: DISTRIBUTION AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS FOR A 30-YEAR PERIOD (1988–2018)

R. Harizanov[1], I. Rainova[1], I. Kaftandjiev[1], O. Mikov[1], N. Tsvetkova[1], R. Borisova[1], A. Ivanova[1], M. Videnova[1]

[1] National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Department of Parasitology and Tropical Medicine

Aim of the study is to conduct a retrospective analysis of the prevalence of indigenous and imported VL and to present the final results from seroepidemiological study conducted within the framework of the National Program for Control and Prophylaxis of Human Vector-borne Infections in Bulgaria 2014–2018.

Materials/Methods. For this study we used (i) data from registration cards of VL cases, (ii) data from the annual analyses of the parasitic morbidity in the country released by NCIPD each year and (iii) data from the clinical exams of patients checked at the DPTM at NCIPD.

Results. During the studied period, a total of 160 cases of VL were reported in the country, of which 149 primary local, 4 cases of relapse and 7 imported cases of disease from other European countries with endemic VL distribution. The distribution by gender shows that predominantly affected was male sex (n = 147) in comparison with the female (n = 43) with ratio of 3.4:1, while the number of infected children and adults was identical (n = 80). The seroepidemiological study among healthy persons displays 1.27% seroprevalence for VL. Study in two areas with highest number of registered cases in the last years established 0.67% seroprevalence in the Blagoevgrad region and 1% for Plovdiv region.

Conclusion. Although the incidence of VL in Bulgaria is relatively low, its severe course and the possibility of a lethal outcome is a reason to regard visceral leishmaniasis as an illness with high impact on public health.

НОВ ПОДХОД В ПРОБЛЕМЪТ ЗА КЛАСИФИКАЦИЯТА НА ОСНОВНИТЕ ФИЛОГЕНЕТИЧНИ КАТЕГОРИИ

Р. Димитров[1], Д. Гулямова[2]

[1] Национален център по инфекциозни и паразитни болести, Отдел по микробиология сектор по Биоинформатика и геномна еволюция на микробите Бул Янко Сакъзов 26, София, 1504 България

[2] Институт по Микробиология БАН, Г. Бончев 26, София, 1113 България.

Въпреки значителния напредък постигнат през последните 10 години в класификацията на дрождите, все още са налице критични пропуски. Много дрождеви родове са парафилетични или полифилетични, а разклоненията на филогенетичното дърво които отделят монофиле-

EW APPROACH TO THE PROBLEM FOR THE CLASSIFICATION OF THE MAIN PHYLOGENETIC CATEGORIES

R. Dimitrov[1], D. Gouliamova[2]

[1] National Centre for Infectious and Parasitic Diseases, Dept. of Microbiology, Sector of Bioinformatics and Genome evolution of microbes Blvd. 26 Yanko Sakazov, Sofia, 1504 Bulgaria

[2] Institute of Microbiology BAS, G. Bonchev 26, Sofia 1113, Bulgaria

Despite the significant progress made over the last 10 years in the classification of yeasts, there are still critical gaps. Many yeast genera are paraphyletic or polyphyletic, and the branches of the phylogenetic tree that separate the monophyletic clades from genus, family and upwards have very low or no statistical support. This report will summarize the results obtained

тичните кладове от род, семейство и нагоре имат много ниска или нулева статистическа поддръжка. В настоящият доклад ще бъдат обобщени получените досега от нас резултати в рамките на съвършенно ново развитие на идеите поставени в нашата предишна статия Gouliamova et al. (2016). Новият подход в проблемът за класификацията на основните филогенетични категории не е статистически, а основният акцент се поставя върху съществуването на граница между филогенетичните категории от вид, род и нагоре където някои фундаментални генетични и фенотипни характеристики се изменят със скок и образуват така наречените гепове (Hawksworth et al., 1995). По този начин новоопределените вид, род или семейство ще имат уникална комбинация от генетични и фенотипни характеристики, които ще ги отличават на генетично, фенотипно и биогеографско ниво. В докладът ще бъдат разгледани: Нов вид, Kazachstania chrysolinae изолиран от червата на насекоми; Нов род дрожжи Grigorovia и нов вид Kazachstania bozae изолиран от традиционната българска напитка боза; Нов род и вид Nematodospora valgi изолиран от червата на насекоми. Получените досега резултати на генетично и фенотипно ниво изграждат експериментална и моделна основа за използване на молекулярните механизми на геномната и функционалната еволюция на пълните геноми при анализ на границите между отделните категории върху филогенетичното дърво.

so far within the framework of a completely new development of the ideas put forward in our previous article Gouliamova et al. (2016). The new approach to the classification of the main phylogenetic categories is not statistical, but the focus is on the existence of a boundary between the phylogenetic categories of a species, genus and above where some fundamental genetic and phenotypic characteristics change with a jump and form so-called gaps (Hawksworth et al., 1995). Thus, the new species, genus or family will have a unique combination of genetic and phenotypic characteristics that will distinguish them on genetic, phenotypic and biogeographic levels. The report will consider: A new species, Kazachstania chrysolinae, of the strains IMB190 and IMB190R, which were isolated in Bulgaria from the gut of insects; New genus Grigorovia and new species Grigorovia bozae are available for IMBBR1 and IMBBR2 strains isolated from the traditional Bulgarian beverage; New species and genus, Nematodospora valgi for anamorphic yeast strains MB811804 D37ST and MB802458 isolated from the gut of insects. The results obtained so far at the genetic and phenotypic level form an experimental and model basis for the use of the molecular mechanisms of genomic and functional evolution of the complete genomes for analysis of the boundaries between the different categories on the phylogenetic tree.

1. IN VITRO ЧУВСТВИТЕЛНОСТ КЪМ COLISTIN И CEFTAZIDIME/AVIBACTAM НА КАРБАПЕНЕМ – РЕЗИСТЕНТНИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ИЗОЛИРАНИ ОТ ПАЦИЕНТИ В ИНТЕНЗИВНИ И НЕ-ИНТЕНЗИВНИ КЛИНИКИ НА УМБАЛ „СВЕТА МАРИНА“ – ВАРНА

Г. Неделчева[1], М. Божкова[1], Р. Марковска[2], Д. Димитрова[1], В. Каменова[1], Т. Стоева[1]

[1] Медицински Университет, Катедра Микробиология и Вирусология, Варна; УМБАЛ“Света Марина“, Варна
[2] Медицински Университет, Катедра Медицинска Микробиология, София

Резюме: Цел: да се проучи *in VITRO* активността на ceftazidime-avibactam и colistin срещу клинични изолати *K. pneumoniae*, нечувствителни към карбапенеми (meropenem, imipenem), получени от пациенти, хоспитализирани в интензивни и не-интензивни клиники на УМБАЛ „Света Марина“ – Варна в периода 2013 – 2017г. Материали и методи: Проучени са общо 44 недублиращи се, карбапенем-нечувствителни изолата *K. pneumoniae*, предварително охарактеризирани за носителството на *bla* гени, кодиращи карбапенемази от различни класове: bla_{KPC-2} – n=39; bla_{NDM-1} – n=3; bla_{VIM-1} – n=1; bla_{OXA-48} – n=1. Чувствителността към карбапенеми (imipenem, meropenem) и ceftazidime/avibactam е определена чрез дисково-дифузионния метод, а тази към colistin – чрез метода на серийните разреждания при използване на плаки MICROLATEST MIC COLISTIN (Erba Lachema). Резултати: Делът на colistin – резистентните изолати в цялата проучвана група е 22.7%, като сред изолатите от ICUs достига 29.6%. От всички 44 карбапенем-нечувствителни *K. pneumoniae*, резистентност към ceftazidime/avibactam е установена в 3 изолата (6.8%), всички продуценти на метало-карбапенемазата NDM-1. Едновременна резистентност към ceftazidime/avibactam и colistin е доказана в два NDM-1 продуциращи изолата *K. pneumoniae.* Заключение: настоящото проучване установява тревожно високи нива на резистентност към colistin в сред карбапенем-нечувствителни изолати *K. pneumoniae* Наскоро въведения в клиничната практика ceftazidime-avibactam демонстрира много добра in vitro активност към карбапенем-резистентни изолати *K. pneumoniae*, продуциращи карбапенемази от класове A и D (KPC-2, OXA-48), но не и от клас B метало-карбапенемази (NDM-1).

Ключови думи: colistin, ceftazidime/avibactam, карбапенем резистентни *K. pneumoniae*

1. IN VITRO SUSCEPTIBILITY TO COLISTIN AND CEFTAZIDIME/AVIBACTAM IN CARBAPENEM-RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ISOLATED FROM PATIENTS IN INTENSIVE AND NON-INTESIVE CARE UNITS OF UNIVERSITY HOSPITAL „SAINT MARINA“ – VARNA

G. Nedelcheva[1], M. Bozhkova[1], R. Markovska[2], D. Dimitrova[1], V. Kamenova[1], T. Stoeva[1]

[1] Medical University, Department of Microbiology and Virology, Varna; UHAT“Saint Marina“, Varna
[2] Medical University, Department of Medical Microbiology, Sofia

Abstract: the aim of this study was to investigate the *in VITRO* susceptibility to ceftazidime-avibactam and colistin of clinical isolates of *K. pneumoniae*, non-susceptible to carbapenems (meropenem, imipenem), obtained from patients, hospitalized in Intensive and non-Intensive Care Units of University Hospital „Saint Marina“ – Varna during the period 2013 – 2017. Material and methods: a total of 44 carbapenem-nonsusceptible isolates of *K. pneumoniae*, previously characterized for carriage of *bla* genes, coding carbapenemases from different classes, were studied: bla_{KPC-2} – n=39; bla_{NDM-1} – n=3; bla_{VIM-1} – n=1; bla_{OXA-48} – n=1. The susceptibility to carbapenems (imipenem, meropenem) and ceftazidime-avibactam was determined by disc-diffusion method; the suceptibility to colistin – by broth microdilution method, using MICROLATEST MIC COLISTIN plates (Erba Lachema). Results: the resistance rate to colistin was 22.7% in the whole studied group of isolates and 29.6% among the ICU isolates. Resistance to ceftazidime-avibactam was detected in 3 isolates, that were producers of NDM-1 metallo-carbapenemase (6.8%). Resistance to both ceftazidime-avibactam and colistin was detected in two NDM-1 producings *K. pneumoniae* isolates. Conclusions: the current study found high rates of colistin resistance among carbapenem-nonsusceptible isolates of *K. pneumoniae.* Recently introduced in the clinical practice, ceftazidime-avibactam demonstrated very good *in VITRO* activity against carbapenem-resistant *K. pneumoniae*, producers of class A and D carbapenemases (KPC-2, OXA-48). Ceftazidime-avibactam was not active against class B metallo-carbapenemases (NDM-1).

Key words: colistin, ceftazidime/avibactam, carbapenem resistant *K. Pneumoniae*

2. СЛУЧАИ НА ОСТЪР УРЕТРИТ ПРИ МЪЖЕ, ПРИЧИНЕН ОТ HAEMOPHILUS INFELUENZAE

И. Филипова, И. Н. Иванов, Л. Боянова, Т. Кантарджиев

Въведение: Острият уретрит представлява пнай-честата находка при сексуално предаваните инфекции (СПИ) при мъжете. Прегледът на научната литература показва публикувани случаи на остри уретрити при мъже, дължащи се на *Haemophilus influenzae* и *Haemophilus parainfluenzae*. В това проучване, докладваме за два случая на остър уретрит, причинен от *Haemophilus influenzae*.

Клинични случаи: Двама несвързани помежду си пациенти (34-годишен хетеросексуален мъж и 29-годишен МСМ) постъпват за микробиологично изследване в Националната референтна лаборатория за сексулано предавани инфекции към НЦЗПБ по повод изтичане на мукопурулентен секрет от уретрата. И двамата съобщават, че симптомите им са с давност не повече от 30 дни преди посещението и че са имали небезопасен ораленсекс. Уретритът беше потвърден микроскопски чрез демонстриране на> 5 полиморфонуклеарни левкоцити на зрително поле в направените уретрални препарати. Последващото микробиологично изследване показа наличието на *H. influenzae* като единствен патоген и в двата случая. Идентификацията на бактериите беше извършена с Vitek 2 Compact (BioMerieux, Франция) и потвърдена чрез ДНК секвениране на 16S rRNA ген. Антибиотичната чувствителност беше тествана съобразно EUCAST, като двата изолата бяха чувствителни към цефтриаксон, флуорохинолони и тетрациклини и не продуцираха бета-лактамази. Предписаното лечение в двата случая беше доксициклин 100 mg два пъти дневно в продължение на 7 дни. Последващо контролно изследване след 2 седмици показа пълно клинично излекуване и при двата пациента.

Заключение: Въпреки че първитесъобщения за Haemophilus spp като причинители на уретрит датират от началото на 80-тегодини, през последното десетилетие в научната литература се описват подобни случаи само спорадично. Представители от род Haemophilus следва да се приемат за етиологичен причинител на уретрит, ако след провеждане на щателно микробиологично изследване не може да се идентифицира друг инфекциозен агент. Небезопасният ораленсекс може да се приеме като начин на предаване. Представените тук случаи потвърждават ролята на Haemophilus spp като етиологичен агент при острия негонококов уретрит, особено при пациенти с анамнеза за небезопасен ораленсекс. Пациентите могат да имат симптоми, подобни на тези, причинени от *N. gonorrhoeae*, а клиничното излекуване трябва да бъде потвърдено след приключване на антибиотичната терапия поради вероятността от появата на антибиотична резистентност при Haemophilus spp. В обобщение, представените резулатати биха могли да бъдат полезни за клиницистите, при които постъпват пациенти с остър уретрит, и за съответните микробиологични лаборатории. Насоченото микробиологично изследване за Haemophilus spp трябва да се препоръчва поне в случаи на неспецифични уретрити, които не се повлияват след емпирично лечение.

Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект ДН13/5 от 15.12.2017 „Молекулярно-генетичен подход за подпомагане надзора на антибиотичната резистентност на гонорея и генитална микоплазмена инфекция“

Ключови думи: Haemophilus influenzae, 16S рРНК секвениране, негонококов уретрит, уретрит

2. ACUTE CASES OF HAEMOPHILUS INFLUENZAE URETHRITIS

I. Philipova, I. N. Ivanov, L. Boyanova, T. Kantardjiev

Introduction: Acute urethritis is one of the most common presentations of sexually transmitted infections (STIs) among men. Occasional cases of urethritis due to *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae* males have been reported earlier. Here, we report two cases of acute urethritis caused by *Haemophilus influenzae*.

Case report: Two discrete patients (a 34-year-old heterosexual man and 29 years-old MSM) presented to STIs laboratory at the National Center of Infectious and Parasitic Diseases with a mucopurulent urethral discharge. Both patients reported their symptoms lasted for no more than 30 days prior to the visit and that they had been having unprotected insertive oral sex. The urethritis was confirmed microscopically by demonstrating >5 PMNLs per hpf in urethral smears. Subsequent microbiological testing revealed *H. influenzae* isolate as a sole pathogen in both cases. Identification was performed by Vitek 2 Compact (BioMerieux, France) and confirmed by 16S rRNA gene sequencing. Antimicrobial susceptibility testing was carried out in accordance with EUCAST with both isolates being beta-lactamase nonproducers and susceptible to ceftriaxone, fluoroquinolones and tetracyclines. The prescribed treatment for both cases was doxycycline 100 mg twice daily for 7 days. Follow-up examination 2 weeks later disclosed a complete clinical and microbiological resolution in both patients.

Discussion: Although first reports of Haemophilus species as causative agent of urethritis originated in the early 80ies, only sporadic cases have been reported in the recent decade. Haemophilus spp should be considered a pathogen in acute urethritis when no other infectious agent could be identified after thorough microbiological investigation. Unprotected oral sex can be assumed mode of transmission. Thereby, the presented cases confirm the role of Haemophilus spp as an etiological agent of acute nongonococcal urethritis, especially in patients with history of unprotected oral sex. Patients may present with symptoms similar to those caused by N. gonorrhoeae and clinical cure must be confirmed after treatment due to possible Haemophilus spp antibiotic resistance. In summary, our findings could be useful to clinical providers who treat men with acute urethritis and to corresponding microbiological laboratories. Detection of Haemophilus spp should be recommended at least in cases with non-specific urethritis which do not resolve after empirical treatment.

Acknowledgment: Supported by Research grant DN 13/5–15.12.2017, Bulgarian National Science Fund

Keywords: *Haemophilus influenzae*, 16S rRNA gene sequencing, nongonococcal urethritis, urethritis

3. КОИНФЕКЦИИ СЪС СЕКСУАЛНО ПРЕНОСИМИ ИНФЕКЦИИ ПРИ ЛИЦАТА С HIV В БЪЛГАРИЯ 2014–2018

Р.Димитрова, Л. Николова, А. Ганчева, А. Костадинова, А. Парцунева, Л. Григорова, И. Алексиев

Национална референтна потвърдителна лаборатория по HIV
Национален център по заразни и паразитни болести

Цел Някои сексуално преносими инфекции (СПИ) подпомагат ефективната трансмисия на HIV. Целта на проучването е да се установи разпространението на СПИ сред лицата с HIV, регистрирани в България между 2014 и 2018 години.

Материали и методи НРПЛ по HIV е единствената лаборатория в България, която диагностицира лицата с HIV, съгласно изискванията на Наредба 47 от 11.12.2009 на Министерството на Здравеопазването. Информацията за настоящи и минали СПИ е получена от пациентите по време на диагностичния процес, съгласно „Форма за съобщаване на случаи с ХИВ/СПИН".

Резултати От 2014 г. до края на 2018 г. в България са регистрирани 1196 лица с HIV инфекция. Основните трансмисионни групи са хетеросексуални (ХЕТ), мъже, които правят секс с мъже (МСМ), интравенозни наркомани (ИВН) и МСМ + ИВН. Мъжете доминират и са три четвърти от всички лица с HIV – 1032 (86.3%). 330 (27.6%) от HIV серопозитивните лица са съобщили, че са имали и други СПИ. От тях, най-много СПИ са имали МСМ 54.7%. Най-голяма е броят на лица със сифилис 41,5%, следвани от хепатитни вируси, съответно с HBV 19.4% и HCV 18.5%. За двойна хепатитна коинфекция HBV/HCV са съобщили 2.4% лица. 15.2% от всички лица са съобщили, че са имали повече от една СПИ.

Изводи Всяка година броят на лицата с HIV инфекция се увеличава, като в последните четири години най-голямата трансмисионна група са МСМ. Значителна част от лицата с HIV са инфектирани по сексуален път, като част от тях са имали минала или съпътстваща СПИ. Наличието на коинфекции със СПИ и хепатитни вируси при HIV серопозитивните лица утежнява протичането на HIV инфекцията и подпомага трансмисията на вируса към техните партньори. Поради това е от изключителна важност периодичното изследване на лицата от уязвимите групи и навременното лечение на хепатитните инфекции и СПИ.

Благодарности Това проучване е финансирано от Националния център по заразни и паразитни болести и от „Националната програма за превенция и контрол на ХИВ и сексуално предавани инфекции (СПИ)".

Ключови думи: HIV, сексуално преносими инфекции; коинфекции

3. COINFECTIONS WITH SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS IN INDIVIDUALS WITH HIV IN BULGARIA 2014–2018

R. Dimitrova, L. Nikolova, A. Gancheva, A. Kostadinova, A. Partsuneva, L. Grigorova, I. Alexiev

National Reference Confirmatory Laboratory of HIV
National Center for Infectious and Parasitic Diseases

Aim Some sexually transmitted infections (STIs) facilitate effective transmission of HIV. The aim of the study is to establish the prevalence of STIs among HIV seropositive people in Bulgaria, registered between 2014 and 2018 years.

Materials and methods NRCL of HIV is the only laboratory in Bulgaria that coinfirm HIV infection, following the requirements of Ordinance 47 of 11.12.2009 of the Ministry of Health. Information on current and past STIs was obtained from patients by self-reporting questionnaire during the diagnostic process, following the „HIV/AIDS Communication Form".

Results Between 2014 and 2018, 1196 people with HIV infection were registered in Bulgaria. The main transmission groups are heterosexuals (HET), men who have sex with men (MSM), people who inject drugs (PWIDs) and MSM + PWIDs. Men dominate and are three-quarters of all individuals with HIV – 1032 (86.3%). 330 (27.6%) of HIV seropositive persons have reported coinfection with other STIs. Of these, most STIs were reported by MSM of 54.7%. Most people were coinfected with syphilis 41.5%, followed by hepatitis viruses with HBV 19.4% and HCV 18.5%, respectively. Double coinfection with HBV/HCV reported 2.4% individuals. 15.2% of all individuals who have had STIs listed more than one coinfection.

Conclusions Every year, the number of people with HIV infection increases, with the largest transmission group in the last four years being MSM. A significant proportion of HIV seropositive individuals are sexually infected, a number of whom were coinfected with other STIs as well. The presence of coinfections with STIs and hepatitis viruses in HIV infected persons accelerates the course of HIV infection and facilitates transmission of the virus to their partners. Therefore, it is of significant importance to periodically monitor individuals in vulnerable groups and to prompt treatment of hepatitis and STIs.

Acknowledgment *This work was supported by National Center of Infectious and Parasitic Diseases and by the National Program for the PREVention and Control of HIV and Sexually Transmitted Infections.*

Keywords: HIV, sexually transmitted infections; coinfections

4. СКРИНИНГ ЗА ИНТЕСТИНАЛНА КОЛОНИЗАЦИЯ С ВАНКОМИЦИН-РЕЗИСТЕНТНИ ЕНТЕРОКОКИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С МАЛИГНЕНИ ХЕМАТОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

П. Христова[1], Х. Хиткова[1], И. Христов[2], Д. Георгиева[1], М. Средкова[1]

[1] Катедра по Микробиология, Вирусология и Медицинска Генетика, МУ – Плевен

[2] Катедра по Нефрология, Хематология и Гастроентерология, МУ – Плевен

Целта на проучването е да се определи честотата на колонизация с VRE при пациенти с хематологични злокачествени заболявания, да се идентифицират до вид VRE и да се определи тяхната антимикробна чувствителност.

Материали и методи: За деветмесечен период (май, 2018 г. – януари, 2019 г.) общо 119 пациента, приети в Клиниката по хематология при Университетска болница „Д-р Г. Странски", Плевен, бяха скринирани за фекална колонизация с VRE. Фекалните проби се култивираха директно върху Brilliance VRE агар, както и в жлъчка ескулин азид бульон с 6 µg/ml ванкомицин. Изолираните ентерококи се идентифицираха посредством VITEK 2 compact. Минимални инхибиращи концентрации (MIC) на ампицилин (AM), гентамицин (GM), ванкомицин (VA), тейкопланин (TEC), ципрофлоксацин (CIP), тигециклин (TGC), линезолид (LZD), даптомицин (DAP) и квинопристин/далфопристин (QDA) се определиха чрез E-тест и се интерпретираха според EUCAST, 2019 г.

Резултати: Колонизация с VRE се установи при 15.13% (18/119) от скринираните пациенти. Един пациент беше носител на два вида. Изолираха се общо 19 VRE – 16 от тях (84.2%) се отнасят към VanC фенотип: *E. gallinarum* (n=11) и *E. CASSELIFLAVUS* (n=5). Останалите 3 VRE (15.8%) са следните: *E. faecium* (n = 2) и *E. faecalis* (n=1). Един от изолатите *E. faecium* показа VanA фенотип с високо ниво на резистентност към VA (MIC ≥ 256 µg/ml) и TEC (MIC = 96 µg/ml), а също и към AM (MIC ≥ 256 µg/ml), GM (MIC ≥ 1024 µg/ml), CIP (MIC ≥ 32 µg/ml) и QDA (MIC ≥ 32 µg/ml). Другият VR *E. faecium* и VR *E. faecalis* експресираха ниско ниво на резистентност към VA (MICs: 8–12 µg/ml) и чувствителност към TEC (MICs: 0.5–1.0 µg/ml). Освен това, този VR *E. faecium* е резистентен на AM (MIC ≥ 256 µg/ml) и CIP (MIC ≥ 3µg/ml), докато VR *E. faecalis* е резистентен само на GM (MIC ≥ 1024 µg/ml). Ентерококите с VanC фенотип са с ниско ниво на резистентност към VA (MICs: 4–16 µg/ml), чувствителност към TEC (MICs: 0.5–1.0 µg/ml) и към останалите антимикробни агенти.

Заключение: Нашите резултати показват сравнително ниска степен на колонизация с VRE при пациенти с хематологични злокачествени заболявания, с изразено превалиране на ентерококи с VanC фенотип. По-нататъшни молекулярни изследвания ще определят механизмите на гликопептидна резистентност, клоналните комплекси и детерминантите на вирулентност при изолираните щамове.

Ключови думи: ванкомицин-резистентни ентерококи, хематология, антимикробни средства

4. SCREENING FOR INTESTINAL COLONIZATION WITH VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCI AMONG PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

P. Hristova[1], H. Hitkova[1], I. Hristov[2], D. Georgieva[1], M. Sredkova[1]

[1] Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Medical University – Pleven

[2] Department of Nephrology, Haematology and Gastroenterology, Medical University – Pleven

The **aim** of the study is to determine the rate of colonization with VRE among patients with hematological malignancies, to identify to a species level VRE and to determine their antimicrobial susceptibility.

Materials and Methods: For a nine-month period (May, 2018 – January, 2019) a total of 119 patients admitted to a Hematology ward at University Hospital „Dr. G. Stranski", Pleven were screened for fecal colonization with VRE. The fecal samples were directly cultured onto Brilliance VRE agar, as well as into bile esculin azid broth with 6 µg/ml vancomycin. The enterococcal isolates were identified using VITEK 2 compact. Minimum inhibitory concentrations (MICs) to ampicillin (AM), gentamicin (GM), vancomycin (VA), teicoplanin (TEC), ciprofloxacin (CIP), tigecycline (TGC), linezolid (LZD), daptomycin (DAP) and quinupristin/dalfopristin (QDA) were examined by E-test and interpreted by EUCAST guidelines, 2019.

Results: Colonization with VRE was established in 15.13% (18/119) of the screened patients. One patient carried two species. A total of 19 VRE were isolated – 16 of them (84.2%) belong to VanC phenotype: *E. gallinarum* (n=11) and *E. CASSELIFLAVUS* (n=5). The remaining 3 VRE (15.8%) were as follows: *E. faecium* (n=2) and *E. faecalis* (n=1). One of *E. faecium* isolates showed VanA phenotype with a high-level resistance of VA (MIC ≥ 256 µg/ml) and TEC (MIC = 96 µg/ml), as well as AM (MIC ≥ 256 µg/ml), GM (MIC ≥ 1024 µg/ml), CIP (MIC ≥ 32µg/ml) and QDA (MIC ≥ 32 µg/ml). The other VR *E. faecium* and VR *E. faecalis* expressed a low-level resistance of VA (MICs: 8–12 µg/ml) and susceptibility of TEC (MICs: 0.5–1.0 µg/ml). Furthermore, this VR *E. faecium* was resistant to AM (MIC ≥ 256 µg/ml) and CIP (MIC ≥ 32 µg/ml), while VR *E. faecalis* was only resistant to GM (MIC ≥ 1024 µg/ml). The enterococci with VanC phenotype expressed a low-level resistance of VA (MICs: 4–16 µg/ml), susceptibility of TEC (MICs: 0.5–1.0 µg/ml) and the rest of antimicrobial agents. **Conclusion:** Our results showed a relatively low rate of colonization with VRE among patients with hematological malignancies, with distinct prevalence of enterococci c VanC phenotype. Further molecular investigations will determine the mechanisms of glycopeptide resistance, clonal complexes and determinants of virulence in isolated strains.

Key words: vancomycin-resistant enterococci, hematology, antimicrobial agents

5. КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА TINEA CAPITIS ДЕРМАТОФИТОЗА ПРИ ДЕТЕ

Л. Боянова[1], И. Филипова[1], Т. Кантарджиев[1], Л.Лозанова[1]

Национален Център по Заразни и Паразитни болести[1]

Цел: Касае се за случай на 5 годишно дете, потърсило медицинска помощ по повод алопеция areata по скалпа. Близките асоциират началото на проблема със започване на спортни занимания – редовно плуване в закрит басейн. Нямат домашен любимец и отричат контакт с други животни.

Материали и Методи: Направено е микробиологично изследване в Националната Референтна лаборатория Микози – посявка на материал от мястото (кожа и косми от главата). Изолира се чиста култура дерматофит. Щамът е идентифициран макроскопски и микроскопски, и е потвърден с генетичен метод на секвениране. Антимикотичната чувствителност е определена с метода на Е-тест за определяне на минимална инхибираща концентрация (MIC) на антимикотици (флуконазол, итраконазол, амфотерицин В, кетоконазол и каспофунгин).

Резултати: От посявката се изолира в чиста култура дерматофит от род Microsporum – Microsporum canis.

По този поводе предписана локална терапия с кетоконазол и перорална терапия с флуконазол, съобразена с възрастта на детето. По данни на майката детето се повлиява благоприятно.

Заключение: Изолираният дерматофит е един от типичните причинители на Tinea capitis – дерматомикоза по главата, който корелира с клиничната симптоматика на детето.

Ключови думи: дерматофитоза, Microsporum canis, tinea capitis

5. CLINICAL CASE OF TINEA CAPITIS DERMATOPHYTOSIS IN A CHILD

L. Boyanova[1], I. Philipova[1], T. Kantardzhiev[1], L.Lozanova[1]

National Center for Infectious and Parasitic Diseases[1]

Purpose: This is the case of a 5-year-old child seeking medical help on alopecia areata on the scalp. Relatives associate the beginning of the problem of starting sports – regular swimming in the indoor swimming pool. They do not have a pet and deny contact with other animals.

Materials and methods: A microbiological study was performed at the National Reference Laboratory of Mycosis – material culturing from the site (skin and hair from the head). A pure culture of dermatophyte is isolated. The strain is identified macroscopically and microscopically, and is confirmed by a genetic sequencing method. Antimycotic susceptibility was determined by the E-test method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of antimycotics (fluconazole, itraconazole, amphotericin B, ketoconazole and caspofungin).

Results: Microsporum canis dermatophyte are isolated from the culture culture.

On this occasion, local therapy with ketoconazole and oral fluconazole therapy was commensurate with the age of the child. According to mother's data, the child responds favorably.

Conclusion: Isolated dermatophyte is one of the typical causes of Tinea capitis – dermatomycosis on the head that correlates with the clinical symptoms of the child.

Key words: dermatophytosis, Microsporum canis, tinea capitis

6. ИМУНОФЕНОТПИНИ МАРКЕРИ, РАЗГРАНИЧАВАЩИ ЛАТЕНТНА ОТ АКТИВНА МТВ ИНФЕКЦИЯ

Я. Тодорова[1], Р. Емилова[1], В. Миланов[2], Л. Енева[3], Е. Бачийска[4], Ю. Атанасова[4], М. Николова[1]

[1] Национална референтна лаборатория по Имунология, Национален център по заразни и паразитни болести, София
[2] Клиника по фтизиатрия, Многопрофилна болница за активно лечение на белодробни болести „Света София", София
[3] Втора многопрофилна болница за активно лечение, София
[4] Национална референтна лаборатория по Туберкулоза, Национален център по заразни и паразитни болести, София

Въведение: Туберкулозата (ТВ) е сред водещите причини за смъртност в световен мащаб. Една трета от населението на света е инфектирано с *M.tubertulosis* (МТВ), като 10% от тях развиват активна ТВ. Използваните към момента интерферон-гама базирани тестове (IGRA) за диагностика на МТВ инфекция (QFT, T-SPOT) нямат сигурна предиктивна стойност. Това налага разработването на нови подходи за разграничаване на активна от латентна ТВ.

Цел: Да се дефинира панел от имунофенотпини маркери на CD4 и CD8 Т-клетъчния отговор, разграничаващи различни фази от развитието на МТВ инфекцията

6. IMMUNOPHENOTYPIC DIFFERENTIATION BETWEEN LATENT AND ACTIVE MTB INFECTION

Y. Todorova[1], R. Emilova[1], V. Milanov[2], L. Eneva[3], E. Bachiyska[4], Y. Atanasova[4], M. Nikolova[1]

[1] National Reference Laboratory of Immunology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria
[2] University Hospital for Respiratory Diseases „St. Sofia", Tuberculosis Clinic, Sofia, Bulgaria
[3] II Multiprofile hospital for active treatment, Sofia, Bulgaria
[4] National Reference Laboratory of Tuberculosis, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

Introduction: Tuberculosis (TB) remains one of the leading causes for death worldwide. About one third of the world's population is infected with *M. tuberculosis* (MTB), and 10% of them develop active TB. The widely used interferon gamma-based assays (QFT, T-SPOT) for diagnostics of MTB infection cannot predict the progression of the disease. This requires the development of new approaches to distinguish latent from active TB.

Aim: To define a panel of immunophenotypic markers of CD4 and CD8 T cell response distinguishing between different phases of MTB infection.

Materials and methods: Peripheral blood samples from QFT(+) asymptomatic subjects (LTBI, n=15) and QFT(+) active TB patients (ATB, n=15) were analyzed. CD4 and CD8 naive (RA+ R7+), effector (RA+ R7-), memory (RA-),

Материал и методи: Изследвани са проби от: А. IGRA (+) лица без клинична симптоматика (ЛТБИ, n=15) и В. IGRA (+) пациенти с микробиологично доказана АТВ (n=15). Флоуцитометрично са определени: наивни (RA+R7+), ефекторни (RA+R7-) и паметови (RA-), Th1 (CD196+) и Th17 (CD183+) CD4 и CD8T, експресия на PD1 и PD-L1; DNT и DPT; Treg ($CD25^{hi}CD127^{lo}$) и CD39+ Treg (FACSCanto II, FACSDiva 6.1.2).

Резултати: ЛТБИ се характеризира със значимо по-висок процент паметови CD4 и CD8 T (mean 64% vs. 35%) и по-високо съотношение на CM/EM CD8+ T клетките (mean 2.3 vs 1.4), както и по-висок дял на CD183+ (Th1) CD4 клетки (mean 29% vs. 14%). По-високият дял CD8+CD196+ (Th17) клетки при пациентите с АТВ (mean 19% vs. 14%) вероятно е свързан с повишените нива на имунна активация, което се потвърждава и от значимо по-ниския дял CD39+ Treg (mean 3% vs. 15.4%) в тази група.

Заключение: Имунофенотипната характеристика на ефекторните и регулаторни субпопулации на CD4 и CD8 T клетъчния имунен отговор може да подпомогне значително мониторинга на МТВ инфекцията.

Ключови думи: Туберкулоза, IGRA, имунен отговор

Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект ДН13/1/14.12.2017

Th1 (CD196+) and Th17 (CD183+) subsets, PD1 and PD-L1 expression; DNT and DPT; Treg ($CD25^{hi}CD127^{lo}$) and CD39+ Treg were analyzed by FACSCanto II, FACSDiva 6.1.2.

Results: LTBI is characterized by a significantly higher percentage of memory CD4 and CD8 T (mean 64 vs. 35), and higher CM/EM CD8+ T cell ratio (2.3 vs. 1.4) as well as a higher proportion of CD183+ (Th1) CD4 cells (mean 29% vs. 14%). The higher percentage of CD8+ CD196+ (Th17) cells in ATB patients (mean 19% vs. 14%) is likely associated with the elevated level of immune activation, which is consistent with the significantly decreased share of CD39+ Treg (mean 3% vs. 15.4%) in this group.

Conclusions: The immunophenotypic characterization of effector and regulatory subpopulations of CD4 and CD8 T cell immune responses may contribute significantly to the monitoring of MTB infection.

Key words: Tuberculosis, IGRA, immune response

Acknowledgement: this work is supported by research grant No13/1/14.12.2017, Bulgarian National Science Fund

7. ДВА СЛУЧАЯ НА ИНФЕКЦИЯ У ДЕЦА, ПРИЧИНЕНА ОТ ЧОВЕШКИ МЕТАПНЕВМОВИРУС

Г. Ленгерова [1], К. Кетев [2,4], Х. Бурнусузов [1,2], Т. Шмилев [2,3] М. Мурджева [1,2]

[1] Катедра Микробиология и имунология, Фармацевтичен факултет, Медицински университет – Пловдив
[2] УМБАЛ „Св. Георги“– Пловдив
[3] Катедра по педиатрия и медицинска генетика, Медицински факултет, Медицински университет – Пловдив
[4] Медицински Симулационен Тренировъчен Център (МСТЦ), Медицински университет – Пловдив

Въведение: Human metapneumovirus (hMPV) е причинител на остри респираторни инфекции, включително бронхиолит и пневмония.

Цел: Да се анализират 2 клинични случая на деца с инфекция от Human metapneumovirus с акцент върху необходимостта от прецизна микробиологична диагностика.

Резултати:

Случай 1: Момиче на 7 месеца, хоспитализирана в незадоволително общо състояние с оплаквания от затруднено дишане, хрема и кашлица. Проведено лечение с антибиотици, но без ефект. Обективно – дихателна честота 30/мин., смесена диспнея, грубо везикуларно дишане със сухи свиркащи и дребни, влажни хрипчета в основите; хиперемирано гърло и кашлица, както при коклюш. Умерена левкоцитоза и лимфоцитоза. Доказана чрез мултиплексен PCR (FilmArray, Biomerieux) пневмония със смесена вирусна етиология (hMPV и Human Rhinovirus/Enterovirus).

Случай 2: Момиче на 4 години с кашлица и фебрилитет, след неефективно лечение с антибиотик постъпва болница в много тежко състояние и дихателна недостатъчност, без катарални прояви. Обективно – емфизематозен гръден кош, хиперсонорен тон, двустранно силно отслабено дишане и пръснати дребни, влажни хрипчета. Без патологични прояви от страна на останалите органи и системи. Левкоцитоза и лимфоцитопения. Установен комбиниран имунен дефицит.

7. TWO CLINICAL CASES OF HUMAN METAPNEUMOVIRUS INFECTION IN CHILDREN

G. Lengerova [1], K. Ketev [2,4], H. Burnusuzov [2,3], T. Shmilev [2,3], M. Murdjeva [1,2]

[1] Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Plovdiv
[2] St. George University Hospital, Plovdiv, Bulgaria
[3] Department of Pediatrics and Medical Genetics, Faculty of Medicine, Medical University – Plovdiv
[4] Medical Simulation Training Centre (MTSC), Medical University – Plovdiv

Introduction: Human metapneumovirus (hMPV) is a causative agent of respiratory tract infections, including bronchiolitis and pneumonia.

Aim: To analyze 2 clinical cases of children with Human metapneumovirus infection and emphasize the need for precise microbiological diagnostics.

Results:

Case 1: A 7-month-old girl was hospitalized in an unsatisfactory general condition, with complaints of breathing difficulties, runny nose and cough. The therapy with antibiotics did not have an effect. At physical examination – respiratory rate 30/min, dyspnoea, rough vesicular breathing with dry whistling wheezing and small, wet wheezing in the bases of the lungs; hyperemic throat and cough, as in pertussis. Leukocytosis and lymphocytosis. Multiplex PCR (FilmArray, Biomerieux) detected mixed viral etiology (hMPV and Human Rhinovirus / Enterovirus) of pneumonia.

Case 2: A 4-year-old girl with cough and fever, after ineffective treatment with an antibiotic, was hospitalized in a very severe condition with respiratory failure without catarrh. At examination – emphysematous chest, hypersonoric tone, weakened breathing with scattered small, damp wheezing. No pathological manifestations from other organs and systems. Leukocytosis and lymphocytopenia. Established combined immune deficiency. Multiplex PCR proved hMPV. Clinical diagnosis: Bronchiolitis, pneumonia.

Conclusion: In children with severe respiratory pathology, including immunocompromised patients, microbiological testing for hMPV is also

Доказан hMPV с мултиплексен PCR. Клинична диагноза: Бронхиолит, пневмония.

Заключение: При деца с тежка дихателна патология, включително имунокомпрометирани, е необходимо микробиологично изследване и за hMPV. Клиничното протичане на метапневмовирусните дихателни инфекции е неспецифично и наподобява на инфекциите с RSV и *B. pertussis*. Възможна е асоциирана инфекция с други респираторни патогени. Бързият микробиологичен анализ с мултиплексен PCR позволява навременна и точна диагноза. Етиологично лечение липсва, но на пациента може да се спести излишното приложение на антибиотик.

Ключови думи: Human metapneumovirus, дихателна инфекция, мултиплексен PCR Адрес за кореспонденция:

required. The clinical signs of metapneumomavirus respiratory infections are non-specific and resemble RSV and *B. pertussis* infections. An associated infection with other respiratory pathogens is possible. Rapid microbiological analysis with multiplex PCR allows timely and adequate diagnosis. There is no etiological treatment, but the patient can be saved from the unnecessary use of antibiotics.

Key words: Human metapneumovirus, respiratory infection, multiplex PCR

8. АНАЛИЗ НА ТРАНСМИСИОННИТЕ КЛЪСТЕРИ НА HIV-1 СУБТИП B (Предварителен анализ)

Л. Николова, Р. Димитрова, А. Ганчева, А. Костадинова, А. Парцунева, Л. Григорова, И. Алексиев

Национална референтна потвърдителна лаборатория по HIV (НРПЛ по HIV), Национален център заразни и паразитни болести, София, България.

Цел. С помощта на филогенетични клъстери ние анализирахме трансмисията на HIV-1 субтип B сред основните трансмисионни групи – мъже, които правят секс с мъже (МСМ), хетеросексуални лица (ХЕТ) и интравенозни наркомани (ИВН).

Материали и методи. В това проучване бяха анализирани 534 HIV-1 *pol* секвенции от субтип B изолирани от лица с HIV-1, диагностицирани между 1988 и 2017 г. в НРПЛ по HIV. HIV-1 *pol* секвенциите бяха получени с TruGene и/или с ViroSeq Genotyping System. Субтип B беше определен с автоматизирания инструмент COMET v2.2. Филогенетичното дърво беше реконструирано с IQ-Tree v1.6.8 и визуализирано с FigTree v1.4.3. HIV-1 трансмисионните клъстери бяха дефинирани с ClusterPicker v1.2.3 с генетична отдалеченост 1.5% и с bootscan support по-голям или равен на 90%.

Резултати. Нашият филогенетичен анализ идентифицира 18 филогенетични клъстера и 31 двойки близкородствени секвенции. Най-големият клъстер съдържа 10 секвенции (7 от МСМ и 3 от ХЕТ). 12 (66.7%) от клъстерите са от вирусни щамове, изолирани само от мъже, а 6 (33.3%) са от секвенции от двата пола. 7 (38.9%) от клъстерите съдържат секвенции само от една трансмисионна група – 6 само от МСМ и 1 само от ХЕТ. При 11 (61.1%) от клъстерите бяха установени две или повече трансмисионни групи, като най-голям брой от смесените клъстери – 9 (81.8%) са от МСМ и ХЕТ, 1 клъстер–МСМ и ИВН и 1 клъстер съдържа секвенции от лица от трите категории – МСМ, ХЕТ и ИВН.

Заключение. Щамовете, изолирани от мъжете, които правят секс с мъже, най-често попадат във филогенетични клъстери. Наличието на клъстери от смесени трансмисионни категории показва, че съществува мост между тях. Нашето изследване подчертава необходимостта от детайлно молекулярно-епидемиологично наблюдение на динамиката на HIV-1 инфекцията сред най-уязвимите групи.

Благодарности. Това проучване е финансирано от Фонд научни изследвания на Министерството на образованието и науката, България (договор ДН03/16.12.2016 г.), Националния център по заразни и паразитни болести и от „Националната програма за превенция и контрол на ХИВ и сексуално предавани инфекции (СПИ)“.

Ключови думи: HIV-1, филогенетични клъстери, субтип B

8. ANALYSIS OF THE HIV-1 SUBTYPE B TRANSMISSION CLUSTERS (Preliminary analysis)

L. Nikolova, R. Dimitrova, A. Gancheva, A. Kostadinova, A. Partsuneva, L. Grigorova, I. Alexiev

National Reference Confirmatory Laboratory of HIV (NRCL of HIV), National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria.

Aim. By means of phylogenetic clusters, we analyzed the transmission of the HIV-1 subtype B in the major transmission groups – men who have sex with men (MSM), heterosexuals (HET) and intravenous drug users (IDUs).

Materials and Methods. In this study we analyzed 534 HIV-1 *pol* subtype B sequences isolated from individuals infected with HIV-1 and diagnosed between 1988 and 2017 in NRCL of HIV. The HIV-1 *pol* gene was sequenced using TruGene and/or ViroSeq Genotyping Systems. HIV-1 subtype B was determined using the automated tool COMET v2.2. The phylogenetic tree was reconstructed with IQ-Tree v1.6.8 and visualized with FigTree v1.4.3. HIV-1 transmission clusters were defined with ClusterPicker v1.2.3 with a genetic distance parameter of 1.5% and a bootscan support greater or equal to 90%.

Results. Our phylogenetic analysis identified 18 phylogenetic clusters and 31 pairs of closely related sequences. The largest cluster was composed of 10 sequences (7 were from MSM and 3 from HET). 12 (66.7%) of the clusters were formed by viral strains only from men and 6 (33.3%) were formed of sequences from both sexes. 7 (38.9%) of the transmission clusters contain sequences of only one transmission group – 6 only from MSM and 1 only from HET. 11 (61.1%) of the clusters contained sequences from two or more transmission groups. The largest number of mixed clusters – 9 (81.8%) were formed from MSM and HET, 1 cluster from MSM and IDUs and 1 cluster from individuals from all of the three transmission groups – MSM, HET and IDUs.

Conclusions. Strains isolated from MSM most often fall into phylogenetic clusters. The presence of clusters from mixed transmission groups indicates that there is a bridge through which viruses were transmitted from one group to another. Our study highlights the great importance of detailed molecular-epidemiological surveillance of the dynamics of HIV-1 infection among the most vulnerable groups.

Acknowledgment. *This work was supported: By a grant from the Ministry of Education and Science, Bulgaria (contract DN03/16.12.2016). By National Center of Infectious and Parasitic Diseases. By the National Program for the PREVENTION and Control of HIV and Sexually Transmitted Infections.*

Keywords: HIV-1, phylogenetic clusters, subtype B

9. ОЦЕНКА НА СКОРОШНИТЕ HIV-1 ИНФЕКЦИИ С ПОМОЩТА НА LINE IMMUNOASSAY ТЕСТ ЗА HIV-1/2

А. Парцунева, А. Костадинова, Р. Димитрова, А. Ганчева, Л. Николова, Л. Григорова, И. Алексиев

Национална референтна потвърдителна лаборатория по HIV Национален център по заразни и паразитни болести, София, България.

Цел. От 2010 до 2015 г. в България са регистрирани 1158 лица с HIV. Най-голямата трансмисионна група е на хетеросексуалните лица (ХЕТ) – 474 (40,9%), следвани от групата на мъже, които правят секс с мъже (МСМ) – 426 (36,8%), интравенозни наркомани (ИВН) – 221 (19,1%) и МСМ + ИВН – 24 (2,1%). Целта на проучването е да се определи колко време преди поставянето на диагнозата е възникнала HIV инфекция, като се използва специфичен репертоар на антителата срещу HIV-1.

Материали и методи. По време на серологичната диагностика са изследвани 1091 кръвни проби – серум и/или плазма от пациенти, показали положителен резултат на скринингов ELISA тест. Потвърдителното изследване е по метод Уестърн блот (LIA – line immunoassay) и е изпълнено с тест INNO-LIA HIV I/II Score, Fujirebio. Проучването е основано на установяване наличието и количеството на антитела срещу p31 протеин от полимеразния ген на HIV, като маркер за дългосрочна HIV инфекция.

Резултати. 895 (82.03%) от лицата включени в проучването са мъже, 196 (17,97%) са жени. Средната възраст по време на регистрацията е 33 години. 234 от изследваните лица са много скоро или скоро инфектирани с HIV преди диагностицирането им, докато 857 (78,6%) са с дългосрочна (≥ 4 месеца) HIV инфекция.

Заключение. Тези първоначални проучвания установиха, повечето от инфектираните са били носители на HIV продължително време – четири или повече месеци преди да бъдат диагностицирани. Най-много скорошни инфекции бяха установени при бременни жени, а най-късно диагностицирани след заразяване са лицата от групата на МСМ + ИВН. Късното диагностициране на HIV е предпоставка за прогресиране на инфекцията и увреждане на имунната система, което затруднява лечението и от друга страна дава възможност за продължаващо разпространение на инфекцията в популацията. Резултатите от нашето проучване показват необходимостта от наблюдение върху честотата на възникване на нови инфекции сред различните трансмисионни групи, с цел ранно откриване и по-добър контрол на епидемията.

Ключови думи: HIV, скорошни инфекции, епидемия

9. ASSESSMENT OF RECENT HIV-1 INFECTIONS USING LINE IMMUNOASSAY FOR HIV-1/2 (PRELIMINARY ANALYSIS)

A. Partsuneva, A. Kostadinova, R. Dimitrova, A. Gancheva, L. Nikolova, L. Grigorova, I. Alexiev

National Reference Conformatory Laboratory of HIV National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria.

Aim. From 2010 till the end of 2015, 1158 individuals with HIV have been registered in Bulgaria in several transmission groups. The largest is the heterosexual transmission group (HET) – 474 (40.9%), followed by the group of men who have sex with men (MSM) – 426 (36.8%), people who inject drugs (PWIDs) – 221 (19.1%) and MSM + PWIDs – 24 (2.1%). The aim of the study was to determine how long before the diagnosis HIV infection has occurred, using a specific repertoire of anti-HIV-1 antibodies.

Materials and methods. During the serologic diagnostics, 1091 blood samples – serum and/or plasma were tested from patients, who initially had positive results with ELISA test. The confirmatory assay method is Western blot (LIA – line immunoassay) and was performed using INNO – LIA HIV I/II Score, Fujirebio. The study is based on the detecting of the presence and amount of antibodies against p31 protein from the HIV polymerase gene as a marker for long-term HIV infection.

Results. 895 (82.03%) of the subjects included in the study were men, 196 (17.97%) were women. The average age at the time of registration is 33 years. 234 of the tested patients were very recently or recently infected prior HIV diagnosis, while 857 (78.6%) had a long-term (≥4 months) HIV infection.

Conclusion. These initial studies have confirmed that most of the infected have been carriers of HIV for a long time – four or more months before being diagnosed. Most recent infections were detected in pregnant women, and the most recently diagnosed after infection were those of the MSM + IDU group. Later diagnosis of HIV is a prerequisite for the progression of infection and impairment of the immune system, which impedes treatment and, on the other hand, allows the spread of the infection in the populations. The results of our study show the need to monitor the incidence of the new infections among different transmission groups in order to early diagnose and better control the epidemic.

Keywords: HIV, incidence tests, epidemic

10. АНАЛИЗ ВЪРХУ ТРАНСМИСИОННИТЕ КЛЪСТЕРИ НА РЕКОМБИНАНТНА ФОРМА 01_AE СРЕД ИНТРАВЕНОЗНИТЕ НАРКОМАНИ ОТ ОБЛАСТ СОФИЯ (Предварителен анализ)

Л. Григорова, Л. Николова, А. Ганчева,
А. Костадинова, А. Парцунева, Р. Димитрова, И. Алексиев[1]

Национална референтна потвърдителна лаборатория по HIV (НРПЛ по HIV), Национален център заразни и паразитни болести, София, България.

Цел: Филогенетичните клъстери могат да покажат еволюционната история на вирусната трансмисия при HIV. Чрез филогенетични клъстери ние анализирахме трансмисията на HIV-1 рекомбинантна форма 01_AE сред интравенозни наркомани (ИВН).

Материали и методи: В това проучване бяха анализирани 184 HIV-1 *pol* секвенции 01_AE от лица с HIV-1, диагностицирани в НРПЛ по HIV. Генът *pol* на HIV-1 беше секвениран с помощта на Applied Biosystems 3130x1 или OpenGene ДНК секвениращи системи. Рекомбинантна форма 01_AE беше определена с автоматизирания инструмент COMET v2.2. Филогенетичното дърво беше реконструирано с програма IQ-Tree v1.6.8 и визуализирано с FigTree v1.4.3. HIV-1 трансмисионните клъстери бяха дефинирани с програмата ClusterPicker v1.2.3.

Резултати: За анализиране на трансмисионните клъстери от избраните секвенции бяха използвани три параметъра за генетична отдалеченост – 0.5, 1.0 и 1.5, които отговарят на вероятна трансмисия от определено време, съответно преди около 3.3, 7 и 10 години. Беше установена група от 13 секвенции от ИВН. 7 от тях са от мъже и 6 от жени със средна възраст при диагностициране 21 години и областен град по местоживеене София. Нашият филогенетичен анализ установи, че при генетична отдалеченост 1.5 всички 13 секвенции попадат в един трансмисионен клъстер. При генетична отдалеченост 1.0 се наблюдава 1 клъстер с 3 секвенции и 3 двойки близкородствени секвенции, а при отдалеченост 0.5 – 2 двойки секвенции.

Заключение: Анализът на филогенетичните клъстери в нашето проучване демонстрира продължаващото разпространение на HIV-1 01_AE щамовете сред контактни лица от уязвимата група на ИВН. Подгрупи от тази група са били инфектирани в различен период от време в рамките на 10 години. Нашето изследване допринася за разясняване на епидемиологичната характеристика на трансмисията на HIV-1 01_AE и подчертава необходимостта от задълбочено молекулярно-епидемиологично наблюдение върху динамиката на трансмисията на HIV-1 инфекцията сред най-уязвимите популации.

Ключови думи: HIV-1, филогенетичен клъстер, интравенозни наркомани

Благодарности: Това проучване е финансирано от Фонд научни изследвания на Министерството на образованието и науката, България (договор ДН03/16.12.2016 г.), Националния център по заразни и паразитни болести и от „Националната програма за превенция и контрол на ХИВ и сексуално предавани инфекции (СПИ)“.

10. ANALYSIS ON TRANSMISSION CLUSTERS OF THE RECOMBINANT FORM 01_AE AMONG INTRAVENOUS DRUG USERS FROM SOFIA DISTRICT (Preliminary analysis)

L. Grigorova, L. Nikolova, A. Gancheva,
A. Kostadinova, A. Partsuneva, R. Dimitrova, I. Alexiev

National Reference Confirmatory Laboratory of HIV (NRCL of HIV) National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria.

Aim: Phylogenetic clusters can show the evolutionary history of HIV viral transmission. Using phylogenetic clusters we analyzed the transmission of HIV recombinant form of 01_AE among intravenous drug users (IDUs).

Materials and methods: In this study, 184 HIV-1 pol sequences from the recombinant form of 01_AE from HIV-1 individuals diagnosed in NRCL of HIV were analyzed. The HIV-1 *pol* gene was sequenced using Applied Biosystems 3130x1 or OpenGene DNA Sequencing Systems. Recombinant form 01_AE was determined by the automated COMET v2.2 instrument. The phylogenetic tree was reconstructed with IQ-Tree v1.6.8 and visualized with FigTree v1.4.3. HIV-1 transmission clusters were defined with the ClusterPicker v1.2.3 program.

Results: For detailed analysis of the transmission clusters of the selected sequences, three genetic distance parameters of 0.5, 1.0 and 1.5 were used which correspond to a probable transmission of about 3.3, 7 and 10 years, respectively. A group of 13 sequences from individuals using intravenous drugs was identified. 7 of them are from men and 6 from women with an average age of 21 years at diagnosis and all of residence in Sofia. Our phylogenetic analysis identifies that in the case of genetic distance 1.5 all 13 sequences fall into one transmission cluster. At a genetic distance of 1.0, one cluster of three sequences and 3 pairs of closely related sequences were defined, and at distance of 0.5 – 2 pairs of sequences were found.

Conclusions: The analysis of the phylogenetic clusters in our study demonstrated a continuing spread of HIV-1 01_AE among contact individuals within a vulnerable IDUs group. Subgroups of this group were infected at different times within 10 years period. Our study contributes to the clarification of the epidemiological characteristics of the transmission of HIV-1 01_AE and emphasizes the need for detailed molecular-epidemiological monitoring of the dynamics of HIV-1 infection among the most vulnerable populations.

Key words: HIV-1, phylogenetic cluster, intravenous drug users

Acknowledgment: This work was supported: By a grant from the Ministry of Education and Science, Bulgaria (contract DN03/16.12.2016). By National Center of Infectious and Parasitic Diseases. By the National Program for the Prevention and Control of HIV and Sexually Transmitted Infections.

11. ВИРУСОЛОГИЧЕН МОНИТОРИНГ НА HIV/СПИН ПРИ БРЕМЕННИ И НОВОРОДЕНИ В БЪЛГАРИЯ (Предварителен анализ)

А. Ганчева[1], А. Костадинова[1], Р.Димитрова[1], Л. Николова[1], А. Парцунева[1], Л. Григорова[1], И. Еленков[2], Н. Янчева[2], М. Стойчева[3], Ц. Дойчинова[4], Л. Пекова[5], И. Алексиев[1]

[1] Национална референтна потвърдителна лаборатория по HIV, Национален център по заразни и паразитни болести, София, България.
[2] Специализирана болница по заразни и паразитни болести, София, България.
[3] Катедра по инфекциозни болести, Медицински университет, Пловдив, България.
[4] Катедра по инфекциозни болести, Медицински университет, Плевен, България.
[5] Клиника по инфекциозни болести, Медицински университет, Стара Загора, България.

Цел: До 2018 г. в България са били диагностицирани 3002 случаи с HIV, като броят на жените е 602. От тях 78 са диагностицирани по време на бременност. Целта на нашето проучване е да се извърши вирусологичен анализ на HIV при бременните и техните новородени в България.

Материали и Методи: За епидемиологичния анализ са използвани данни на НРПЛ по HIV. До 18-месечна възраст, новородените се изследват средно по 4 пъти с ELISA, Western blot и Real-time PCR. HIV-1 *pol* секвенциите от бременните бяха генерирани с TruGene и/или ViroSeq Genotyping Systems по време на диагностичния процес и вирусологичния мониторинг. HIV-1 секвенциите бяха анализирани с помощта на Интернет базирани инструменти REGA 3, COMET 2.3 и Stanford HIV db 8.8.

Резултати: От всичките майки с HIV, регистрирани до края на 2018 г, 89,4% от тях са били на проследяване за ВТ. Повечето от майките с HIV са от областите София –35,2%, следвани от Пловдив, Варна, Бургас и други региони на страната. 15,5% от новородените са инфектирани с HIV-1. **Майките са били изследвани за антиретровирусна резистентност преди или по време на бременността и при 14 от тях е установено наличие на резистентни мутации, съответно към PI, NRTI и към NNRTI инхибитори**. Нашето проучване показа, че сред бременните има голямо генетично разнообразие от различни HIV-1 субтипове и рекомбинантни форми, като най-голямо разпространение в изследваната група имат не-B HIV-1 субтиповете, доминирани от CRF01_AE, следван от субтип B. Бяха установени още няколко други щама, включително: C, CRF02_ AG, CRF05_DF, CRF14_BG и URFs.

Заключения: Нашето проучване показа голямо генетично разнообразие на HIV-1 сред изследваната група. Сравнително висок процент новородени са били инфектирани с HIV-1 в България. Ранното диагностициране на всички бременни с HIV и навременно започване на АРТ терапия е от изключително значение за намаляване на риска от предаване на HIV инфекцията на техните новородени.

Ключови думи: HIV/СПИН, вертикална трансмисия, субтип.

Благодарности: От Националния център по заразни и паразитни болести. От „Националната програма за превенция и контрол на ХИВ и сексуално предавани инфекции (СПИ)“.

11. VIROLOGICAL MONITORING OF HIV/AIDS OF PREGNANT WOMEN AND NEWBORN CHILDREN IN BULGARIA (Preliminary analysis)

A. Gancheva[1], A. Kostadinova[1], R. Dimitrova[1], L. Nikolova[1], A. Partsuneva[1], L. Grigorova[1], I. Elenkov[2], N. Yancheva[2] M. Stoycheva[3], T. Doychinova[4], L. Pekova[5], I. Alexiev[1]

[1] National Reference Confirmatory Laboratory of HIV, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria.
[2] Specialized Hospital for Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria.
[3] Department of Infectious Diseases, Medical University, Plovdiv, Bulgaria.
[4] Department of Infectious Diseases, Medical University, Pleven, Bulgaria.
[5] Clinic of Infectious Diseases, University Hospital, Stara Zagora, Bulgaria.

Aim: Until 2018 in Bulgaria 3002 cases with HIV/AIDS were diagnosed. The number of women with HIV was 602, 78 of which were diagnosed during pregnancy. The aim of our study was to perform virological analysis of HIV of pregnant women and their newborn infants in Bulgaria.

Materials and Methods: Epidemiological analysis was performed using the databases of the National Reference Confirmatory Laboratory of HIV, NCIPD. Up to 18 months of age, newborns were monitored average 4 times with ELISA, Western Blot and Real-time PCR. HIV-1 *pol* sequences from pregnant women were generated with TruGene and/or ViroSeq Genotyping Systems during the diagnostic process and virological monitoring. HIV-1 sequences were analyzed using the Internet-based tools REGA 3, COMET 2.3 and Stanford HIV db 8.8.

Results: Of all HIV-positive mothers registered by the end of 2018, 89.4% of them were on virological monitoring with viral load tests (VL). Most of the mothers with HIV were from Sofia – 35,2%, followed by Plovdiv, Varna, Burgas and from other regions of the country. 15,5% of newborns were infected with HIV-1. Mothers were tested of antiretroviral resistance before or during pregnancy and 14 of them had resistance mutations to PI, NRTI and to NNRTI inhibitors. Our analysis revealed a high genetic diversity of different HIV-1 subtypes and recombinant forms in the study group. Non-B HIV-1 subtypes were the most prevalent and dominated by the recombinant form CRF01_AE, followed by subtype B. Several other strains were found, including: subtype C, CRF02_AG, CRF05_DF, CRF14_BG and URFs.

Conclusions: Our analysis revealed high genetic diversity of HIV-1 among studied population. A relatively high percentage of infants were infected with HIV-1 in Bulgaria. Early HIV testing of all pregnant women and timely initiation of antiretroviral therapy is of great importance to reducing the risk of HIV transmission to their newborns.

Keywords: HIV/AIDS, mother to child transmission, subtype.

Acknowledgment: This work was supported: By National Center of Infectious and Parasitic Diseases. By the National Program for the Prevention and Control of HIV and Sexually Transmitted Infections.

12. ИЗСУШЕНИТЕ КРЪВНИ ПЕТНА КАТО АРХИВЕН МАТЕРИАЛ ПРИ ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ИМУНИТЕТ СРЕЩУ ХЕПАТИТ В ВИРУС

Ч. Исмаилова, В. Йончева, Е. Голкочева-Маркова[1], Т. Тенев[1], С. Крумова[2]

[1] НРЛ „Хепатитни вируси“, НЦЗПБ, София
[2] НРЛ „Морбили, паротит и рубеола“, НЦЗПБ, София

В световен мащаб около 1/3 от хората са със серологични данни за минала или настояща хепатит В вирусна (HBV) инфекция, а 350 хиляди са хронични носители на вируса. В диференциалната диагностика на HBV инфекция най-приложим е имуноензимният метод. Хепатит В повърхностният антиген е основен маркер на тази инфекция, като задържането му за повече от 6 месеца е признак за развитие на хроничен хепатит. Образуването на антитела срещу HBV повърхностния антиген (анти-HBs) има протективно значение. Така определянето на анти-HBs става незаменимо средство при проследяване на хуморалния имунитет след преболедуване или ваксинация. Като изходен материал при диагностичния анализ се използва кръв от венопункция. В области като неонатология и педиатрия венопункцията не винаги е успешна, а получената кръв недостатъчна, затова се разработва метода на Изсушените Кръвни Петна (ИКП), който цели да улесни диагностиката, съхранението, транспортирането и да преодолее недостатъците, които има венопункцията като метод за събиране на кръвни проби. Един от основните проблеми при използването на ИКП в количествения анализ на anti-HBs е микрообема на пробата която се изследва.

Цел: Оценка на ефикасността и възпроизводимостта на ИКП/ ИСП (Изсушените серумни петна) като стартов клиничен материал за проследяване на имунитета срещу HBV при използване на имуно-ензимен метод за детекция.

Материали и методи: чрез имуно-ензимен анализ (ELISA) титърът на анти-HBs е измерен в: 20 серумни проби на пациенти и съответстващите им 20 изсушени кръвни карти (ИКП); 20 серумни проби от ваксинирани срещу HBV здравни работници и съответстващите им изсушени серумни карти (ИСП); и четири проби Имуновенин, с известна концентрация на анти-HBs и съответстващите им изсушени карти. приложени са различни протоколи за елуиране при изследване на проблема с разреждането на пробата.

Резултати: Специфичност от 100% и чувствителност от 45% са установени при ИКП срещу „златен стандарт“ като стартов клиничен материал. Беше установено разреждане на елуираните проби от ИКП/ ИСП картите като в някои случаи измереният анти-HBs титър спадна под 10 mIU / ml при което се получават фалшиво отрицателни резултати. При това не е наблюдавана корелация между положителните начални анти-HBs серумни титри и тези получена за ИКП / ИСП проби. При използване на пробите Имуновенин се измери разреждане на елуата между 20 до 50 пъти. Поради това беше увеличен обема на елуирана от ИСП-карта проба което доведе до повишаване стойностите на анти-HBs титъра.

Заключение: За разрешаване на проблема с разреждането е необходимо да се валидират различни протоколи за елуиране, тъй като малкото количество проба в ИКП / ИСП води до по-ниски аналитични титри.

Ключови думи: анти-HBs, Хепатит В вирус, ИКП

12. USE OF DRY BLOOD SPOTS TO DEFINED POSTVACCINATION IMMUNITY AGAINST HBV: ROLE OF ANTIBODY DILUTION

C. Ismailova[1], V. Yoncheva[1], E. Golkocheva-Markova[1], T. Tenev[1], S. Krumova[2]*

[1] NRL „Hepatitis Viruses“, Virology Department, NCIPD, Sofia
[2] NRL „Measles, mumps and rubella“, Virology Department, NCIPD, Sofia

Globally, about one-third of people have serological evidence of past or current infection with hepatitis B virus (HBV) infection and 350,000 are chronic carriers of the virus. There is a wide variety of assays for testing HBV infection. In practice, the immunoenzymatic method is most useful. HBsAg is basical marker for this infection. It's present for most than 6 month is indicative of the development of chronic hepatitis. Formation of HBs antibodies has protective significance. That's why the determination of anti-HBs becomes an indispensable tool in the follow-up of humoral immunity after vaccination. Blood from venipuncture was used as the starting material. In areas such as neonatology and pediatrics, venipuncture is not always successful, and blood obtained is not sufficient, so the DBS (dried blood spots) method is being developed to facilitate diagnostics, storage, transport, and overcome the disadvantages of venipuncture as a method of collecting blood samples. This presentation aims at assessing the advancements and drawbacks of the DBS to venipuncture when monitoring immunity against Hepatitis B virus. One of the main problems with the use of DBS in the quantitative analysis of anti-HBs is the microbe of the sample to be tested.

Aim: Evaluation of efficacy and reproducibility of DBS / DSS (dried serum spots) as a starting clinical material for the detection of immunity against hepatitis B virus using an immunoenzymatic detection method.

Materials and Methods: Antibodies against hepatitis B surface antigen (anti-HBs) were detected by immune-linked immunosorbent assay (ELISA). Serum samples from 20 patients and paired 20 DBS, 20 serum samples from HBV vaccinated health care workers and paired 20 DSS and Immunovenin were tested in the present study. Different elution protocols were used in order to study the problem with sample dilution.

Results: The specificity of 100% and sensitivity of 45% were established for DBS vs „gold standard“. Dilution of the eluted DBS/DSS samples was established and in some cases measured anti-HBs titer dropped under 10 mIU/ ml. Correlation between positive initial anti-HBs serum titers and obtained for DBS / DSS value was not observed. When Immunovenin were tested dilution between 20 to 50 fold were measured for eluted DSS samples. The increasing of eluted sample concentration raised DSS anti-HBs titer.

Conclusion: To resolved the dilution problem, it is necessary to validate different elution protocols because the small amount of sample in the DBS led to lower assay titers.

Key words: DBS, anti-HBs, HBV

13. ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА НА ОСТРИТЕ ВИРУСНИ ХЕПАТИТИ, ИЗСЛЕДВАНИ В НРЛ „ХЕПАТИТНИ ВИРУСИ“ ЗА ПЕРИОДА 2016–2018 ГОДИНА

В. Йончева, Ч. Исмаилова, Е. Голкочева-Маркова, Т. Тенев

НРЛ „Хепатитни вируси“, НЦЗПБ, София

Цел: Да се проследи видовото разпределение на острите вирусни хепатити сред пациенти от инфекциозните отделения на лечебните заведения, за периода 2016–2018 год., които са изследвани в НРЛ „Хепатитни вируси „ към НЦЗПБ.

Материали и методи: За посочения период са изследвани серумни проби от 1 545 пациенти, които са изпратени в НРЛ „Хепатитни вируси“ от различни лечебни заведения. Пациентите са били лежащо болни с диагноза „остър вирусен хепатит“ от СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“ гр. София, УМБАЛ „Св. Анна“– гр. София, МБАЛ „Р. Ангелова“– гр. Перник и др.. Всички постъпили проби са изследвани чрез ELISA метод за наличие на хепатитни A, B, C, D и E маркери.

Резултати: От изследваните 1 545 пациенти 830 са мъже (53.7%) и 715 са жени (46.3%). Най- малкият пациент е момче на 1г. 9м., а най-възрастният – мъж на 94 г. При 828 (53.6 %) от всички изследвани пациенти се доказа положителен резултат за един или повече хепатитни маркери. При 368 (23,8%) пациенти е доказано наличие на HAV- IgM – остър хепатит А. С остър хепатит Е – anti HEV- IgM (+), са 238 (15,4%) души.. При 196 (12,6%) болни се доказа положитилен резултат за HBsAg, като от тях 120 (61,2%) са с остър хепатит В – anti HBc-IgM (+). При останалите 76 (38,7%) е доказан хроничен хепатит В. За anti-HCV положителни са 18 (1,2%) от изследваните проби. С хепатит D се установиха 8 (0.5 %) пациенти, като само 4(50 %). от тях са с остър хепатит D, положителни са за anti HDV- IgM При 32 (2,07%) пациенти се установи, че има конфекция с 2 и повече хепатитни вируси. (HAV +HEV; HCV+HEV; HBV +HCV; HAV+HBV; HBV+HEV; HAV+HCV). Един (0,06%) пациент беше установен с тройна коинфекция с HAV+HBV+HEV. При 717 (46.4 %) от изследваните пациенти не се доказа наличие на маркер за вирусен хепатит A, B, C, D и E

Заключение: Лабораторната диагностика е от съществено значение за отдиференциране на типа вирусен хепатит. Проведеният анализ показва, че при половината от пациентите, с клинична картина за остър вирусен хепатит, инфекцията е предизвикана от хепатитен вирус, като най-високе процента на остър вирусен хепатит тип А, а най-нисък на хепатит Д. Коинфекции с различни видове хепатитни вируси се доказаха при 2% от изследваната популация.

Ключови думи: остри вирусни хепатити, пациенти, хепатитни маркери

13. DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ACUTE VIRAL HEPATITIS, TESTED IN NRL „HEPATITIS VIRUSES“ FOR THE PERIOD 2016–2018

V. Yoncheva, Ch. Ismailova, E. Golkocheva-Markova, T. Tenev

NRL „Hepatitis Viruses“, NCIPD, Sofia

Aim: To follow species distribution of hepatitis in patients from infectious wards in hospitals for the period 2016–2018, who were tested in NRL „Hepatitis viruses“ in NCIPD.

Materials and methods: For the given period there were tested serums from 1545 patients, who were sent in NRL „Hepatitis viruses“ from different hospitals. The patients were lying in hospitals with diagnosis „Acute viral hepatitis“ like SBALIPB „ Prof. Iv. Kirov“, Sofia; UMBAL „St. Anna“– Sofia; MBAL „R. Angelova „ – Pernik etc. All serums were tested with ELISA method for presence or not of hepatitis markers against all hepatitis viruses – A, B, C, D, E.

Results: From all the serums (1545) 830 were from men (53,7%) and 715 from women (46,3%). The youngest patient were a boy who were 1.9 year old, and the oldest was a man who was 94 years old. From the tested sera in 828 (53,6%) were positive for one or more markers. In 368 (23,8%) patients was detected HAV-IgM – acute hepatitis A. With acute HEV – anti – HEV – IgM (+) were 238 (15,4%) from all the tested people. 196 (12,6%) patients were positive for HBsAg, and from them 120 (61,2%) were with „acute hepatitis“ with positive HBc – IgM (which shows acute form of infection). The other 76 (38,7%) people were with chronic hepatitis B.

For anti- HCV were diagnosed 18 (1,2%) people. With HDV were diagnosed 8 (0.5%) people, but from them only 4 (50%) were positive for HDV- IgM.

In 32 (2,07%) patients were found positive markers for 2 or 3 coinfections. (HAV +HEV; HCV+HEV; HBV +HCV; HAV+HBV; HBV+HEV; HAV+HCV). In 1 (0.06%) patient was detected third coinfection with HAV+HBV+HEV.

In 717 patients from all the studied were negative for all markers.

Conclusion: Laboratory diagnosis is essential for the differentiation of viral hepatitis. Verified analysis shows that in half of patients with a clinical picture of acute hepatitis virus the infection is caused by a hepatitis virus, the highest being the rate of viral hepatitis type A and the lowest of hepatitis E. Coinfections of different types hepatitis viruses are found in 2% of the prevalent population

Key words: acute hepatitis, patients, hepatitis markers.

14. ПРОУЧВАНЕ РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА TRICHOMONAS VAGINALIS В МАТЕРИАЛИ ОТ УРОГЕНИТАЛНА СИСТЕМА ЗА ЕДНОГОДИШЕН ПЕРИОД

К. Енева[1], Е. Руева[2]

[1] *МУ –Пловдив, Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина*
[2] СМДЛ – Новалаб, гр.Ст. Загора

Въведение: Урогениталната трихомоназа е най-често срещаната сексуално трансмисивна протозойна антропоноза. Нейното разпространение е космополитно, като нивото на опаразитеност варира между 5–75% в различните страни. Боледуват предимо хората в активна полова възраст, като източник е само опаразитеният човек – болен или паразитоносител.

Цел: Проследяване на разпространението на Trichomonas vaginalis при лица с клинични симптоми – мъже и жени от гр. Пловдив и областта и гр. Стара Загора и областта за период от 1 година (2018).

Материали и методи: Изследвани материали: влагалищен секрет от 2121 жени и еякулат от 1092 мъже. Използвахме следните морфологични методи за паразитологична диагностика на Trichomonas vaginalis характерни за рутинната лабораторна практика: нативен препарат, оцветен препарат по Романовски-Гимза, бърз JD`s антигенен тест, културелна посявка на среда TV4.

Резултати и обсъждане: От изследваните материали положителни са 1,23% от жените и 4,12% от мъжете. Възрастовият диапазон на лицата бе между 21 и 57 години. Всички положителни за Trichomonas vaginalis лица имат анамнестични данни за субективни оплаквания или прекарана трихомоноза. С лек превес са мъжете отколкото при жените. Хронично рецидиващият характер на паразитозата, както и комплексия подход при диагностицирането – от акушер-гинеколог, уролог и паразитолог, биха могли да маскират скрита заболеваемост сред населението.

Изводи и заключение: Наблюдението ни върху изследваните лица показа 2,21% инвазирани с Trichomonas vaginalis. Сред мъжете установихме по-висок процент на опаразитеност отколкото при жените. Нашите данни от проведеното проучване напълно съвпадат със световните данни.

Ключови думи: трихомоноза, сексуално-трансмисивни паразитози.

14. STUDY PREVALENCE OF TRICHOMONAS VAGINALIS IN THE UROGENITAL SYSTEM OF MATERIALS FOR ONE YEAR

K. Eneva[1], E. Roueva[2]

[1] Medical University – Plovdiv, Department of Infectious diseases, Parasitology and Tropical medicine
[2] Independent Medical Diagnostic Laboratory – NOVALAB, Stara Zagora

Introduction: Urogenital trichomonasis is the most common sexual transmissible protozoan antroponosis. Its prevalence is cosmopolitan, with the level of infestation varying between 5–75% in different countries. People in active sex are ill, only the infected person – the sick or the parasite – is the source.

Objective: To monitor the prevalence of Trichomonas vaginalis in persons with clinical symptoms – men and women from Plovdiv and Stara Zagora and the district for a period of 1 year (2018).

Materials and methods: Materials studied: vaginal secretion of 2121 women and sperm of 1092 men. We used the following morphological methods for parasitological diagnosis of Trichomonas vaginalis characteristic of routine laboratory practice: wet preparation microscopy, stained preparation of Romanovski-Giemsa, JD`s Antigen test, culture of TV4.

Results and Discussion: 1.23% of women and 4.12% of men were positive. The age range of the subjects was between 21 and 57 years. All patients positive for Trichomonas vaginalis have a history of subjective complaints or trichomonasis. Men are slightly overweight than women. The chronically recurrent nature of parasitosis as well as the complex approach to diagnosis by a obstetrician gynecologist, urologist and parasitologist could mask hidden morbidity among the population.

Conclusion: Our observation on the subjects tested showed 2.21% invasive with Trichomonas vaginalis. Among men, we found a higher incidence of infestation than in women. Our survey data fully matches the world data.

Key words: trichomonasis, sexual-transmissible parasitosis

15. ЕКСТРЕМНА РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТ И МОРФОЛОГИЯ НА КРЪВНИЯ МИКРОБИОМ В РАНЕН ЕТАП НА КУЛТИВИРАНЕ

С. Панайотов[1], В. Толчков[1], Е. Николова[2], Р. Калфин[3]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести;
[2] Институт по експериментална морфология, патология и морфология – БАН; 3. Институт по невробиология – БАН

Кръвният микробиом е все още слабо проучен. Трудностите са свързани с прилагането на подходящи методи за култивиране, морфологичен анализ, изследване на етапите на разножаване, визуализация, изолиране

15. EXTREME RADIORESISTANCE AND MORPHOLOGY OF THE BLOOD MICROBIOTA AT EARLY STAGE OF CULTURING

S. Panaiotov[1], V. Tolchkov[1], E. Nikolova[2], R. Kalfin[3]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases;
[2] Institute of Experimental Morphology and Pathology – BAS; 3. Institute of Neurobiology – BAS

The blood microbiome is still not fully studied. Difficulties are related to the application of appropriate methods of cultivation, morphological analysis, exploration of the life cycle stages, visualization, isolation of

на нуклеинови киселини и белтъци и физико-химични характеристики на кръвните микробиоти.

Целта на нашето изследване бе да проучим чрез микроскопски техники динамиката на развитие на кръвните микробиоти в първите часове на култивиране прилагайки стресови условия. Също така, предмет на нашето изследване бе екстремната радиорезистентност на кръвните микробиоти.

Материали и методи: Бяха изледвани кръвни проби с антикоагулант К2 ЕДТА на 7 клинично здрави лица. Един мл кръв бе лизирана с 3 обема дестилирана стерилна вода на стайна температура за 45 мин. Лизираната кръв бе филтрувана с филтри 0,45 и 0,22 микрона. Двеста микролитра от филтрата бяха посятив 1 мл течна среда BHI с 1 гр/л витамин К и култивирани на 43^{0}С. Проби от 500 мкл бяха вземани през 30 мин до седми час и фиксирани с глутаров алдехид 2,5% крайна концентрация.

Радиорезистентността на кръвните микобиоти бе изследвана с промишлен гама-облъчвател зареден с ^{60}Co. Кръв от 7 здрави лица с обем 1,5 мл поставена в криоепруветки на винт бе облъчена с радиоактивна доза 71,3 kGr. Дозата бе достигната за около 3 часа. Триста микролитра от облъчената проба бе култивирана за 72 часа на 43 ^{0}С в среда BHI с добавен 1г/л витамин К. Микроскопски препаратите бяха изследвани чрез светлинна, в тъмно поле и сканираща електронна микроскопия.

Резултати: Културите до втори час бяха центрофугирани на 15.000 об/мин за 15 мин с цел да се утаят прораслите микробиоти. Микроскопски видимо натрупване на кръвните микробиоти бе отчетен след втория час на култивиране. Наблюдаваха се единични или струпани телца с размер около 200 нм. След четвъртия час на култивиране се наблюдаваха големи структури с размер над 1 микрон самостоятелни или на верижки. При оптимално увеличение от 20.000 – 30.000 пъти СЕМ показа, че от големите структури, с грапава повърхност, се отделят малки телца.

В тъмно поле се наблюдаваха също морфологично различни структури, които съответстват на тези от СЕМ – по-малки, окръглени с размери около микрон-два и по-големи, чиято вътрешност изглежда зърнеста.

Анализът с микросонда показа, че частиците не съдържат желязо, единствено въглерод, следи от кислород и азот. Утайките на култивираните проби бяха кафяво-черни. Не се доказа съдържание на хемоглобиново желязо в утайките от микробиоти.

С предишни наши експерименти доказахме, че кръвните микробиоти издържатна последователно облъчване с доза 25+25 kGr. Сегашният експеримент доказа чрез култивиране и микроскопски анализ преживяемост след доза от 71.3 kGr.

Обсъждане: При стресови условия кръвният микробиом реагира с видимо размножаване след втория час. Кръвният микробиом притежава екстремна радиорезистентност надвишаваща еднократна доза на облъчване от 70 kGr.

Благодарности: Авторите изказват своята благодарност за финансовата подкрепа на Фонд „Научни изследвания“ по проект ДН-01–4/16.12.2016 и за техническата помощ оказана от Петя Ковачева и Георги Йорданов от Факултета по химия и фармация, Софийски университет

nucleic acids and proteins, and physico-chemical characteristics of blood microbiota.

The aim of our study was to investigate the dynamics of blood microbial growth in the first hours of cultivation using stressful conditions using microscopic techniques. Also, the subject of our study was the extreme radioresistance of blood microbiota.

Materials and methods: Blood samples of 7 clinically healthy subjects were collected in K2 EDTA tubes. One ml of blood was lysed with 3 volumes of distilled sterile water at room temperature for 45 minutes. The lysed blood was filtered with 0.45 and 0.22 micron filters. Two hundred microliters of the filtrate were seeded in 1 ml of BHI medium supplemented with 1 g / l of vitamin K and cultured at 43^{0}C. Samples of 500 µl were taken every 30 minutes to 7 hours and fixed with glutaraldehyde at 2.5% final concentration.

Radioresistance of blood microbiota was investigated with an industrial gamma-irradiator loaded with ^{60}Co. Blood samples of 1.5 ml of 7 healthy subjects were placed in screw-cap vials and irradiated with a radioactive dose of 71.3 kGr. The dose was reached in about 3 hours. Three hundred microliters of the irradiated sample was cultured for 72 hours at 43 ° C in BHI medium supplemented with 1 g / l of vitamin K.

Microscopic preparations were investigated by light, dark field and scanning electron microscopy (SEM).

Results: The samples from the first two hours of culturing were centrifuged at 15,000 rpm for 15 minutes in order to concentrate and pellet the proliferating microbes. Microscopically visible accumulation of blood microbiota was recorded after the second hour of cultivation. Single or piled bodies of size about 200 nm were observed. After the fourth hour of culturing, large structures with a size of over 1 micron and microbiota chains were observed. With an optimal increase of 20,000–30,000 times CEMs showed that small bodies were pealed off from the large with a rough surface bodies.

In a dark field microscopy we observed structures with different morphology, corresponding to those of the CEM – smaller, rounded with dimensions about microns or larger, the interior of which looks grainy. Analysis with a microprobe demonstrated that the microbiota particles do not contain iron, but nitrogen, traces of oxygen and nitrogen. The sediments of the cultured samples were brown-black. Haemoglobin iron content in microbial sediments has not been demonstrated.

Our previous experiments proved that blood microbiota withstand a 25 + 25 kGr irradiation dose. The current experiment demonstrated by culture and microscopy analysis survival of blood microbiota at 71.3 kGr irradiation dose.

Discussion: Under stressful conditions, the blood microbiome reacts with visible reproduction after the second hour of culturing. Blood microbiota posses an extreme radio-resistance exceeding a single radiation dose of 70 kGr.

Acknowledgment: This work was supported by grant ДН-01–4/16.12.2016 of National Science Fund, Bulgaria and the technical assistance of Petya Kovacheva and Georgi Yordanov from the Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia University

16. ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ СЕРОТИПОВЕТЕ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, КОЛОНИЗИРАЩИ НАЗОФАРИНКСА ПРИ ДЕЦА СЛЕД PCV10

М. Малчева[1], И. Симеоновски[1], В. Левтерова[1], Н. Бранкова[1], И. Филипова[1], Т.Кантарджиев[1]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ)

Увод: През 2010 г. в България беше въведена 10-валентна пневмококова конюгирана ваксина (PCV10) с над 90% покритие в периода 2011–2017 г. след оценка на СЗО и УНИЦЕФ за националните имунизации. Ваксиналните серотипове (серотип 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F и 23F), най-чести причинители на инвазивни пневмококови заболявания, биват изолирани с по – ниска честота при деца носители на пневмококи. Наблюдава се относително увеличение на честотата на носителство на неваксинални серотипове.

Цел: Целта на настоящото изследване е да се определят преобладаващите серотипове *Streptococcus pneumoniae* при назофарингеално носителство на деца, ваксинирани с PCV10.

Материали и методи: Предприехме проучване за установяване на преобладаващите серотипове при ностителство на *S. pneumoniae* за ваксинирани деца. Общо 778 деца на възраст от 2 месеца до 8 години бяха изследвани културелно и чрез генетични методи. Взети бяха тампони с назофарингеален секрет и те бяха транспортирани в лаборатория НРЛ „Молекулярна микробиология" в НЦЗПБ, чрез среда eSwab (Copan, Italy). Пробите бяха култивирани в агар на Columbia CNA с 5% овча кръв и оптохинов диск, за да бъдат разграничени пневмококите от друга микробна флора. От всеки тампон беше паралелно изолирана ДНК и културелно отрицателните проби бяха подложени на скрининг с RT-PCR за наличие на пневмококова ДНК. Изолати, които бяха положителни по cpsA и lytA гени бяха типизирани с общо 39 праймерни двойки. От културелно положителните проби също беше изолирана ДНК, като тя беше анализирана чрез конвенционален PCR и Real Time PCR.

Резултати: Носителство беше установено в 52% от пробите, като културелно положителни бяха 21%. От директно изолираната ДНК – 3,5% от всички проби бяха с установен повече от един серотип, с два или с три серотипа/серогрупи, колонизиращи назофаринкса по едно и също време. Установено е преобладаващо носителство на два ваксинални серотипа – 4 и 23F и преобладаване на серотип 6C при неваксиналните серотипове.

Заключение: В заключение ние определихме висок процент носителство, характеризиращо се основно с неваксинални серотипове. Макар и силно намаляла, колонизацията с ваксинални серотипове при деца остава налична осем години след въвеждането на PCV10 ваксинацията.

Ключови думи: пневмококово носителство, типиране, PCV10

16. STUDIES ON SEROTYPES STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, COLONIZING THE NASOPHARYNX IN CHILDREN AFTER PCV10

M. Malcheva[1], I Simeonovski[1], N. Brankova[1], I. Philipova[1], T. Kantardjiev[1]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD)

Introduction: In 2010, a 10-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV10) was introduced in Bulgaria with over 90% coverage in the period 2011–2017, according to WHO and UNICEF assessment of national immunizations. Vaccine serotypes (1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F and 23F), the most common causes of invasive pneumococcal disease, are found with lower carriage rate in children. A relative increase in the incidence of non-vaccine serotypes was observed.

Objective: The aim of the present study is to determine predominant *Streptococcus pneumoniae* serotypes in nasopharyngeal carriage in children vaccinated with PCV10.

Materials and methods: We undertook a study to determine the prevalence of *S. pneumoniae* serotypes in vaccinated children. A total of 778 children aged 2 months to 8 years were tested by cultural and genetic methods. Nasopharyngeal swabs were taken and transported to the NRL Laboratory of Molecular Microbiology at NCIPD via eSwab (Copan, Italy). Samples were cultured in Columbia CNA agar with 5% sheep blood and an optochin disc was used to distinguish the pneumococci from other microbial flora. From each sample in parallel with culture DNA was isolated and the culture negative samples were screened with RT-PCR for the presence of pneumococcal DNA. Isolates that were positive for the *cpsA* and *lytA* genes were typed with a total of 39 primer pairs. From culture – positive samples DNA was also isolated, which was analyzed by conventional PCR and Real Time PCR.

Results: Carriage was found in 52% of the samples, with a 21% culture positive children. From directly isolated DNA – 3.5% of all samples were found to have more than one serotype – two or three serotypes / serogroups colonizing the nasopharynx at the same time. The prevalence of two vaccine serotypes – 4 and 23F and the prevalence of serotype 6C in non-vaccine serotypes was established.

Conclusion: In conclusion, we identified a high percentage of carriers characterized mainly by non-vaccinal serotypes. Although reduced, colonization with vaccine serotypes in children remains eight years after the introduction of PCV10 vaccination.

Keywords: pneumococcal carriage, typing, PCV10

17. ЛАБОРАТОРНО ДОКАЗВАНЕ НА ПАРОТИТЕН ВИРУС В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОД ОТ ПЕТ ГОДИНИ (2014–2018)

Ст. Крумова[1], Н. Владимирова[1], А. Курчатова[1], епидемиолози от РЗИ[2]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София, България

[2] Регионални здравни инспекции в София, Стара Загора, Враца

Паротитният вирус (MuV) все още циркулира в Европа и по света. Повечето случаи са само клинично диагностицирани, като е наложително провеждане на комбинирана лабораторна диагностика. Приблизително една трета до половината от MuV инфекциите са асимптоматични или водят до леко протичащи респираторни заболявания, понякога придружени от треска.

Цел: Да се анализира циркулацията на паротитен вирус в България за период от пет години (2014–2018).

Материали/Методи: Настоящото изследване обхваща петгодишен период (2014–2018), през който са съобщени 150 съмнителни за паротит случая в страната. В НРЛ „Морбили, паротит, рубеола", НЦЗПБ е извършена специализирана лабораторна диагностика на 93 от тях чрез изследване на пациентски клинични проби: **серумни проби** (n=93), **орална течност** (n=14) и урина (n=9). Използвани са серологични (indirect ELISA тест за доказване на специфични паротитни IgM/IgG антитела в серум) и молекулярни (end-point RT-PCR анализ за доказване на паротитен SH ген) лабораторни методи.

Резултати: Общият брой лабораторно потвърдени случая в НРЛ е 53. Разпределението им по години, е както следва: 4/53 (8%) през 2014, 2/53 (4%) през 2015, 14/53 (26%) през 2016, 11/53 (21%) през 2017 и 22/53 (41%) през 2018. Разпределени по пол случаите с потвърдена паротитна инфекция са 29 при мъже и 24 при жени.

Най-висок брой паротит IgM положителни (33/53, 62%) са доказани при деца на възраст от 1 до 9 години. Паротитна РНК и SH ген са доказани чрез RT-PCR при 14/23 (61%).

Заключение: Лабораторните изследвания за доказване на паротитната инфекция са в недостатъчен обем за целите на мониторинга на циркулацията на паротитния вирус в страната през разглеждания период. Необходимо е подобряване на епидемиологичния и лабораторния надзор на епидемичен паротит в България.

Ключови думи: епидемичен паротит, ELISA IgM/IgG, PCR

17. LABORATORY DETECTION OF MUMPS VIRUS IN BULGARIA FOR FIVE YEARS PERIOD (2014–2018)

St. Krumova[1], N. Vladimirova[1], A. Kurchatova[1], epidemiologists from RHI[2]

[1] National Centre of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, Bulgaria

[2] Regional Health Inspectorates in Sofia, Stara Zagora, Vratsa

Background: Mumps virus (MuV) is still circulating throughout in Europe and the worldwide. The most of cases are only clinically diagnosed and combined laboratory diagnosis is required. Approximately one-third to one-half of MuV infections are asymptomatic or result in only mild respiratory symptoms, sometimes accompanied by fever.

Aim: To analyze the circulation of mumps virus in Bulgaria for five years period (2014–2018).

Materials and Methods: This study covers a five-year period (2014–2018), during which 150 suspected mumps cases were reported in the country. In NRL „Measles, mumps, rubella", NCIPD is made specialized laboratory monitoring of 93 of them by testing of patient clinical samples: serum samples (n = 93), oral fluid (n = 14) and urine (n = 9). Serological (indirect ELISA test for demonstration of specific mumps IgM/IgG antibodies in serum) and molecular (end-point RT-PCR analysis for detection of mumps SH gene) laboratory methods were used.

Results: During the study period a total of 53 cases were laboratory confirmed. Confirmed cases in NRL by years were as follow: 4/53 (8%) in 2014, 2/53 (4%) in 2015, 14/53 (26%) in 2016, 11/53 (21%) in 2017 and 22/53 (41%) in 2018. The highest number of IgM positives was found among children from 1 to 9 years old 33/53 (62%). More males (n=29) than females (n=24) were mumps IgM positive. Mumps RNA and SH gene was detected in 14/23 (61%) laboratory tested by RT-PCR.

Conclusion: Laboratory investigation to prove the mumps infection are insufficient for the purposes of monitoring the circulation of the mumps virus in the country during the study period. It is necessary to improve the epidemiological and laboratory surveillance of mumps in Bulgaria.

Key words: mumps, ELISA IgM/IgG, PCR

18. ВИРУСНИ ПРИЧИНИТЕЛИ НА ДИАРИЕН СИНДРОМ СРЕД ПАЦИЕНТИ В ИНФЕКЦИОЗНИ ОТДЕЛЕНИЯ

А. Стоянова[1], *И. Георгиева*[1], Т. Томов[2], Р. Добрев[3], Т. Червенякова[2], Ц. Дойчинова[3], Л. Николаева-Гломб[1]

[1] НРЛ „Ентеровируси“, Отдел Вирусология, НЦЗПБ, София;
[2] Специализирана болница за активно лечение на заразни и паразитни болести (СБАЛИПБ) „Проф. Иван Киров“, София;
[3] Клиника по инфекциозни болести, УМБАЛ „Д-р Георги Странски“, Плевен

ЦЕЛ. Да се разшири обхватът на надзор на острите вирусни гастроентерити чрез включване на молекулярна диагностика на панел от чревни вируси, причиняващи диариен синдром.

МАТЕРИАЛИ/МЕТОДИ. Изследвани са 80 фекални проби на пациенти, хоспитализирани в инфекциозните отделения на две лечебни заведения с диагноза при приемането вирусна чревна инфекция. Приложен е молекулярно-биологичен метод *RT-PCR* в постановка на мултиплексна реакция за доказване на ротавируси групи А, В и С, норовируси геногрупи I и II, саповируси, чревни аденовируси и чревни астровируси.

РЕЗУЛТАТИ. Чревни вируси са доказани в 40% (32/80) от клиничните материали. В 62,5% (20/32) от положителните проби се доказват ротавируси от група А, в 12,5% (4/32) – чревни аденовируси, в 9,4% (3/32), – норовируси геногрупа II, в 9,4% (3/32) – саповируси, в в 3,1% (1/32) – норовируси от геногрупа I и в 3,1% (1/32) астровируси. При четирима от пациентите е установена смесена инфекция с ротавирус и друг чревен вирус: при дете на 1 г. 10 м. е установена коинфекция с аденовирус, при възрастен пациент на 72 г. – с норовирус геногрупа II, при дете на 11 м. – със саповирус и при дете на 1 г. 5 м. – с норовирус геногрупа I.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Данните показват, че ротавирусите продължават да бъдат водещите етиологични агенти при острите небактериални гастроентерити, но е необходимо търсене и на други причинители при пациенти със стомашно-чревни разстройства.

Ключови думи: multiplex RT-PCR, чревни вируси, диария

18. VIRAL CAUSATIVE AGENTS OF DIARRHEA AMONG PATIENTS IN INFECTIOUS DISEASE WARDS

A. Stoyanova[1], I. Georgieva[1], T. Tomov[2], R. Dobrev[3], T. Tcherveniakova[2], T. Doichinova[3], L. Nikolaeva-Glomb[1]

[1] NRL „Enteroviruses“, Department of Virology, NCIPD, Sofia;
[2] Specialized Hospital for Active Treatment of Infectious and Parasitic Diseases „Prof. Ivan Kirov“, Sofia;
[3] Infectious Diseases Clinic at University Hospital „Dr. Georgi Stranski“, Pleven

OBJECTIVE. To expand the scope of surveillance of acute viral gastroenteritis by applying molecular diagnosis for a panel of intestinal viruses causing diarrheal syndrome.

In this study we aim to extend the scope of supervision of acute non-bacterial gastroenteritis in Bulgaria by including molecular diagnostics of other viruses causing gastrointestinal disorders apart from rotaviruses.

MATERIALS AND METHODS. 80 fecal samples of patients hospitalized in the infectious wards of two hospitals because of viral intestinal infection were examined. Multiplex RT-PCR with specific pairs of primers detecting rotaviruses group A, B and C, noroviruses genogroups I and II, sapoviruses, intestinal adenoviruses and intestinal astroviruses.

RESULTS. Intestinal viruses were found in 40% (32/80) of specimens. In 62.5% (20/32) of the positive samples rotaviruses group A were detected, in 12,5% (4/32) – intestinal adenoviruses, in 9.4% (3/32) – noroviruses genogroup II, in 9.4% (3/32) – sapoviruses, in 3.1% (1/32) – noroviruses genogroup I and in 3.1% (1/32) – astroviruses. Four of the patients were presented with mixed infections: rotavirus acompanied by another intestinal virus – norovirus genogroup I, norovirus genogroup II, sapo- and adenovirus.

CONCLUSION. The results reveal that rotaviruses are still the leading etiologic agents in acute non-bacterial gastroenteritis but it is also necessary to seek other viral agents in patients with dairrheal syndrome.

Key words: multiplex RT-PCR, intestinal vruses, diarrhea

19. ЕКЗОТИЧНА САЛМОНЕЛА СРЕД МЕДИЦИНСКИ ПЕРСОНАЛ

М. Павлова[1], М. Карагеоргиев[1], Е. Александрова[1], Г. Каменов[1], В. Велев[2], Р. Радославова[3], Т. Кантарджиев[1]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести.
[2] СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“ – София
[3] РЗИ – Русе

Най-честата епидемия, предавана с храни и води в страната, засягаща най-много хора, от тях предимно деца, се дължи на *Salmonella enterica sp. enterica* по данни на НЦЗПБ и НЦОЗА. През лятото на 2018г е регистрирана епидемия на територията на град Русе, засягаща медицински персонал от две здравни заведения. Етиологичен причинител на взрива е екзотичен за България серотип **S. London.** Потвърждаване и доказване на епидемиологичната свързаност на салмонелните изо-

19. EXOTIC SALMONELLA AFFECT MEDICAL STAFF

M. Pavlova[1], M. Karageorgiev[1], E. Aleksandrova[1], V. Velev[2], R. Radoslavova[3], G. Kamenov[1], T. Kantardjiev[1]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases
[2] Hospital for Infectious and Parasitic Diseases.
[3] Regional Health Inspectorate, Ruse, Bulgaria

The most frequent food and waterborne epidemic affecting most people, mostly children, is due to *Salmonella enterica subsp. enterica* according to data from NCIPD and NCPHA. In the summer of 2018 an outbreak was recorded on the territory of the city of Ruse, affecting medical personnel from two health care establishments. The etiological agent of this outbreak is an exotic for Bulgaria serotype – *S.* London. Confirmation and proof for epidemiological connectivity of the Salmonella isolates was made in the NRL of Pathogenic Diseases at the NCIPD through phenotypic and genetic methods.

лати се извърши в НРЛ по ЧИ към НЦЗПБ чрез фенотипни и генетични методи.

Материали и методи. Общият брой на изследваните контактните лица е 144 души, медицински персонал на две здравни заведения. На 18 (18/144) от изследваните лица е изолиран етиологичен причинител *S.* London, 2 (2/18) са с изразена клинична форма, а 16 (16/18) асимптоматични. Серотипът на изолатите е потвърден като O:E :I,v : 1,6 в НРЛ по ЧИ. Извършен е PFGE анализ за генетично доказване на епидемиологична свързаност на салмонелните изолати.

Резултати и обсъждане. Резултатите от PFGE анализа доказват, че изследваните изолати ***S.* London** са епидемично свързани. Епидемичната връзка между засегнатите лица от двете медицински заведения се определя от общи фактори- доставената в двете лечебни заведения храна, се приготвя от една и съща фирма, част от засегнатите работят и в двете лечебни заведения. Няма съобщени случаи на салмонелоза сред хоспитализираните болни в засегнатите отделения на лечебните заведения.

Ключови думи: салмонелоза, епидемия, PFGE

Materials and methods. The total number of the surveyed contact persons (medical staff of the two health establishments) is 144. From 18 (18/144) of the tested subjects were isolated etiological agent *S.* London, 2 of them (2/18) have an acute clinical form and 16 (16/18) are asymptomatic. The serotype of isolates is confirmed as O:E: I,v : 1,6 in NRL of Pathogenic Diseases. A PFGE analysis has been carried out to provide genetic evidence of the epidemiological linking of salmonella isolates.

Results and discussion. The results of the PFGE analysis have shown that S. London isolates are epidemically related. The epidemic link between the affected persons from the two medical establishments is determined by common factors – the food delivered in the two medical establishments is prepared by the same company, some of the affected persons are working in both medical establishments. There are no reported cases of salmonellosis among hospitalized patients in the affected departments.

Key words: salmonellosis, outbreak, PFGE

20. СРАВНИТЕЛНО ПРОУЧВАНЕ НА ДВЕ РАЗЛИЧНИ ГАЗ-ГЕНЕРИРАЩИ СИСТЕМИ НА МИКРОАЕРОФИЛНА СРЕДА ЗА КУЛТИВИРАНЕ НА ТЕРМОФИЛНИ CAMPYLOBACTER SPP.

М. Павлова[1], К. Иванова[1], В. Велев[2], Е. Александрова[1], М. Карагеоргиев[1], Т. Кантарджиев[1]

[1] Национален Център по Заразни и Паразитни Болести – София
[2] СБАЛИПБ „Проф. Иван Киров“ – София

Термофилните *Campylobacter spp.* са взискателни и трудни за култивиране микроорганизми, които изискват микроаерофилна среда от ***80% N_2, 10% CO_2, 5% H_2 и 5% 0_2*** за своя растеж. Целта на това проучване е да се оцени растежа на *Campylobacter spp.* при две различни газ-генериращи системи за осигуряване на микроаерофилна среда: газо-генериращо саше (Tzvetika, ST-RIDACOM) за 1 до 3 петри и газ-генериращ комплект (Oxoid) за джар.

Чистата култура C. *jejuni* ATCC33560 се суспендират в NaCl 0.9%, 0.5 McFarland и се разсява на кръвен агар + 5% KB (BIOMAIMA, Полша). И при двете тествани системи петрите бяха инкубирани при 42 ° C за 42 h. След което бяха преброени прораслите единични колониите. Целият експеримент бе повторен 10 пъти.

Резултатите не показват значителна разлика в броя на колониите сред тестваните системи за генериране на микроаерофилна атмосфера. В заключение, двете газ-генериращи системи Tzvetika, ST-RIDACOM и Oxoid са в състояние да осигурят оптимална микроаерофилна среда за растеж на *Campylobacter spp.*

Препоръчваме сашетата Tzvetika, ST-RIDACOM като по-евтин и по-достъпен метод при избора на газ-генериращи системи за осигуряване на микроаерофилна среда.

20. COMPARATIVE STUDY OF TWO DIFFERENT GAS-DELIVERY SYSTEMS FOR CULTURING THERMOTOLERANT CAMPYLOBACTER SPP. IN A MICROAEROPHILIC ENVIRONMENT

M. Pavlova[1], K. Ivanova[1], V. Velev[2], E. Alexsandrova[1], M. Karagerogiev[1], T. Kantardjiev[1]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases – Sofia
[2] Hospital for Infectious and Parasitic Diseases „Prof. Ivan Kirov“ – Sofia

Thermotolerant *Campylobacter spp.* are difficult to cultivate and require a microaerophilic environment ***80% N_2, 10% CO_2, 5% H_2, and 5% O_2*** for growth. The aim of this study was to evaluate *Campylobacter spp.* growth by means of 2 different gas-delivery systems for generating a microaerophilic environment: gas-generating sachet for 1 to 3 petri dishes (Tzvetika, ST-RIDACOM), and Gas Generating Kit (Oxoid).

Pure culture *C. jejuni* ATCC 33560 cells were suspended in NaCl 0.9%, 0.5 McFarland and spread onto Blood lab-agar +5% KB (BIOMAIMA, Poland) plates. For the two systems, plates were placed in an incubator at 42°C for 42 h. After that colonies were counted. The entire experiment was repeated 10 times.

Results indicated no significant difference in colony counts among the Atmosphere Generation System tested. In conclusion, the both gas delivery methods were able to produce similar Campylobacter growth results.

We recommend the Tzvetika, ST-RIDACOM sachet as a cheaper and more availability method when choosing a gas-delivery systems for generating a microaerophilic environment.

21. ОРОФАРИНГЕАЛНА И ИНТЕСТИНАЛНА КОЛОНИЗАЦИЯ С ГЪБИЧКИ ОТ РОД CANDIDA ПРИ ПАЦИЕНТИ С МАЛИГНЕНИ ХЕМАТОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Д. Георгиева[1], Х. Хиткова[1], И. Христов[2], П. Христова[1], Т. Българанова[1], В. Едрева[1], М. Средкова[1]

[1] Катедра по Микробиология, Вирусология и Медицинска Генетика, МУ – Плевен

[2] Катедра по Нефрология, Хематология и Гастроентерология, МУ – Плевен

Въведение: *Пациентите с малигнени хематологични заболявания са с висок риск за колонизация и инфекция с Candida* spp.

Цел: Да се проучи честотата на орофарингеална и интестинална колонизация с *Candida* spp. сред пациенти с малигнени хематологични заболявания, да се идентифицират до вид гъбичните изолати *и да се определи тяхната антимикотична чувствителност.*

Материали и методи: През периода декември, 2018 г. – януари, 2019 г. бяха изследвани общо 88 пациента от Клиниката по хематология при Университетска болница „Д-р Г. Странски", Плевен. За изолиране и първично идентифициране на гъбичките се използваше CHROM Agar Candida. Окончателната видова идентификация се извършваше с VITEK 2 compact. MICs на 9 антимикотици се определиха с Micronaut – AM и се интерпретираха според EUCAST, 2018 г.

Резултати: Колонизация с *Candida* spp. се установи при 39 пациента (44.3%): 21 бяха с интестинална, 9 – с орофарингеална и 9 – едновременно с интестинална и орофарингеална колонизация. Изолираха се общо 49 гъбички, като един пациент беше носител на два вида. Разпределението на неповтарящите се изолати по видове беше следното: *C. albicans* (30), *C. glabrata* (7), *C. krusei* (1), *C. parapsilosis* (1) и *C. boidinii* (1). Всички гъбички бяха чувствителни на амфотерицин B (MICs: 0.5–1 µg/ml), 5-флуороцитозин (MIC_{90}: 0.125 µg/ml) и ехинокандини с MIC_{90} *на микафунгин, анидулафунгин и каспофунгин съответно* 0.015, 0.031 and 0.125 µg/ml. MICs на азолите варираха широко – от < 0.0078 до > 128 µg/ml за флуконазол, >8 µg/ml за вориконазол и посаконазол и >4 µg/ml за итраконазол. Високо ниво на резистентност към азоли се наблюдаваше при 60% от изолатите на *C. albicans* и при всички *C. glabrata* щамове.

Заключение: Почти половината от пациентите с малигнени хематологични заболявания са колонизарани с *Candida* spp, като преобладаваща е интестиналната колоницаия. Установен е висок относителниятдял на *C. albicans* (76.9%) и високачестотана резистентностъм азоли сред гъбичните изолати.

Ключови думи: *Candida* spp, колонизация, антимикотици, резистентност

21. OROFARIGNAL AND INTESTINAL COLONIZATION WITH FUNGI FROM GENUS CANDIDA IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

D. Georgieva[1], H. Hitkova[1], I. Hristov[2], P. Hristova[1], T. Bulgaranova[1], V. Edreva[1], M. Sredkova[1]

[1] Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Medical University – Pleven
Department of Nephrology, Haematology and Gastroenterology, Medical University – Pleven

Introduction: The patients with hematological malignancies are at a high risk of colonization and infection with *Candida* spp.

Aim: To determine the ratio of oropharyngeal and intestinal colonization with *Candida* spp. in patients with hematological malignancies, to identify fungal isolates up to a species level and to determine their antifungal susceptibility.

Materials and methods. During the period December, 2018 – January, 2019, a total of 88 patients in the Hematology ward at University Hospital „Dr. G. Stranski", Pleven were investigated. For isolation and preliminary identification of fungi was used CHROM Agar Candida. Definitive species identification was performed by VITEK 2 compact. MICs of 9 antimicotics were determined with Micronaut – AM and were interpreted according to EUCAST, 2018.

Results: Colonization with *Candida* spp. was detected in 39 patients (44.3%): 21 were with intestinal, 9 – with oropharyngeal and 9 – with both intestinal and oropharyngeal colonization. Overall 49 yeasts were isolated, so one patient was carrier of two species. The species distribution of non-repeated isolates was as follows: *C. albicans* (30), *C. glabrata* (7), *C. krusei* (1), *C. parapsilosis* (1) and *C. boidinii* (1). All fungi were sensitive to amphotericin B (MICs: 0.5–1 µg / ml), 5-fluorocytosine (MIC_{90}: 0.125 µg / ml) and echinocandins with MIC_{90} of micafungin, anidulafungin and caspofungin 0.015, 0.031 and 0.125 µg/ml, respectively. MICs of azoles varied widely – from <0.0078 to > 128 µg/ml of fluconazole, > 8 µg/ml of voriconazole and posaconazole, and > 4 µg/ml of itraconazole. A high-level of azole resistance was found in 60% of *C. albicans* isolates and in all *C. glabrata* strains.

Conclusion: Almost half of patients with hematological malignancies were colonized with *Candida* spp. with prevalence of intestinal colonization. A high relative ratio of *C. albicans* (76.9%) was found and a high rate of azole resistance among yeast isolates was detected.

Key words: *Candida* spp, colonization, antifungals, resistance

22. РОТАВИРУСНИ ГЕНОТИПОВЕ СРЕД ХОСПИТАЛИЗИРАНИ ПАЦИЕНТИ, СЕЗОН 2018/2019

И. Георгиева[1], А. Стоянова[1], П. Петров[2], Т. Томов[3], Р. Добрев[4], Т. Червенякова[3], Ц. Дойчинова[4], Л. Николаева-Гломб[1]

[1] НРЛ „Ентеровируси“, Отдел Вирусология, НЦЗПБ, София;
[2] Отделение по инфекциозни болести, УМБАЛ „Св. Анна“, София;
[3] Специализирана болница за активно лечение на заразни и паразитни болести (СБАЛИПБ) „Проф. Иван Киров“, София;
[4] Клиника по инфекциозни болести, УМБАЛ „Д-р Георги Странски“, Плевен

ЦЕЛ: Вирусологична характеристика на доказаните сред хоспитализирани пациенти ротавируси през сезон 2018/2019 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: В периода от м. октомври 2018 г. до края на месец февруари 2019 г. в НРЛ „Ентеровируси“ на НЦЗПБ са изследвани клинични материали (фекални проби) от хоспитализирани пациенти в инфекциозни отделения на няколко болници в страната, постъпили с диагноза вирусна чревна инфекция. Доказването на ротавируси в клиничните материали е извършено чрез имуно-ензимен метод за директно доказване на вирусния антиген (*ELISA*) и/или чрез молекулярно-биологичен метод (*RT-PCR*). Доказаните в клиничните материали ротавируси са генотипирани посредством *semi-nested PCR*.

РЕЗУЛТАТИ: От лабораторно изследваните 271 клинични материала ротавируси са доказани в 74 (27.3%). От тях 219 са на деца под 5 годишна възраст. Положителните за ротавируси проби (*n*=27) са генотипирани чрез *semi-nested RT-PCR* със сетове от праймери, позволяващи идентифициране на геногруповата принадлежност. Генотип G2P[4] е доказан в 19 от положителните проби (70%); генотип G4P[8] – в 4 проби (15%); генотип G12P[8] – в 2 проби (7%); генотип G8P[8] – в 1 проба. Включеният в прилаганата в страната ваксина генотип G1P[8] е доказан само в една от пробите. В презентацията на конгреса ще бъдат представени пълните данни за целия ротавирусен сезон, обхващащ периода 1 октомври 2018 г. – 30 април 2019 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Ротавирусите са сред най-честите причинители на остри вирусни гастроентерити. Ротавирусите се характерезират с голямо генетично и антигенно разнообразие. Характерна е едновременна циркулация на няколко ротавирусни генотипове. Установява се доминиращо разпространение на генотип G2P[4], към който ваксината, прилагана в България, проявява по-ниска ефикасност.

Ключови думи: Ротавирус, ротавирусен гастроентерит

22. ROTAVIRUS GENOTYPES AMONG HOSPITALIZED PATIENTS, SEASON 2018/2019

I. Georgieva[1], A. Stoyanova[1], P. Petrov[2], T. Tomov[3], R. Dobrev[4], T. Tcherveniakova[3], T. Doichinova[4], L. Nikolaeva-Glomb[1]

[1] NRL „Enteroviruses“, Department of Virology, NCIPD, Sofia;
[2] Infectious Disease Ward at University Hospital „St. Anna“, Sofia;
[3] Specialized Hospital for Active Treatment of Infectious and Parasitic Diseases „Prof. Ivan Kirov“, Sofia;
[4] Infectious Diseases Clinic at University Hospital „Dr. Georgi Stranski“, Pleven

OBJECTIVE: Virological characterisation of rotaviruses detected among hospitalized patients during the 2018/2019 season.

MATERIALS AND METHODS: In the period October 2018 till end of February 2019, clinical materials (fecal samples) from hospitalized patients in several hospitals were collected in NRL „Enteroviruses“, NCIPD. Patients were diagnosed with viral intestinal infection. Samples were tested by ELISA for direct detection of viral antigen and/or RT-PCR. Detected rotaviruses were genotyped by semi-nested PCR.

RESULTS: A total of 271 clinical samples were enrolled in the study during the above mentioned period. Rotaviruses were detected in 74 (27.3%). Of these, 219 were from children under 5 years of age. Rotavirus-positive samples (n = 27) were genotyped by nested RT-PCR with sets of primers allowing genogroups to be identified. Genotype G2P[4] was detected in 19 of the positive samples (70%); G4P[8] – in 4 samples (15%); G12P[8] – in 2 samples (7%); G8P[8] – in 1. The vaccine strain, genotype G1P[8], was detected in only one of the samples. During the congress days complete data for the whole rotavirus season covering the period from October 1st, 2018 till April 30th, 2019, will be presented.

CONCLUSION: Rotaviruses are among the most common causes of acute viral gastroenteritis. Rotaviruses are characterized by great genetic and antigenic diversity. Simultaneous circulation of several rotavirus genotypes is quite often. Dominant prevalence of genotype G2P[4] is found, to which the vaccine applied in Bulgaria, showed lower efficacy.

Key words: Rotavirus, rotavirus gastroenteritis

23. ТРИХИНЕЛОЗЕН ВЗРИВ В МАЛКО ТЪРНОВО – ЯНУАРИ 2019 Г.

Р. Борисова, И. Райнова, А. Иванова, Н. Цветкова, Р. Харизанов, И. Кафтанджиев, М. Виденова

Национален център по заразни и паразитни болести, Отдел Паразитология и тропическа медицина

Цел на настоящото проучване е да определи епидемиологичните характеристики на епидемичен взрив от трихинелоза възникнал на територията на Бургаска област, но обхванал лица и от други области на страната, както и да представи резултатите от санитарно-паразитологичното изследване на консумираното месо.

Материали и методи: За целите на проучването са използвани: (i) данни от картите за епидемиологично проучване на регистриран случай на трихинелоза; (ii) протоколи от проучване на епидемичен взрив; (iii) резултати от санитарно-паразитологични изследвания извършени в НРЛ „Диагностика на паразитозите" – компресивна трихинелоскопия и смилане в изкуствен стомашен сок.

Резултати: В резултат на консумация в суров вид на луканка приготвена от месо на диво прасе, от 38 лица, 27 развиват клинични прояви на трихинелоза и диагнозата е потвърдена серологично. Лицата са от областите Бургас (n =21), София (n =2) и Перник (n = 4). От заболелите лица, 25 са възрастни и две деца на 14 г. Всички са лекувани с Албендазол по схема. При санитарно-паразитологичните изследвания извършени в НРЛ „Диагностика на паразитозите", се установи наличие на трихинелни ларви в пробите от луканки, изолирани по метода на смилане в изкуствен стомашен сок, предвид невисоката трихинелна инвазия в месото и по-високата чувствителност на методиката, сравнена с компресивната трихинелоскопия, при която резултатите бяха отрицателни.

Заключение: Сред страните членки на ЕС, България заема едно от водещите места по заболяемост от трихинелоза. Средната заболяемост от трихинелоза в България през последните години неколкократно надвишава средната за ЕС. Основните причини за този факт според нас, са недостатъчният ветеринарно-медицински контрол на меса, добити при лов и домашно свиневъдство и незадоволителната здравна култура на част от населението на страната, независимо от усилията на хуманни и ветеринарни медици.

Ключови думи: трихинелоза, епидемичен взрив, санитарно-паразитологични изследвания

23. AN OUTBREAK OF TRICHINELLOSIS OCCURRED IN TOWN MALKO TARNOVO – JANUARY 2019

R. Borisova, I. Raynova, A. Ivanova, N. Tsvetkova, R. Harizanov, I. Kaftandjiev, M.Videnova

National Center for Infectious and Parasitic Diseases, Department of Parasitology and Tropical Medicine

The **aim** of the present study was to determine the epidemiological characteristics of an epidemic outbreak of trichinellosis occurred in the territory of the Bourgas region, although persons from other areas of the country were also covered as well, and to present the results of the sanitary-parasitological study of the consumed meat.

Materials and methods: For the purpose of the study, the following data were used: (i) data from epidemiological survey cards of a all registered cases of trichinosis; (ii) protocols from an epidemic outbreak; (iii) results of sanitary-parasitological examinations performed in the National Reference Laboratory (NRL) for Diagnosis of Parasitic Diseases – compression method (trichinelloscopy) and artificial digestion in gastric juice.

Results: As a result of consumption of raw meat products prepared from wild pig meat, 38 persons, 27 developed clinical manifestations of trichinellosis and the diagnosis was confirmed serologically. The persons were from Bourgas (n=21), Sofia (n=2), and Pernik (n=4). Of those affected, 25 were adults and two were 14 years old. All infected were treated with Albendazole. The sanitary-parasitological examination of the raw meat products showed the presence of trichinella larvae in the samples processed by the method of digestion in artificial gastric juice, given the low trichinella larval counts in the meat and the higher sensitivity of the method compared with trichinelloscopy, where the results were negative.

Conclusion: Among the member states of the EU, Bulgaria is one of the leading countries with highest levels of trichinellosis morbidity. In the recent years the average annual incidence of trichinellosis in Bulgaria is several times higher than the total EU average incidence. In our opinion the main reasons for this, are the insufficient veterinary control of meat acquired in hunting and home-breeding and the unsatisfactory health culture of part of the country's population, despite the efforts of human and veterinary doctors.

Key words: Trichinella, epidemic outbreak, sanitary-parasitological studies

24. ВИДОВО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ПРИЧИНИТЕЛИТЕ НА ТРИХИНЕЛОЗНИ ВЗРИВОВЕ В БЪЛГАРИЯ (ЯНУАРИ-ФЕВРУАРИ, 2019 ГОД.) ЧРЕЗ NESTED MULTIPLEX PCR

А. Иванова[1], Н. Цветкова[1], И. Райнова[1], Р. Борисова[1], М. Виденова[1], Р. Харизанов[1], И. Кафтанджиев[1]

[1] Отдел Паразитология и тропическа медицина, Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София

Цел на настоящото проучване е видовото определяне на причинителите на трихинелозни взривове на територията на България за периода януари-февруари 2019 година чрез nested multiplex PCR.

24. SPECIES IDENTIFICATION OF THE CAUSATIVE AGENTS OF TRICHINELLOSIS OUTBREAKS IN BULGARIA (JANUARY-FEBRUARY, 2019) BY NESTED MULTIPLEX PCR.

A. Ivanova[1], N. Tsvetkova[1], I. Rainova[1], R. Borisova[1], M. Videnova[1], R. Harizanov[1], I. Kaftandjiev[1]

[1] Department of Parasitology and Tropical Medicine, National Centre of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia

Aim of this study was to identify the species of the causative agents of trichinellosis outbreaks in Bulgaria for the period January-February 2019 by nested multiplex PCR.

Материали и методи: В началото на 2019 г. в страната са регистрирани два трихинелозни взрива в областите Бургас и Кърджали. В НРЛ „Диагностика на паразитозите“ към НЦЗПБ постъпиха 12 броя луканки и две проби месо от диви прасета от двата взрива за изследване с изкуствен стомашен сок за наличие на трихинелни ларви и видово определяне на причинителя. Видовата идентификация извършихме чрез nested multiplex PCR с две двойки праймери в първия етап и пет двойки във втория (Zarlenga и съавт.), която за всеки вид генерира уникален електрофоретичен профил от ДНК бандове.

Резултати: Амплификационните продукти на изолираните ДНК проби от трихинелни ларви показаха наличие на бандове, специфични за *Trichinella BRITOVI* и при двата регистрирани до момента в страната взрива. Данните от настоящото проучване корелират с данните от предишни наши проучвания върху видовата идентификация на причинителите на трихинелозни взривове в страната за последните пет години. От общо 19 взрива за периода, при 8 (42%) от тях е установен вида на причинителя. В 62,5% (n = 5) причинител на заболяването е *T. BRITOVI*, а в 37,5% (n = 3) – *T. spiralis*.

Заключение: Трихинелозата е природно и синантропно огнищна зооантропоноза, причинявана от нематоди от род *Trichinella. Видова идентификация на причинителя не може да бъде извършена с морфологични методи, което налага използването на молекулярно-биологични.* В България, до момента, като причинители на трихинелозни взривове са доказани видовете *T. BRITOVI, T. spiralis* и *T. pseudospiralis*. Както в Европа, така и в България *T. BRITOVI* е доминиращ вид сред популациите на диви прасета, докато *T. spiralis* се изолира предимно в домашни свине.

Ключови думи: *Trichinella* spp., видова идентификация, nested multiplex PCR.

Materials and methods: At the beginning of 2019 in Bulgaria were registered two trichinellosis outbreaks in the districts of Burgas and Kardzhali. Twelve samples of raw sausages and two samples of meat from wild boars were examined in NRL „Diagnosis of Parasitic Diseases“ at the NCIPD with artificial gastric juice for the presence of *Trichinella* spp. larvae. Isolated larvae were subjected to species identification by nested multiplex PCR with two of primer pairs in the first round and five pairs in the second (Zarlenga et al.), which generates a unique electrophoretic profile of DNA bands for each species.

Results: Amplification products from the isolated DNA samples from *Trichinella* larvae revealed the presence of specific bands for *Trichinella BRITOVI* in both registered so far in the country outbreaks. The present data correlate with that from our previous studies on the species identification of the trichinellosis causative agents in the country over the past five years. The causative agent was identified in 42% (n = 8) out of the 19 outbreaks for this period. *T. BRITOVI* was identified as causative agent in 62,5% of the outbreaks (n = 5) and *T. spiralis* in 37,5% (n = 3).

Conclusion: Trichinellosis is a zooanthroponotic disease with rural and urban focality caused by *Trichinella* nematodes. The species identification of the causative agent can not be performed by morphological methods, which necessitates the use of biomolecular. Currently in Bulgaria, as causative agents of trichinellosis outbreaks are proven species *T. BRITOVI*, *T. spiralis,* and *T. pseudospiralis*. Both in Europe and in Bulgaria *T. BRITOVI* is the dominant species in wild boars populations, while *T. spiralis* is predominantly isolated in domestic swine.

Keywords: *Trichinella* spp., species identification, nested multiplex PCR.

25. КРИПТОСПОРИДИОЗАТА ПРИ ХОРАТА В БЪЛГАРИЯ: РЕТРОСПЕКТИВНО ПРОУЧВАНЕ, ОБХВАЩАЩО ПЕРИОДА 2007 Г. – 2016 Г.

Н. Цветкова,[1], И. Райнова[1], Р. Борисова[1], Н. Янчева[2], Р. Харизанов[1], И. Кафтанджиев[1], А. Иванова[1], М. Виденова[1]

[1] Отдел „Паразитология и тропическа медицина“, НЦЗПБ, София, България

[2] Специализирана болница за инфекциозни и паразитни болести, Медицински университет, София, България Отделение за придобита имунна недостатъчност, СБАЛИПБ“ Проф. Иван Киров“-София

РЕЗЮМЕ

Цел: Да се анализират, обобщят и направят достъпни за научната общност данните за случаи на криптоспоридиоза при хора за 10-годишен период (2007–2016 г.) в България.

Материали и методи: Използвани са годишните анализи на паразитните болести в Република България, изготвени от отдел „Паразитология и тропическа медицина“ към Националния център по заразни и паразитни болести, София; годишните епидемиологични доклади и данните от обобщения доклад на Европейския съюз за тенденциите и източниците на зоонози, агентите, причиняващи зоонози, и взривовете, причинени от храни, за периода 2007–2016 г. Проведен е ретроспективен анализ на резултатите от изследванията на фекални материали за наличие на кокцидийни ооцисти, идентифицирани чрез прилагане на следните два метода – модифициран метод на Ziehl-Neelsen (MZN) и RIDA® QUICK *Cryptosporidium/Giardia* Combi Immunochromatographic Test (ICT).

25. HUMAN CRYPTOSPORIDIOSIS IN BULGARIA: A RETROSPECTIVE STUDY COMPRISING THE PERIOD 2007–2016

N. Tsvetkova[1], I. Raynova[1], R. Borisova[1], N. Yancheva[2], R. Harizanov[1], I. Kaftandjiev[1], A. Ivanova[1], M. Videnova[1]

[1] Department of Parasitology and Tropical Medicine, NCIPD, Sofia, Bulgaria

[2] Department for AIDS, Specialized Hospital for Active treatment of Infectious and Parasitic Diseases „ Prof. Ivan Kirov“, Sofia, Bulgaria

ABSTRACT

Aim: To analyze, summarize, and make accessible to the scientific community the data on human cryptosporidiosis cases for a 10-year period (2007–2016) in Bulgaria.

Materials and Methods: Annual analyzes of parasitic diseases in the Republic of Bulgaria, prepared by the Department of Parasitology and Tropical Medicine at the National Center of Infectious and Parasitic Diseases in Sofia, Annual epidemiological report and data from the European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks for the period 2007–2016 were used. A retrospective analysis of the stool examination results obtained with both modified Ziehl-Neelsen method (MZN) and RIDA® QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi Immunochromatographic Test (ICT) in the diagnosis of intestinal coccidia oocysts was made.

Results: Stool samples of a total of 2774 patients were examined in parallel by both MZN method and ICT during the studied period. Oocysts of *Cryptosporidium spp.* were detected in 14 (0.50%) patients. In 13 of patients both (MZN/ICT) assays were positive and 1 had MZN(+)/ICT(–) result. Six (42.86%) of the positive individuals were HIV-infected. In one patient *Cryptosporidium*

Резултати: През проучвания период паралелно по двата метода (MZN и ICT) са изследвани фекални материали от общо 2774 пациенти. Ооцисти на *Cryptosporidium* spp. са открити при 14 (0,50%) изследвани лица. При 13 от пациентите и двата (MZN/ICT) анализа са положителни, а само при 1 пациент резултатите MZN(+)/ICT(–). Шест (42,86%) от положителните пациенти са ХИВ-инфектирани лица. При един пациент ооцисти на *Cryptosporidium* са били изолирани в продължение на няколко месеца, независимо от провежданото лечение. Най-голям е броят на съобщените случаи на криптоспоридиоза при възрастните пациенти (25–44 години) (8/14, 57,14%), следвани от деца на възраст 0–4 години (2/14, 14,28%).

Заключение: Данните показват, че насочеността към опортюнистичните паразитози е слаба и липсва яснота за реалната заболяемост у нас. Инфекции, причинени от *Cryptosporidium* spp. са открити само в няколко лаборатории в страната. Необходимо е да се повишат усилията на паразитологичните лаборатории на национално ниво за изследване на фекалните материали, особено тези на деца и имунокомпрометирани индивиди с диария, за наличието на ооцисти на *Cryptosporidium*.

Ключови думи: *Cryptosporidium*, лабораторна диагностика

oocysts persisted several months despite the treatment. The highest number of reported cases of cryptosporidiosis was in adults aged 25–44 years (8/14, 57,14%), followed by children aged 0–4 years (2/14, 14,28%).

Conclusion: The data show that focus on opportunistic parasitoses is weak and lack of clarity about the real morbidity in Bulgaria. Only several laboratories in the country detected infections with *Cryptosporidium* spp. It is important to strengthen the efforts of parasitological laboratories on the country level to examine diarrheal stool samples, especially those of children and immunocompromised individuals, for the presence of *Cryptosporidium* oocysts.

Keywords: Cryptosporidium, laboratory diagnosis

26. ВРЪЗКА МЕЖДУ БОЛАСТТА НА АЛЦХАЙМЕР И ЗЪБНИЯ ПАТОГЕН PORPHYROMONAS GINGIVALIS

В. Толчков, С. Панайотов

Сектор Микробиом, Отдел Микробиология, Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, София

Болестта на Алцхаймер е нелечимо, дегенеративно и терминално заболяване. Болестта е най-разпространената форма на деменция и обикновено се диагностицира при хора на възраст над 65 години,макар че съществува и по-ранна форма на болестта, която може да възникне много по-рано. В Европейския Съюз в делът на невродегенеративните заболявания сред причините за смърт нараства от 1.7% през 1999 до 4.1% през 2015 година поради застаряването на населението и нарастващата средна продължителност на живота. Към 2006 г. броят на болните от това заболяване в световен мащаб се оценява на 26.6 млн души, като според прогнозите до 2050 г. то ще засяга 1 на 85 души. Наскоро е установена връзка на болестта на Алцхаймер с инфекцията от *Porphyromonas GINGIVALIS,* причинител на пародонтит и гингивит. Вероятна основна причина за дегенерацията на нервната тъкан е протеолитичната и аргинин-дезаминазната активност на този анаероб, използващ човешките белтъци като източник на азот и аминокиселини за собствената си белтъчна синтеза. Диагностиката на инфекцията от *P. GINGIVALIS* е възможен ранен индикатор за предразположеност към развитие на болестта на Алцхаймер. В отдел микробиология на националния център по заразни и паразитни болести е разработен протокол за детекция на този вид чрез PCR от зъбни щифтове без използването на транспортна среда, приложим в бъдещи изследвания за ролята на *P. GINGIVALIS* в развитието и протичането на болестта на Алцхаймер.

Ключови думи: *Porphyromonas GINGIVALIS,* болест на Алцхаймер, PCR

26. RELATION BETWEEN ALZHEIMER'S DISEASE AND TOOTH PATHOGEN PORPHYROMONAS GINGIVALIS

V. Tolchkov S. Panaiotov

Microbiome Group, Department of Microbiology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

Alzheimer's disease is incurable degenerative and terminal disease. It is the most common kind of demention usually affecting people in age over 65 but sometimes younger patients can be affected. In the European Union the part of neurodegenerative diseases as a reason of death increased from 1.7% in 1999 to 4.1% in 2015 as a result of aging of the population and the increase of the life expectancy. Patients diagnosed with Alzheimer's disease in 2006 were 26.6 million worldwide and the forecast is to be reached 1 of 85 people in 2050. Relation between Alzheimer disease and *Porphyromonas GINGIVALIS* infection-causative agent of periodontitis and gingivitis is estimated in the last years. Most probably one of the reasons of the degeneration of the nerve tissue is the proteolytic and arginine-deaminase activity of this anaerobe using human proteins as a source of nitrogen and amino acids for synthesis of its own proteins. Diagnosis of *P. GINGIVALIS* infection is a possible early indicator for predisposition to Alzheimer's disease. Protocol for detection of *P. GINGIVALIS* in samples from tooth pins using PCR technology is optimized in the Department of Microbiology of the National Center of Infectious and Parasitic Diseases and can be used in future investigations of the role of this pathogen in the progression of the Alzheimer's disease.

Key Words: *Porphyromonas GINGIVALIS,* Alzheimer's disease, PCR.

27. ИНХИБИТОРНА АКТИВНОСТ В УСЛОВИЯ IN VITRO НА ЩАМОВЕ LACTOBACILLUS СРЕЩУ CANDIDA ALBICANS

Л. Йочева[1], Л. Церовска[1], А. Дангулева-Чолакова[2], Е. Караиванова[2], Г. Железова[1], Р. Георгиева[2]

[1] СУ"Св. Климент Охридски", Медицински факултет, катедра „Биология, медицинска генетика и микробиология"
[2] Лактина ООД, София

Цел: Да се изследва антимикробната и коагрегационна активност на щамове от род *Lactobacillus* върху *Candida albicans.*

Материали и методи: Изследването бе проведено с шестнадесет щама от видовете *Lactobacillus reuteri*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. HELVETICUS*, *L. SALIVARIUS* и *L. gasseri* от колекцията на „Лактина"ООД и референтен щам *Candida albicans* NBIMCC 74. За оценка активността на лактобацилите са използвани стандартни *in VITRO* методи. Инхибиторната активност на кисела и неутрализирана (pH~5,50) безклетъчна супернатанта, получена след култивиране в MRS среда и сухо обезмаслено мляко е определяна по агар-дифузионния метод. Коагрегацията на млечнокиселите щамове с тест микроорганизма е определяна спектрофотометрично.

Резултати: Изследването на антимикробната активност на кисели супернатанти показа, че десет лактобацилни щама имат потискащ ефект върху *C. albicans*. Всички щамове от видовете *L. paracasei*, *L. rhamnosus* и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, както и *L. plantarum*, *L. fermentum* и *L. acidophilus* проявяват активност, като диаметъра на зоната варира между 12 и 16 mm. Не бе отчетена никаква активност с неутрализираните супернатанти.

При изследване на коагрегацията, най-висока активност бе регистрирана при *L. fermentum* LLF-01, следвана от *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LLL-14, *L. acidophilus* LLA-01 и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LLB-02.

Заключение: Продукцията на млечна киселина и съпроводеното с това понижаване на pH на средата е основният фактор, определящ антимикробната активност на част от изследваните лактобацили спрямо *C. abicans.* В допълнение, високата коагрегационна активност на четири от щамовете може да бъде основание за включването им в пробиотична формула за преодоляване на състояния на дисбактериоза с участието на *C. albicans*.

Ключови думи: *Lactobacillus, коагрегация, Candida albicans*

27. IN VITRO INHIBITORY ACTIVITY OF LACTOBACILLUS STRAINS AGAINST CANDIDA ALBICANS

L. Yocheva[1], L. Tserovska[1], A. Danguleva-Cholakova[2], E. Karaivanova[2], G. Zhelezova[1], R. Georgieva[2]

[1] Sofia University „St. Kliment Ohridski", Faculty of Medicine, Department of Biology, Medical Genetics and Microbiology
[2] Lactina Ltd, Sofia

Aim: To investigate antimicrobial and coaggregation activity of strains from genus *Lactobacillus* against *Candida albicans.*

Materials and Methods: The study was carried out with sixteen strains of the species *Lactobacillus reuteri*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. HELVETICUS*, *L. SALIVARIUS* and *L. gasseri* from the collection of Lactina Ltd and reference strain *Candida albicans* NBIMCC 74. Standard *in VITRO* methods were used to assess the activity of lactobacilli. The inhibitory activity of the acidic and neutralized (pH ~ 5.50) cell-free supernatant obtained after cultivation in MRS medium and dry skim milk was determined by the agar well diffusion method. The coaggregation of the lactic acid strains with the test microorganism was determined spectrophotometrically.

Results: The study of the antimicrobial activity of acidic supernatants showed that ten lactobacillus strains had inhibitory effect on *C. albicans*. All strains of the species *L. paracasei*, *L. rhamnosus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, as well as *L. plantarum*, *L. fermentum* and *L. acidophilus* exhibited activity, with the diameter of the zone varying between 12 and 16 mm. No activity was observed with the neutralized supernatants.

In a coaggregation study, the highest activity was recorded in *L. fermentum* LLF-01, followed by *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LLL-14, *L. acidophilus* LLA-01 and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LLB-02.

Conclusion: The production of lactic acid accompanied with decreasing of the medium's pH is the major factor determining the antimicrobial activity of a part of the lactobacilli tested against *C. abicans*. In addition, the high coaggregation activity of four of the strains may be a motivation for their inclusion in a probiotic formula to overcome dysbacteriosis with *C. albicans*.

Key words: *Lactobacillus*, coaggregation, *Candida albicans*

28. ЕФЕКТИВНОСТ И ТОКСИКОЛОГИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НА РЕПЕЛЕНТИ СЪДЪРЖАЩИ IR3535

С. Буковска[1], Н. Миткова[1], С. Цолова[2]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести, София, България
[2] Национален център по обществено здраве и анализи, София, България

Етил бутилацетиламинопропионат (IR3535) е сред най-широко използваните активни вещества на репеленти за защита от кръвосму-

28. EFFICACY AND TOXICOLOGICAL PROFILE OF REPELLENTS WITH IR3535

S. Bucovska. [1], N. Mitkova [1], Sv.Tzolova[2]

[1] National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia
[2] National Center of Public Health and Analyses, Sofia

Ethyl butylacetylaminopropionate (IR3535) is among the most widely used active substances of repellents against biting insects and ticks, along with *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET).

чещи насекоми и кърлежи наред с N,N'-диетил-m-толуамид (ДЕТА). За периода 2014–2018 г. в лабораторни условия е изпитана ефективността на 6 продукта, съдържащи IR3535 в различни концентрации (10%, 15% и 20%). Репелентите са тествани срещу комари от вида *Aedes aegypti*. Оценката на ефективността е направена по отношение времето на пълна защита на човек от ухапвания. Получените резултати показват, че IR3535 осигурява защита срещу комари от 3 до 8 часа.

Токсикологичната оценка в рамките на европейската Програма за преглед на активните вещества в състава на биоциди, показва данни за ниска токсичност на IR3535 и приемлив здравен риск за възрастни и деца при употреба на формулация, съдържаща 20% IR3535. Въз основа на оценката са определени ограничения и изисквания с оглед безопасното приложение на репелентите, съдържащи IR3535.

Ключови думи: ефективност, репеленти, IR3535

During a 5-year period (2014–2018) the efficacy of 6 products with different IR3535 concentration (10%, 15%, 20%) was studied under laboratory conditions. The repellents were tested against mosquitoes of the species *Aedes aegypti*. The efficacy was evaluated based on the complete protection time on human skin. The results show that IR3535 provides protection against mosquitoes from 3 to 8 hours.

The toxicological assessment within the EU Review Programme for active substances of biocides, shows evidence of low toxicity of IR3535, and an acceptable health risk for adults and children, treated with a 20% IR3535 formulation. Based on the assessment, a number of requirements and restrictions have been introduced for the safe use of IR3535 repellents.

KEYWORDS: efficacy, repellent, IR3535

29. ОЦЕНКА НА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА КУ-ТРЕСКА В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА 2016 – 2018 Г.: СЕРОЕПИДЕМИОЛОГИЧНО И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ

П. Генова-Калу[1], С. Крумова[1], Т. Велиславова[2], В. Момчева[3]

[1] Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, Отдел „Вирусология";
[2] РЗИ-Габрово, Дирекция „Надзор на Заразните Болести";
[3] РЗИ-Благоевград, Дирекция „Надзор на Заразните Болести"

Интродукция: Заболяването Ку-треска, причинено от инфекциозния агент *Coxiella burnetii* е широко разпространено. През последните години в Европа се отбелязва ръст на тази инфекция и се регистрират значителни по размери епидемични огнища. Поради разнообразния спектър на клинични прояви и неспецифичния характер на симптомите, адекватната диагностика на Ку-треската има решаващо значение за навременното лечение и предотвратяване на хронифицирането ѝ.

Цел: Да се извърши сероепидемиологично и молекулярно-биологично проучване на разпространението на *Coxiella burnetii* в клинични проби на пациенти с различни клинични синдроми за три годишен период (2016 – 2018 г.) чрез комбинация/набор от съвременни лабораторни методи (имуноензимни и PCR техники).

Материали и методи: В периода 2016 – 2018 г. са изследвани 954 клинични проби от амбулаторни и хоспитализирани пациенти с различни клинични синдроми, сред които продължително неясно фебрилно състояние (НФС) (51%), атипична пневмония (32%), различни кардиологични усложнения (27%) и др. Използвани бяха серологични (ELISA за доказване на специфични IgM/IgG ph.II и IgG ph.I антитела спрямо *C. burnetii*) и молекулярни (стандартен конвенционален PCR за *sodB региона и* за плазмида QpH1 на C. *burnetii*) методи.

Резултати: От изследваните човешки серумни проби, първично реактивни IgM ph. II антитела спрямо *C. burnetii* бяха доказани в 97 (10,17%) проби. Защитни C. *burnetii* IgG ph. II антитела, свидетелство за прекарана инфекция, бяха открити в 136 (14,25 %) проби. C. *burnetii* IgG ph. I антитела бяха диагностицирани при 10 (10,3%) пациенти с инфекциозен ендокардит. Всички серумни проби бяха тествани за доказване на C. *burnetii* инфекциозна ДНК. Положителен PCR сигнал (*sodB регион*) беше получен при 90 от тестираните проби (92,8 %), които имаха респективно позитивен анти-C. *burnetii* IgM и IgG ph. II резултат. През

29. ASSESSMENT OF THE DISTRIBUTION OF Q FEVER IN BULGARIA DURING THE PERIOD 2016 – 2018: SEROEPIDEMIOLOGICAL AND MOLECULAR BIOLOGY STUDY

P. Genova-Kalou[1], S. Krumova[1], T. Velislavova[2], V. Momcheva[3]

[1] National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Department of Virology
[2] RHI – Gabrovo, Department of Surveillance of Infectious Diseases
[3] RHI – Blagoevgrad, Department of Surveillance of Infectious Diseases

Introduction: Q fever, caused by infectious agent *Coxiella burnetii* is worldwide spread. In recent years, there has been an increase in this infection in Europe and significant epidemic outbreaks are recorded. Due to the diverse spectrum of clinical manifestations and nonspecific nature of the symptoms, adequate diagnosis of Q fever was crucial for prompt treatment and prevention of chronicity.

Aim: To conduct a seroepidemiological and molecular biology study of the distribution of *Coxiella burnetii* in clinical samples of patients with various clinical syndromes for a three-year period (2016 – 2018) through a combination/set of modern laboratory methods (immunoenzymes and PCR techniques).

Materials and Methods: During the period 2016 – 2018, were examined 954 clinical samples from ambulatory and hospitalized patients with various clinical syndromes, included fever with unknown origin (FUO) (51%), atypical pneumonia (32%), various cardiovascular complications (27%) and others. Serological (ELISA for proving specific IgM/IgG ph. II and IgG ph. I antibodies to *Coxiella burnetii*) and molecular (standard PCR technique for sodB region and *C. burnetii* plasmid QpH1) methods were used.

Results: Of the all serum samples tested, primary reactive IgM ph. II antibodies against *Coxiella burnetii* were demonstrated in 97 (10,17%) samples. Protective *C. burnetii* IgG ph. II antibodies, evidence of past infection, were detected in 136 (14,25%) samples. *C. burnetii* IgG ph. I antibodies were diagnosed in 10 (10,3%) patients with a diagnosis of infective endocarditis. All serum samples were tested for the detection of *C. burnetii* infectious DNA. A positive PCR signal (*sodB* region) was obtained in 90 of the test samples (92,8%), respectively, having positive anti-*C. burnetii* IgM and IgG ph. II result. During the reporting period, two epidemic self-limited outbreaks of Q fever are recorded on the territory of the municipalities Blagoevgrad and Gabrovo.

отчетния период в страната бяха регистрирани два самоограничаващи се епидемични взрива от Ку-треска на територията на общините Благоевград и Габрово.

Заключение: В резултат на натрупания опит в НРЛ „Рикетсии и клетъчни култури" е разработена диагностична схема, включваща комплекс от методи за подобряване на ранната лабораторна диагностика на *C. burnetii,* позволяваща предприемането на навременно и адекватно лечение.

Ключови думи: *Coxiella burnetii*, серология, стандартен PCR метод

Conclusions: As a result of the experience gained in the NRL „Rickettsiae and cell cultures", including a set of methods to improve early laboratory diagnosis of *C. burnetii*, allowing taking proper treatment.

Key words: *Coxiella burnetii*, serology, standard PCR method

30. СЛУЧАИ НА ВНЕСЕНА МАЛАРИЯ В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА 2016–2018Г.

И. Кафтанджиев[1], Р. Харизанов[1], И. Райнова[1], О. Миков[1], Н. Цветкова[1], Е. Кънева[1], Р. Борисова[1], А. Иванова[1], М. Виденова[1]

[1] Национален център по заразни и паразитни заболявания, Отдел „Паразитология и тропическа медицина".

Цел на настоящата разработка е да анализира данните за внесената малария в България за периода 2016–2018г.

Материали и методи. Използвани са данните от епидемиологичните проучвания на регистрираните случаи на малария в страната.

Резултати и обсъждане. За проучвания период в страната са регистрирани общо 43 случая на внесена малария. От тях 28 са регистрирани през 2016г., като 9 са били сред български граждани (при един от тях, завършил летално, се касае за индуцирана – хемотрансфузионна малария, като донора е студент, гражданин на Камерун), 2 случая сред чужди граждани, които не са бежанци и 17 случая на внесена малария са диагностицирани сред бежанци. През 2017г. са регистрирани 8 случая, като от тях 4 са сред български граждани, три сред чужди граждани, които не са бежанци и един случай на бежанец с внесена малария. През 2018г. случаите на внесена малария също са били 8, като 3 от тях са регистрирани сред български граждани, два сред бежанци и 3 сред чужди граждани, които не са бежанци.

Заключение. От 1965г. България е сертифицирана от СЗО, като страна с ликвидирана малария. Въпреки това, подходящите климато-фаунистични условия и нарастващият брой на български граждани пътуващи в еднемични страни, както и увеличения приток в страната на чужди граждани пристигащи от такива, създава потенциална опасност от възобновяване на местното и предаване. Фатално завършилият случай на хемотрансфузионна малария повдига въпроса са осъществяването на по-ефективен надзор и контрол на внасяните заболявания сред българските и чужди граждани, пристигащи от ендемични страни.

Ключови думи: внесена малария, бежанци, чужденци.

30. CASES OF IMPORTED MALARIA IN BULGARIA FOR THE PERIOD 2016–2018

I. Kaftandjiev[1], R. Harizanov[1], I. Raynova[1], O. Mikov[1], N. Tsvetkova[1], E.Kaneva[1], R. Borissova[1], A. Ivanova[1], M.Videnova[1]

[1] National Center for Infectious and Parasitic Diseases, Department of Parasitology and Tropical Medicine

Aim of the study is to analyze the data on malaria in Bulgaria for the period 2016–2018.

Materials and methods. Data from epidemiological survey cards of the recorded in the country malaria cases were used.

Results and discussion. For the survey period, a total of 43 cases of malaria have been recorded in the country. Of these, 28 were registered in 2016, 9 were among Bulgarian citizens (one of them was lethal, it was induced, transmitted via blood transfusion malaria, the donor being a student of Cameroon), 2 cases among foreign citizens who are not refugees and 17 cases of imported malaria were diagnosed among refugees. In 2017 there were 8 cases, of which 4 among Bulgarian citizens, three among foreign citizens who are not refugees and one in a refugee with imported malaria. In 2018 cases of malaria were also 8, 3 of which were registered among Bulgarian citizens, two among refugees and 3 among non-refugee foreigners.

Conclusion. Since 1965 Bulgaria is certified by WHO as a country with eradicated malaria. However, the appropriate climate and fauna conditions and the increasing number of Bulgarian citizens traveling to endemic countries as well as the increased inflows into the country of arriving foreigners arriving from such, creates a potential danger of a resumption of the local malaria transmission. The fatal case of haematransfusion malaria raises the issue of more effective surveillance and control of imported diseases among Bulgarian and foreign citizens arriving from endemic countries.

Key words: imported malaria, refugees, foreigners.

31. НАРАСТВАЩА АНТИБИОТИЧНА УСТОЙЧИВОСТ ПРИ УРОГЕНИТАЛНИ ИЗОЛАТИ ОТ АМБУЛАТОРНИ ПАЦИЕНТИ

М. Цанкова[1], И. Илиев[1], С. Костадинова[1], Л. Илиева[2], М. Мърхова[1]

[1] Катедра „Биохимия и микробиология“, Биологически факултет, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“
[2] СМДЛ „Хронолаб“-Пловдив (по настоящем „Синево“)

Цел: Проведено е едногодишно проучване на лекарствената чувствителност на изолати, асоциирани с инфекции на урогениталния тракт при амбулаторни пациенти на СМДЛ „Хронолаб“-Пловдив.

Материали и методи: От април 2016 до март 2017 са събрани 546 изолата от проби на амбулаторни пациенти с инфекции на урогениталния тракт – 279 щама от урина и 267 от генитален тракт. Тестването на лекарствена чувствителност е проведено съобразно протоколите и препоръките на EUCAST v. 6.1 (2016) и v. 7.1 (2017).

Резултати: Доминиращ етиологичен агент при ИУТ е *E. coli*, следван от *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* и др. Бактериална вагиноза е сред най-често диагностицираните инфекции на репродуктивната система (59%), следвана от вагинална кандидоза (35%). Установена е нарастваща резистентност към флуорохинолони както при при Грам-отрицателни, така и при Грам-положителни щамове – 21% и 20% съответно към левофлоксацин и 21% и 38% към норфлоксацин. Отчетена е 25% устойчивост към нитрофурантоин и 22% към триметорпим/сулфаметоксазол при изолати от ИУТ. Изолиран е пан-резистентен щам *Klebsiella pneumoniae* U-230 от урина на 8-месечно момче.

Заключение: Отчетена е значима резистентност към флуорохинолони и нитрофурантоин, най-вероятно в резултат на увеличена и необоснована употреба. Изолиран и идентифициран е пан-резистентен щам *Klebsiella pneumoniae* от амбулаторен пациент с инфекция на уринарния тракт. Данните показват, че е наложително терапевтичните подходи при неусложнени инфекции на урогениталния тракт, придобити в обществото, да бъдат своевременно съобразени с резултатите от оценката на антибиотичната чувствителност на етиологичните агенти.

Ключови думи: антибиотична чувствителност, пан-резистентност, урогенитален тракт

31. INCREASING ANTIBIOTIC RESISTANCE AMONG UROGENITAL ISOLATES FROM OUTPATIENTS

M. Tsankova[1], I. Iliev[1], S. Kostadinova[1], L. Ilieva[2], M. Marhova[1]

[1] Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Biology, University of Plovdiv
[2] IMDL „Chronolab „-Plovdiv (currently „Sinevo „)

Objectives: A one-year study was carried out to determine the antibiotic susceptibility of urogenital pathogens isolated from outpatients at IMDL „Chronolab „-Plovdiv.

Materials and methods: From April 2016 to March 2017, 546 strains were collected from samples of outpatients with urogenital infections – 279 from urine and 267 from the genital tract. The isolates were tested for antimicrobial susceptibility according to EUCAST v. 6.1 (2016) и v. 7.1 (2017).

Results: The dominant UTI etiological agents were *E. coli*, followed by *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, etc. In the current study, bacterial vaginosis was one of the most frequently diagnosed infections of the reproductive tract (59%), followed by vaginal candidiasis (35%). The tested strains showed increased resistance of the Gram-negative as well as the Gram-positive isolates to fluoroquinolones with 21% and 20% respectively to levofloxacin and 21% and 38% to norfloxacin. A 25% resistance to nitrofurantoin and 22% to trimethoprim/sulfamethoxazole among the UTI isolates was established. Pandrug resistant (PDR) strain *Klebsiella pneumoniae* U-230 was isolated from urine of 8-month-old boy.

Conclusion: Significant resistance to fluoroquinolones and nitrofurantoin was detected as a result of their increased and misuse consumption. PDR stain *Klebsiella pneumoniae* was detected from a UTI outpatient. Our data suggest that the therapeutic approaches to community-acquired uncomplicated urogenital tract infections need to be permanently coordinated with the results of the assessment of the antibiotic susceptibility of the etiological agents.

Key words: antibiotic susceptibility, pandrug resistance, urogenital tract

32. РЪСТ В СЛУЧАИТЕ НА ЗАПАДНОНИЛСКА ТРЕСКА В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2018Г.

Е. Панайотова, И. Христова, И. Трифонова,
Е. Тасева, О. Миков, Т. Гладнишка, В. Иванова

Национален център по заразни и паразитни болести

Въведение: Западнонилската треска (ЗНТ) е предавана с комари зооноза, ендемична за Африка, Азия, Америка и Европа. В Европа комарите от вида *Culex pipiens* са основен вектор на заболяването, което може да протече от безсимптомна до фатална неврологична инфекция. През 2018г в Европа и в България се отчита значително повишаване в случаите на ЗНТ, обусловено от ранното започване на трансмисивния сезон и климатичните условия през годината.

Цел: Целта на проучването е да се анализират епидемиологичните и лабораторни данни от случаите на ЗНТ в България през 2018г.

Материали и методи: През 2018г бяха изследвани 145 клинични проби от пациенти (серум, ликвор, кръв и урина), суспектно болни със ЗНТ. За детекция на специфични антитела беше използван търговски кит ELISA; за доказване на вирусна РНК бяха провеждани конвенционална RT-PCR и real time RT-PCR. РНК на вируса потърсихме и в 1871 комара от вида *Culex pipiens*, събрани през юли и август на 2018 г по поречието на р.Дунав.

Резултати: През 2018г. в България бяха доказани 15 случая на ЗНТ – 8 потвърдени и 7 вероятни, 2 от тях смъртни. Пациентите произхождаха от областите София (4), Бургас (4), Пловдив (3), Пазарджик (1), Шумен (1) и Ямбол (1). РНК на вируса беше открита при 6 от пациентите. Чрез qRT-PCR РНК на вируса на ЗНТ беше за първи път открита и при пет от изследваните пулове комари – от области Плевен и Русе.

Заключение: Увеличеният брой случаи на ЗНТ през 2018г в България, както и наличието на РНК на вируса сред комари говори за засилена циркулация на вируса в страната.

Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект ДН03/15/19.12.2016

32. INCREASE IN WEST NILE VIRUS CASES IN BULGARIA IN 2018

E. Panayotova, I. Christova, I. Trifonova,
E. Taseva, O. Mikov, T. Gladnishka, V. Ivanova

National center of infectious and parasitic diseases

Introduction: West Nile fever is a mosquito-borne zoonosis, which is endemic in Africa, Asia, America and Europe. In Europe, the mosquito species *Culex pipiens* is the main vector for West Nile virus (WNV). The clinical signs of WNV vary from asymptomatic to fatal neurological infection. In 2018 in Europe and Bulgaria there was a significant increase in WNV cases due in part to the unusual early start of WNV season and the favorable climate.

Aim: The aim of this study was to analyze the epidemiological data and laboratory findings of WNV cases in Bulgaria in 2018.

Materials and methods: In 2018 a total of 145 clinical samples (serum, blood, urine, CSF) of suspected patients were tested. We used ELISA method for the detection of specific IgM and IgG antibodies. For the detection of WNV RNA conventional and real-time RT-PCR were performed. Real-time RT-PCR was also used to detect the presence of viral RNA in 1871 *Culex pipiens* mosquitoes. The insects were collected in July and August 2018 along the Danube River.

Results: A total of 15 patients with (WNV) infection were detected in 2018 in Bulgaria: 8 confirmed and 7 probable, with 2 deaths among them. The patients originated from the following districts: Sofia (4), Burgas (4), Plovdiv (3), Pazardzhik (1), Shumen (1) and Yambol (1). Viral RNA was detected in 6 of the patients. For the first time in Bulgaria through qRT-PCR WNV RNA was detected in mosquito pools – in Ruse and Pleven districts.

Conclusion: The increased number of WNV cases in 2018 in Bulgaria, as well as the presence of WNV RNA in mosquitoes, indicate the increased circulation of the virus in the country.

Acknowledgement: This work is supported by research grant ДН03/15/19.12.2016, Bulgarian National Science Fund

33. ПРОМЕНИ В ЕТИОЛОГИЧНАТА СТРУКТУРА НА ЛЕПТОСПИРОЗИТЕ ПРИ ХОРАТА В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОД ОТ 5 ГОДИНИ, 2014–2018 Г.

Е.Тасева, И.Христова, Е. Панайотова, Т. Гладнишка, В. Иванова

Национален Център по Заразни и Паразитни болести, София
Национална референтна лаборатория по предавани с кърлежи инфекции, лептоспири и листерии

ВЪВЕДЕНИЕ: Лептоспирозата е зооантропоноза с природна огнищност. През последните години тя продължава да бъде едно от заболяванията с голяма значимост за общественото здраве и се съобщава като новопоявяваща се инфекция в много страни. В България за периода 2009–2013 г. беше отчетена ниска заболяемост – 0,13/100 000, а средната смъртност беше 0,016%. Настъпилите климатични промени през последните години водят до изменения в биотопите на резервоарите и увеличаване числеността на техните популации. Освен това, зачестилите наводнения и увеличеното количество валежи доведоха до промяна в етилогичната структура на причинителите на лептоспирози при хората.

ЦЕЛ: Целта на проучването е да се анализира етиологичната структура на лептоспирозите за периода 2014–2018 г., да се сравнят резултатите с предходни проучвания и да се установят настъпилите промени в ендемичните региони на страната.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани бяха 724 броя серумни проби от пациенти, суспектни за лептоспироза, събрани от цялата страна. *Приложен бе референтния метод-микроскопския аглутинационен тест. Като антиген бяха използвани щамове от 15 дневни* живи лептоспирни култури, представители на 9 серогрупи, циркулиращи в България.

РЕЗУЛТАТИ: Общо при 73 бр. (10.08%) от изследваните проби бяха доказани антитела срещу *Leptospira interrogans.* Средната заболяемост за проучвания период беше 0.25%, повишена в сравнение с предходни проучвания. Най-висок процент серологично положителни проби бяха доказани през 2014 г. (13.45%), а най-нисък през 2017 г. (4.13%). С най-висок относителен дял в етиологичната структура на лептоспирозите за периода беше серогрупа *Icterohaemorrhagiae* (45.21%), следвана от *Pomona* (26.03%). Най-нисък относителен дял заемаше серогрупа *Autumnalis* (1.37%). Серогрупа *Sejroe* имаше най-висок относителен дял през 2014 г., докато през 2016 г. и 2018 г. такива случаи не бяха доказани. Най-голямо беше многообразието от серогрупи през 2014 г. Ендемични региони бяха областите: София област (11 заболели), Габрово (10), Плевен (6), Шумен (5). В област София водеща роля имаше серогрупа *Icterohaemorrhagiae,* единични случаи бяха регистрирани със серогрупи*: Sejroe* и *BATAVIAE.* В областите Габрово и Плевен най-висок относителен дял имаше серогрупа *Icterohaemorrhagiae,* бяха регистрирани единични случаи със серогрупа *TARASSOVI.* В област Шумен – водеща беше серогрупа *Pomona* и бяха регистрирани единични случаи със серогрупа *Australis.*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Някои лептоспири имат специфичен нозогеографски ареал на разпространение. Познаването на инфектиращата серогрупа при заразяване с лептоспири е важно от епидемиологична гледна точка, за да се прецени кои рискови групи професии с коя серогрупа лептоспири биха могли да се инфектират.

Ключови думи: *лептоспироза,* **серогрупи, етиологична структура**

33. CHANGES IN THE ETIOLOGICAL STRUCTURE OF HUMAN LEPTOSPIROSIS IN BULGARIA FOR A PERIOD OF 5 YEARS, 2014–2018

E. Taseva, I. Christova,, E. Panayotova, T. Gladnishka, V. Ivanova

National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia
National Reference laboratory of tick/vector- borne infections, leptospirosis and listeriosis

INTRODUCTION: Leptospirosis is zooantroponosis with natural focus. In recent years, leptospirosis remains one of important diseasesfor public health, reported as an emerging infection in many countries. In Bulgaria for the period 2009–2013 the morbidity of leptospirosis was significantly lower – 0.13/100 000, and the average mortality was 0.016%. Climate change in recent years has led to changes in biotopes of reservoirs and an increase in their population numbers. In addition, frequent floods and increased rainfall have led to a change in the ethiological structure of human leptospirosis.

OBJECTIVE: The aims of the study was to analyze the etiological structure of leptospirosis for the period 2014–2018, to compare the results with previous studies and to identify changes in the endemic regions of the country.

MATERIALS AND METHODS: A total of 724 serum samples from patients suspected for leptospirosis were collected from the whole country. The reference method – microscopic agglutination test was used. Live strains of leptospira cultures (15 day), belonging to 9 serogroups circulating in Bulgaria, were used as an antigen.

RESULTS: Antibodies against *Leptospira interrogans* were detected in 73 (10.08%) of the samples tested. The mean morbidity for the study period was 0.25%, increased compared to previous studies. The highest percentage of serologically positive samples was detected in 2014 (13.45%), and the lowest in 2017 (4.13%). The highest relative part in the etiological structure of leptospiroses for the period has serogroup *Icterohemorrhagiae* (45.21%), followed by *Pomona* (26.03%). The lowest relative part has serogroup *Autumnalis* (1.37%). Serogroup *Sejroe*had the highest relative part in 2014, whereas in 2016 and 2018 such cases were not detected. The largest variety of serogroups was found in 2014. As endemic regions were identified the following districts: Sofia region (11 patients), Gabrovo (10), Pleven (6), Shumen (5). In the Sofia region, the leading role had a serogroup *Icterohaemorrhagiae*, single cases were registered with serogroups*: Sejroe* and *BATAVIAE*. In the districts of Gabrovo and Pleven – the highest relative part had the serogroup *Icterohemorrhagiae*, single cases were registered with serogroup *TarASSOVI*. In the Shumen region, the serogroup *Pomona* had a leading role and single cases with the serogroup *Australis* were registered.

CONCLUSION: Some *Leptospira* serogroups have specific nosogeografic distribution range. Knowledge of the serogroup *Leptospira*, causing infection is important from an epidemiological point of view in order to assess the risk groups of occupations and with which serogroup *Leptospira* they could be infected.

Key words: *leptospirosis, serogroups, etiological structure*

34. PCR ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ ЗАРАЗЕНОСТТА НА КЪРЛЕЖИТЕ С *BORRELIA BURGDORFERI*, СВАЛЕНИ ОТ ПАЦИЕНТИ ПРЕЗ 2018 ГОДИНА

Т. Гладнишка, Е. Панайотова,
В. Иванова, И. Христова, И. Трифонова, Е. Тасева

НЦЗПБ

Цел: Да се проучи заразеността на кърлежите с *Borrelia burgdorferi*, свалени от пациенти през 2018 г. от различни региони на град София и страната.

Материали/методи: Събрани бяха общо 2347 броя кърлежи, свалени от пациенти от цялата страна и определени до вид. Използвахме nested PCR за доказване на два участъка от спейсърния регион между 5S и 23S на рРНК на *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

Резултати: След определянето на кърлежите установихме, че 2275 броя (над 96%) от тях спадаха към вида *Ixodes ricinus*, 30 броя – *Dermacentor marginatus*, 26 броя – *Rhipicephalus sanguineus,* 8 – *Rhipicephalus bursa и* 8 – *Hyalomma marginatum.* С PCR получихме данни за заразеност от 9,85% (224/2275) средно за страната през 2018 г. Заразеността на кърлежите от София град възлизаше на 9,47% (155/1636) и съответно 10,66% (39/366) на кърлежите от Софийска област.

Заключение: След наблюдаваното повишаване на заразеността на кърлежите през 2017 г. (21%), в сравнение с данните от 2016 г. (16,7%), през изминалата 2018 г. PCR данните показаха намаляване на заразеността, възлизащо на 9,85%. По-нататъшни проучвания, базирани на по-голям брой кърлежи и проследяване на заразеността им през годините ще позволят анализ на тенденциите в заразеността на кърлежите.

Ключови думи: *Borrelia burgdorferi,* PCR, кърлежи

34. PCR STUDY ON INFESTATION WITH *BORRELIA BURGDORFERI* OF TICKS REMOVED FROM PATIENTS IN 2018

T. Gladnishka, E. Panayotova,
V. Ivanova, I. Christova, I. Trifonova, E. Taseva

NCIPD

Aim: To investigate the infestation with *Borrelia burgdorferi* in ticks removed from patients in 2018 from Sofia and regions of the country.

Materials/methods: A total of 2347 ticks were collected and identified. Nested PCR was performed to detect two regions of the spacer region between 5S and 23S of *Borrelia burgdorferi* sensu lato rRNA.

Results: 2275 ticks (over 96%) of the species *Ixodes ricinus* were collected, 30 – *Dermacentor marginatus*, 26 – *Rhipicephalus sanguineus*, 8 – *Rhipicephalus bursa* and 8 – *Hyalomma marginatum*. The overall infestation of ticks in the country was determines as 9,85% (224/2275) in 2018. PCR data for infestation of ticks from Sofia city revealed 9,47% (155/1636) and 10,66% (39/366) for infestation of ticks from Sofia region.

Conclusion: PCR data identified a reduction in tick infestation to 9,85% in 2018. Our previous data showed an increase in infestation in 2017 (21%) as compared with 2016 (16,7%). Obtaining more detailed data on tick infestation by species and stage of development will be the subject of further studies based on a larger number of ticks and tracking of their infestation over the years will allow analysis of the trends in the infestation of the ticks.

Key words: *Borrelia burgdorferi,* PCR, ticks

35. ЕПИДЕМИОЛОГИЧНО ТИПИЗИРАНЕ НА МНОЖЕСТВЕНО – РЕЗИСТЕНТНИ ИЗОЛАТИ *ENTEROBACTER CLOACAE* ОТ КРЪВ НА ПАЦИЕНТИ, ХОСПИТАЛИЗИРАНИ В УМБАЛ „СВЕТА МАРИНА“, ВАРНА

Д. Димитрова[1], Т. Стоева[1], Р. Марковска[2], П. Станкова[2],
К. Михова[3], Р. Кънева[3], М. Божкова[1], В. Каменова[1], И. Митов[2]

[1] Катедра по микробиология и вирусология, Медицински Университет – Варна; УМБАЛ“Света Марина“ – Варна
[2] Катедра по медицинска микробиология, Медицински Университет – София
[3] Център по молекулна медицина, Медицински Университет – София

Цел: да се проучи епидемиологичната свързаност между резистентни на цефалоспорини III-та генерация *Enterobacter cloacae* изолати от кръв, получени от пациенти, хоспитализирани в УМБАЛ „Света Марина“ в периода март 2014 – януари 2017г. и да се охарактеризира продукцията на ESBLs в тези изолати. Материали и методи: проучени са общо 47 недублиращи се изолата *Enterobacter cloacae*, резистентни на III-та генерация цефалоспорини, изолирани от хемокултури на пациенти, хоспитализирани в различни клиники на УМБАЛ „Света Марина“,

35. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MULTIDRUG RESISTANT *ENTEROBACTER CLOACAE* BLOOD ISOLATES, OBTAINED FROM PATIENTS, HOSPITALIZED IN UNIVERSITY HOSPITAL „SAINT MARINA“ – VARNA

D. Dimitrova[1], T. Stoeva[1], R. Markovska[2], P. Stankova[2],
|K. Mihova[3], R. Kaneva[3], M. Bozhkova[1], V. Kamenova[1], I. Mitov[2]

[1] Medical University, Department of Microbiology and Virology, Varna, Bulgaria; University Hospital „Saint Marina“, Varna, Bulgaria
[2] Medical University, Department of Medical Microbiology, Sofia, Bulgaria
[3] Medical University, Molecular Medicine Center, Sofia, Bulgaria

Abstract: Aim: to evaluate the epidemiological relationship between 3rd generation cephalosporin resistant *Enterobacter cloacae* blood isolates collected from patients in the University Hospital in Varna city during the period March 2014 and January 2017 and to characterize the ESBLs production in these isolates. **Materials and methods:** a total of 47 consecutive (nonduplicate) 3rd generation cephalosporin resistant isolates of *Enterobacter cloacae*,

Варна. Чувствителността към набор от антимикробни лекарствени средства е установена чрез дисково-дифузионния метод и автоматизираната система Phoenix (BD), като резултатите са интерпретирани според препоръките на EUCAST 2017. Идентификацията на гени, кодиращи ESBLs е извършена чрез PCR и секвениране. Изолатите са генотипирани посредством ERIC PCR. Резултати: Антибиотичната чувствителност в проучваната група изолати е както следва: meropenem, 100% > amikacin, 97.8% > levofloxacin, 76.6% > trimethoprime/ sulphometoxazole, 40.4% > ciprofloxacin, 19% > gentamicin, 8.4% > cefepime, 4.2% > piperacillin/tazobactam, tobramycin, 2.1%. Множествена резистентност е установена в 70.2%. Най-често доказваната ESBL е CTX-M-15 (95.5%, n=43). Идентифицирани са девет различни ERIC профила. Дендрограмата разкрива три основни клона *E. cloacae*: клон I, състоящ се от два близко свързани субклона (ERIC профил A и Aa) (коефициент на идентичност 0.92), доминиращ в клиниките по Хематология (n=9), Хемодиализа (n=8), КАИЛ (n=6), Кардиохирургия (n=3), Пулмология (n=4) и Гастроентерология (n=1); клон II (ERIC профил C) и клон III са представени от 5 и 3 изолата с идентични профили, изолирани от пациенти, хоспитализирани в различни клиники на болницата. ERIC профили K, L, M и P са установени в единични изолати и са интерпретирани като спорадични. Заключение: множествената резистентност в проучваната колекция от изолати *E. cloacae* от хемокултури се асоциира с вътреболнично дисеминиране на три CTX-M-15 продуциращи клона *E. cloacae*. Клон I е доминиращ и демонстрира висок потенциал за крос-трансмисия, епидемичен и инвазивен потенциал. $Bla_{CTX-M-15}$ е основният механизъм на резистентност към цефалоспорини от III-та генерация в изолати *E. cloacae* от кръв.

Ключови думи: *Enterobacter cloacae,* ESBL гени, епидемиология.

obtained from blood samples of patients admitted in different wards in Varna University Hospital, were investigated. Antimicrobial susceptibility to set of antimicrobial agents was tested by disc diffusion method and Phoenix (BD) and the results were interpreted according to EUCAST guidelines 2017. Identification of ESBL encoding genes was performed by PCR and sequencing. Isolates were genotyped by ERIC PCR. **Results:** The antimicrobial susceptibility in the whole collection of isolates is as follows: meropenem, 100% > amikacin, 97.8% > levofloxacin, 76.6% > trimethoprime/ sulphometoxazole, 40.4% > ciprofloxacin, 19% > gentamicin, 8.4% > cefepime, 4.2% > piperacillin/ tazobactam, tobramycin, 2.1%. Multidrug resistance was detected in 70.2% of the isolates. The most widespread enzyme was CTX-M-15, found in 95.5% (n=43). Nine different ERIC types were detected. The dendrogram of similarity revealed three main clones of *E. cloacae*: Clone I, comprising two closely related subclones (ERIC type A and Aa) (similarity coefficient 0.92), was predominant, detected in Haematology (n=9), Haemodialysis (n=8), ICU (n=6), Cardio surgery (n=3), Pulmonology (n=4) and Gastroenterology (n=1); Clones II (ERIC type C) and III were presented by 5 and 3 isolates with identical profiles, obtained from patients, hospitalized in different wards. The ERIC profiles K, L, M and P were found in single isolates only and were interpreted as sporadic. **Conclusions:** multi-drug resistance in *E. cloacae* was associated with successful intrahospital dissemination of three CTX-M-15 producing *E. cloacae* clones. Clone I was predominant, demonstrating high cross transmission, epidemic and invasive potential. $Bla_{CTX-M-15}$ was identified as a major mechanism of resistance to 3rd generation cephalosporins in *E. cloacae* blood isolates.

Key words: *Enterobacter cloacae,* ESBL genes, epidemiology

36. КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ТЕЖКА КОМБИНИРАНА ВИРУСНА И БАКТЕРИАЛНА ИНФЕКЦИЯ ПРИ ИМУНОКОМПРОМЕТИРАН ПАЦИЕНТ

Й. Калчев[1,2], Г. Ленгерова[1], U. Asif [4], Х. Бурнусузов[3], М. Мурджева[1,2,3]

[1] Катедра Микробиология и имунология, Фармацевтичен факултет, Медицински Университет – Пловдив
[2] Лаборатория по Микробиология, УМБАЛ „Св. Георги" – Пловдив
[3] Лаборатория по клинична имунология, УМБАЛ „Св. Георги" –Пловдив
[4] Студент по медицина, Медицински Факултет, Медицински Университет – Пловдив

Цел: Да се анализира значението на инфекция от *Listeria monocytogenes* при имунокомпрометиран индивид в асоциация със свински грип.

Клиничен случай: Жена на 49 г. постъпва в спешно вътрешно отделение с оплаквания от астеноадинамия и фебрилитет до 38,5° C, след проведена полихимиотерапия (escBEACOPP) по повод имунохистохимично верифициран Ходжкинов лимфом (смесен целуларитет) MC IV B. Пациентката е хоспитализирана, но става унесена и неконтактна, а по-късно психомоторно възбудена. През следващите дни е със силно изразен токсо-инфекциозен синдром с трудно повлияващ се фебрилитет. Наблюдава се прогресиращ ход на влошаване на общомозъчната симптоматика до кома. Въпреки бързата микробиологична диагностика и

36. CASE REPORT OF A SEVERE COMBINED VIRAL AND BACTERIAL INFECTION IN AN IMMUNOCOMPROMISED INDIVIDUAL

Y. Kalchev[1,2], G. Lengerova[1], U. Asif[4], H. Burnusuzov[3], M. Murdjeva[1,2,3]

[1] Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Plovdiv, Bulgaria
[2] Laboratory of Microbiology, St. George University Hospital, Plovdiv, Bulgaria
[3] Laboratory of Immunology, St. George University Hospital, Plovdiv, Bulgaria
[4] Medical student, Faculty of Medicine, Medical University – Plovdiv, Bulgaria

Aim: To analyze the importance of *Listeria monocytogenes* infection in association with swine flu in an immunocompromised individual.

Case presentation: A 49-year-old woman was presented to the Emergency department with complaints of asthenoadynamia and fever up to 38,5°C. This was after receiving polychemotherapy (escBEACOPP) due to Hodgkin lymphoma MC IV B (mixed cellularity subtype) verified by immunohistochemistry. She was admitted to the hospital where she was initially sleepy and unresponsive and this was followed by phsychomotor agitation. Over the next few days she developed a severe toxoinfectious syndrome and resistant fever. The impaired responsiveness gradually increased to coma. Despite the rapid microbiological diagnosis and the initiated antimicrobial therapy (ampicillin/sulbactam, vancomycin, meropenem and oseltamivir) she died because of acute circulatory and respiratory failure.

приложената антимикробна терапия (ампицилин/сулбактам, ванкомицин, меропенем, озелтамивир) се регистрира летален изход с картината на остра сърдечно-съдова и дихателна недостатъчност.

Резултати: Проведените лабораторни тестове установяват тежка апластична анемияи повишени стойности на CRP. При изследването на ликвор се откриват данни за плеоцитоза, с преобладаване на сегментоядрените левкоцити, хиперпротеинорахия и хипогликорахия. С мултиплексен PCR са извършени микробиологични изследвания на гърлен секрет, цереброспинална течност и кръв. Доказани са *Influenza A H1 (2009)* и *Influenza A H3* вируси от фарингеален секрет, а от ликвор и кръв – *Listeria monocytogenes,* която се изолира и идентифицира и чрез рутинни микробиологични методи. Бактерият показа чувствителност към всички антибиотици, препоръчвани за терапия от EUCAST 2019 – ампицилин, еритромицин, меропенем и еритромицин. Окончателна диагноза –листериозен сепсис с листериозен менинго-енцефалит, грип и Ходжкинов лимфом.

Заключение. Представеният клиничен случайследва да насочи вниманието към широкия спектър инфекции, наблюдаващи се при имунокомпрометирани лица, и необходимостта от тяхната бърза, точна и комплексна микробиологична диагноза.

Ключови думи: *Listeria monocytogenes, Influenza* A *VIRUS*, имуносупресия

Results: The laboratory tests conducted demonstrated severe aplastic anemia and elevated CRP. Cerebrospinal fluid (CSF) evaluations showed pleocytosis with neutrophil predominance, hyperproteinorachia and hypoglycorrhachia. Multiplex PCR was used for microbiological assessment of throat swab, CSF and blood. Two types of viruses have been detected – *Influenza A H1 (2009)* and *Influenza A H3* from the pharyngeal swab and *Listeria monocytogenes* from the CSF and blood samples. The latter was also identified by conventional microbiological methods. The bacterium showed sensitivity to all recommended by EUCAST 2019 antibiotics –ampicillin, benzylpenicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, meropenem and erythromycin. Final diagnosis –*Listeria monocytogenes* sepsis with listerial meningo-encephalitis, flu and Hodgkin lymphoma.

Conclusion: The presented case report should draw attention to the wide spectrum of infections that could be observed in immunocompromised individuals and emphasize the role of rapid, accurate and complex microbiological diagnosis.

Key word: *Listeria monocytogenes, Influenza* A *VIRUS*, immunosupression

37. A CASE REPORT: ИНФЕКЦИЯ С *OLIGELLA UREOLYTIKA* ПРИ ПАЦИЕНТ С ОСТРА В ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ СЛЕД ТРАНСПЛАНТАЦИЯ

М. Борисова, Е. Попова, Е. Георгиева, Б. Минева, К. Влахова, Д. Илин

СБАЛХЗ ЕАД, гр. София

От гърлен секрет и хемокултура на пациент с диагноза остра В лимфобластна левкемия бе изолиран *Oligella ureolytika*. Пациентката е на 59 години, след алогенна трансплантация от хаплоиден донор. Профилът на пациентасъвпадас описаните в литературатаслучаи на *Oligella* инфекции: пациенти с основно злокачествено заболяване или с обструкции на пикочните пътища.

Микробният вид бе доказан от VITEK 2, а антибиотичната чувствителност бе тествана с дисково дифузния метод на Бауер-Кърби

Въпреки че *Oligella ureolytika* се счита за коменсал на урогениталния тракт, са описани малко случаи, в които този микроорганизъм е причина за инфекция. Многократното му изолиране в чиста култура от гърло, както и положителната хемокултура недвусмислено говори, че в този случай той е етиологичният агент. Бързото му повлияване от антибиотичното лечение подсказва, че микроорганизмът е ниска патогенност и вирулентност и най-вероятно се касае за ендогенно инфектиране.

Възможно е, това да е първият описан случаи на изолат на *Oligella ureolytika* от гърло.

Ключови думи: *Oligella ureolytika,* левкемия, трансплантация

37. A CASE REPORT: *OLIGELLA UREOLYTIKA* INFECTION IN A B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA PATIENT AFTER TRANSPLANTATION

M. Borisova, E. Popova, E. Georgieva, B. Mineva, K. Vlahova, D. Ilin

National Hospital of Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

Oligella ureolytika was isolated from throat and blood cultures from a B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia patient. The patient is after a haploidentical allogeneic transplantation and is 59 years old. The patient's profile corresponds to *Oligella* infection cases described in the literature: patients with a malignant disease or with urinary tract obstructions.

The type of bacteria was detected by VITEK 2 and the antibiotic sensitivity was tested by Kirby-Bauer disk diffusion.

Although *Oligella ureolytika* is regarded as a urogenital tract commensal, it is described in a small number of cases that the infection was caused by this microorganism. Its numerous isolation as a pure throat culture and its positive blood culture is clear evidence that it is the etiological agent. Its quick reaction to the antibiotic treatment suggests its low pathogenicity and virulence. High probability for an endogenous infection.

This could be the first case for *Oligella ureolytika* isolation from throat culture.

Key words: *Oligella ureolytika,* leukemia, transplantation

38. ПРОУЧВАНЕ НА ВЛИЯНИЕТО НА БЕЛТЪЧНОТО НАТОВАРВАНЕ НА СРЕДАТА ВЪРХУ UVC ДЕЗИНФЕКЦИЯТА В ПРАКТИКАТА

М. Николова[1]., С. Йорданова[1], Е. Алексов[1]

[1] Национален център по заразни и паразитни болести

В литературата съществуват данни за намаляване ефективността на UVC дезинфекцията при високо белтъчно натоварване на средата. Поради широката употреба на бактерицидни лампи в медицинската практика се проучи влиянието на органичното замърсяване върху крайния ефект от коректно проведеното облъчване с бактерицидни лампи. Изпитванията са проведени в лабораторни условия с два референтни тест-щама – *Enterococcus hirae* и *Candida albicans*. Облъчването е проведено с 30W бактерицидна лампа за 15 и 20 минути. Разликата в отчетената редукция на двата тест-щама, постигната под действието на различен UVC интензитет в условия на ниско и високо белтъчно натоварване на средата не е статистически значима.

Ключови думи: УВ, дезинфекция, бактерицидни лампи, белтъчно натоварване

38. IMPACT OF A PROTEIN LOAD ON THE EFFECTIVENESS OF UVC DISINFECTION CONDUCTED UNDER PRACTICAL CONDITIONS BY BACTERICIDAL LAMPS

M. Nikolova M.[1], S. Yordanova[1], E. Alexov

[1] National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

Some studies have explored that high protein load in the environment reduces the effectiveness of UV disinfection in healthcare facility. In the laboratory was established the impact of a bovine albumin on the effectiveness of UV disinfection performed with bactericidal lamps. Tests were conducted with two reference strains – *Enterococcus hirae* and *Candida albicans*. Irradiation was carried out with a bactericidal lamp 30W for 15 and 20 minutes. The results show that the effectiveness of correctly carried out UV disinfection under practical conditions is not affected by high protein load.

Keywords: UV, disinfection, bactericidal lamps, high protein load

39. ИМУНОЛОГИЧЕН СТАТУС НА HIV+ ЛИЦА, ДИАГНОСТИЦИРАНИ ПРЕЗ 2018 ГОДИНА

Р. Емилова[1], Я. Тодорова[1], Н. Янчева[2], И. Еленков[2], И. Алексиев[3], Р. Димитрова[3], М. Николова[1]

[1] НРЛ по имунология, Национален център по заразни и паразитни болести, София
[2] СБАЛИПБ „проф. Иван Киров“, София
[3] НРЛ по ХИВ, Национален център по заразни и паразитни болести, София

Въведение. Своевременното започване на антиретровирусната терапия (АРТ) е условие за бързо потискане на HIV-репликацията, ограничаване размерите на вирусния резервоар, съхраняване на клетъчния имунитет и намаляване на риска от предаване на инфекцията. Съгласно актуалните европейски и национални стандарти, АРТ трябва да стартира възможно най-бързо след потвърждаване на диагнозата, независимо от абсолютния брой на CD4 лимфоцитите (CD4 AC).

Цел. Да се оцени обхващането с имунологичен мониторинг и терапия на HIV+ лица, диагностицирани през 2018г.

Материал и методи. Ретроспективен анализ на данни от имунологичния мониторинг, осъществяван в НРЛИ, НЦЗПБ. CD4AC е определен флоуцитометрично посредством 4- color Multitest, TRUCount, (FACSCanto II, BD).

Резултати. От новооткритите през 2018г. 311 HIV+ лица 301 имат имунологичен статус при поставяне на диагнозата. (97% срещу 94% и 80% през 2017 и 2016г., p<0.001) CD4 AC е билсредно 339 клетки/µl, като делът на HIV+ лица с CD4 AC > 350 е 43% (56% през 2017г., p<0.05), а лицата с CD4 AC <200 са 33% (27% през 2017г., p<0.05). През 2018г. времето от поставяне на диагнозата до регистрирането в лечебни заведения (ЛЗ) е средно (мин.-макс.) 23(1–110) дни в сравнение с 25 (4–25) през 2017г. (p>0.05). Делът на регистрираните в ЛЗ до

39. IMMUNOLOGICAL STATUS OF PERSONS NEWLY DIAGNOSED WITH HIV IN 2018

R. Emilova[1], Y. Todorova[1], N. Yancheva[2], I. Elenkov[2], I. Aleksiev[3], R. Dimitrova[3], M. Nikolova[1]

[1] NRL on Immunology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia
[2] SBALIPP „Prof. Ivan Kirov „, Sofia
[3] NRL on HIV, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

Introduction. Timely initiation of antiretroviral therapy (ART) is a prerequisite for rapidly suppressing HIV-replication, limiting the size of the viral reservoir, preserving cellular immunity and reducing the risk of transmission of the infection. According to current European and National standards, ART should be started as soon as possible after confirmation of the diagnosis, regardless of the absolute number of CD4 lymphocytes (CD4 AC).

Aim. To evaluate the coverage with immunological monitoring and therapy of HIV + persons diagnosed in 2018.

Material and methods. Retrospective analysis of data from immunological monitoring performed in NRLI, NCIPD. CD4AC were determined by flow cytometry using the 4-color Multitest, TRUCount, (FACSCanto II, BD).

Results. In 2018 out of 311 HIV + persons, 301 have immunological status when were diagnosed (97% vs. 94% and 80% in 2017 and 2016, p<0.001), an average CD4 AC was 339 cells / µl, as the share of HIV + persons with CD4 AC> 350 was 43% <0.05), whereas with CD4 AC <200 were 33% (27% in 2017, p <0.05). In 2018 the time from diagnosis to registration in medical facilities (MF) is average (min-max) 23 (1–110) days compared to 25 (4–25) in 2017 (p> 0.05). The share of those registered in the MF until the 30th day of diagnosis was 62%, and up to 60 days – 73%, with no significant change compared to 2017. When registered in the MF the share of HIV + persons with

30ден от поставяне на дианозата е 62%, а до 60 ден – 73%, като не се отчита съществена промяна в сравнение с 2017г. Делът на HIV+ пациенти с CD4 AC <200 при регистриране в ЛЗ и при започване на АРТ през 2018 г. е бил съответно 36% и 32% (срещу 26% и 27%, съответно, през 2017 г., p<0.05).

Изводи. През последната година се запазва положителната тенденция за своевременна оценка на имунологичния статус и своевременно обхващане на новооткритите HIV+ лица със здравни грижи. Независимо от това, все още значителен процент от инфектираните се откриват в състояние на напреднал имунен дефицит.

Ключови думи: HIV, АРТ, имунологичен мониторинг

CD4 AC <200 and at start of ART in 2018 were 36% and 32% (versus 26% and 27%, respectively, in 2017, p <0.05).

Conclusions. Over the past year, the positive trend for a timely assessment of the immunological status and timely coverage of newly identified HIV + people with health care has been maintained. Nevertheless, still a significant percentage of the infected are found in a state of advanced immune deficiency.

Key words: HIV, ART, immunological monitoring

40. БЕЗСИМПТОМНО ПРОТИЧАЩИ ПАРАЗИТОЗИ ОТКРИТИ ПРИ ЗАДЪЛЖИТЕЛНИ ПРОФИЛАКТИЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

Д. Йорданова, И. Биков, Р. Михайлов

Самостоятелна медико диагностична лаборатория „Рамус“ ООД, София

В страната се извършват значителен брой регламентирани профилактични изследвания за паразитози, както сред децата така и сред възрастното население. Целта на настоящето проучване е да покаже кои паразитози се срещат най-често при профилактични изследвания, техния екстензитет и разпространение.Използвани са първичните данни от профилактични изследвания в СМДЛ „Рамус“ ООД за пет годишен период (2014–2018г). Приложени са нативни, обогатителни и имунохроматографски методи, както и статистически за обработка на информацията. Извършени са профилактични изследвания на 134 329 лица и са открити 1328 положителни (1%) за ентеробиоза, ламблиоза, бластоцистоза, аскаридоза, хименолепидоза и криптоспорийдоза. Най-висок относителен дял има ентеробиозата 79,59% (n=1057), ламблиозата 17,62% (n=234), бластоцистозата 1,81% (n=24), аскаридозата 0,53% (n=7), хименолепидозата 0,45% (n=6). Открити са и смесени инвазии хименолепидоза и ламблиоза, както и аскаридоза и ентеробиоза 0,15% (n=2). Ентеробиозата е по-честа сред децата и юнощите от 0 до 19г. 91,36% (n=963) и по-малко сред възрастните от 20 до 69г. 8,89% (n=94). Динамиката на това заболяване показва нарастване през последните 5 години. За разлика от ентеробиозата, ламблиозата се среща по-често сред възрастното население 74,36% (n=174). Аскаридозата и хименолепидозата се срещат по-скоро като случайна находка в профилактичните изследвания. Смесените паразитози са открити в едно населено място с компактно ромско население. Всички открити паразитози са лекувани и са със последващи контролни изследвания. Проучването показа, че в 1% от профилактичните изследвания се откриват безсимптомно протичащи паразитози. Най- голям относителен дял имат контактните паразитози ентеробиоза при децата (91,36%) и ламблиоза сред възрастното население (74,36%) при профилактични изследвания за постъпване в ДГ и ДЯ, както и за постъпващи на работа в хранителни заведения.

Ключови думи: паразитози, профилактични изследвания

40. ASYMPTOMATIC PARASITIC DISEASES FOUND DURING PROPHYLACTIC MEDICAL EXAMS

D. Jordanova, I.Bikov, R. Mihaylov

Independent medico-diagnostic laboratory „Ramus“ LTD, Sofia

A substantial number of required prophylactic examinations among children and adults for parasitic diseases are performed in the country. Aim of our study is to establish which parasitic diseases are most often diagnosed during prophylactic medical examinations. Data used in the research were collected in 'Ramus' laboratory during 5 year period (2014–2018). Parasitological methods as examination of wet smear, sample concentration techniques, immunologic and immuno-chromatographic tests were applied. Collected data were processed with descriptive statistics. Prophylactic examinations were performed on 134 329 individuals and 1328 of them have been diagnosed as positive (1%). Of the positive with enterobiosis were diagnosed 79,59% (n=1057), with giardiasis 17,62% (n=234), with blastocystosis 1,81% (n=24), with ascaridosis 0,53% (n=7) and with hymenolepidosis 0,45% (n=6). Mixed invasions, hymenolepiasis with giardiasis and ascariasis with enterobiosis were found in two patients (0,15%). Pinworm infection was diagnosed more often among children and adolescents between 0 and 19 years old (91,36%) (n=963) and less commonly among adults from 20 to 69 years old (8,89%) (n=94). Data suggest increase in the incidence of enterobiasis for the past 5 years. In comparison to it, giardiasis more often was found among adults 74,36% (n=174). Ascaridosis and hymenolepidosis were rarely diagnosed and can be defined as sporadic cases. The two mixed infections were diagnosed in one location inhabited by a compact group of roma ethnic origin. All diagnosed cases received treatment and the patients were assigned for follow-up medical examinations. Our research displays that during prophylactic examinations in 1% of the patients were found parasitic diseases with otherwise covert clinical symptoms. With highest incidence were community acquired infections such as enterobiasis among children (91.36%) and giardiasis among adults (74.36%). Most of the medical prophylactic exams were performed as a routine procedure before admission to a kindergarten or before admission to a job in the food or health industries.

Key words: parasitosis, prophylactic exams

41. ПРОУЧВАНЕ НА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА ТОКСОКАРОЗАТА СРЕД ЛИЦА, ИЗВЪРШВАЩИ ПРОФЕСИОНАЛНИ ДЕЙНОСТИ, СВЪРЗАНИ С ГОРИТЕ В БЪЛГАРИЯ (ПЪРВОНАЧАЛНИ ДАННИ)

Е. Кънева[1], Г. Николов[1], Я. Кандова[2]

[1] НЦЗПБ, София
[2] Бул Био – НЦЗПБ, София

Токсокарозата е паразитно заболяване, причинявано от миграцията и локализацията на животински нематодни ларви – основно на *Toxocara canis* и *T. cati* в органите и тъканите на човека. Основният начин на заразяване е поглъщането на инвазиоспособни яйца от контаминирани източници – почви, води, зеленчуци и плодове. Значение за разпространението на токсокарозата при хората имат условията на околната среда, опаразитеността на животните (домашни и диви), както и някои социално-икономически фактори – образование, начин и условия на живот.

Проучванията по отношение на рискови за заболяването групи в България са ограничени. Малко се знае и за инвазираността на дивите животни. Ето защо цел на нашето изследване е да проучим разпространението на токсокарозата сред лица, извършващи професионални дейности, свързани с горите в България.

Използвани са серумни проби от 33 лица – 8 служители на Институт за гората – БАН, 16 работещи като дървосекачи (6 от гр. Мъглиж и 10 от с. Поибрене) и 9 работници в горски разсадник в гр. Пловдив, предоставени ни от кабинета по Алергия към Националната Референтна лаборатория по имунология, където предварително са изследвани за специфична алергична сенсибилизация. Изследването за токсокароза е извършено със серологични методи – ELISA IgG и W. blot.

Резултатите показаха висока серопозитивност за токсокароза на изследваните лица в ELISA – 11 (33.3%), и също толкова в потвърдителния метод Western blot – 11 (33.3%). Подгрупите на дървосекачите и работниците в горски разсадник показаха висока серопревалентност – съответно 45% и 44.4%, което определя техните професии като рискови за тази паразитоза. Изследваните служители на Института по гората бяха с отрицателен резултат.

Проучванията по отношение разпространението на токсокарозата допълват съществуващите данни в нашата страна и имат значение за определяне на рисковите фактори и условията на трансмисия на това заболяване.

Ключови думи: токсокароза, серопозитивност, ELISA, W. blot.

41. STUDY ON THE PREVALENCE OF TOXOCARIASIS AMONG PERSONS ENGAGED IN FORESTRY ACTIVITIES IN BULGARIA (INITIAL DATA)

E. Kaneva[1], G. Nikolov[1], Y. Kandova[2]

[1] NCIPD, Sofia
[2] BIO BIO – NCIPD, Sofia

Toxocariasis is a parasitic disease caused by migration and localization of animal nematode larvae – mainly *Toxocara canis* and *T. cati* in human organs and tissues. Main way of infection is through ingestion of invasive eggs from contaminated sources – soils, water, vegetables and fruits. The spread of toxocariasis among humans depends on environmental conditions, the presence of parasites in animals (domestic and wild), and some socio-economic factors – education, personal habits and living conditions.

Studies on the groups at risk in Bulgaria are limited. Little is known about the invasion of wildlife. **Aim** of our research is to investigate the prevalence of Toxocariasis among persons engaged in professional forestry activities in Bulgaria.

Serum samples of 33 persons were used – 8 employees of the Forest Research Institute – BAS, 16 working as woodcutters (6 from Maglij and 10 from Poibrene) and 9 workers in a forest seed plot in Plovdiv, provided to us by the Allergy Cabinet at the National Reference Laboratory of Immunology, where they were first tested for specific allergic sensitization. *Toxocara* – investigation was performed with serological methods – ELISA IgG and Western blot.

The results showed a high *Toxocara*- seropositivity for the subjects tested in ELISA – 11 (33.3%), and in Western blot confirmation method 11 (33.3%). Subgroups of woodcutters and workers in a forest seed plot showed high seroprevalence for Toxocariasis – 45% and 44.4%, respectively, which determines their professions as being at risk for this parasitic disease. The surveyed employees of the Forest Research Institute had a negative result.

Research on the prevalence of Toxocariasis complements existing data in our country and is important for determining the risk factors and transmission conditions of the disease.

Key words: Toxocariasis, seropositivity, ELISA, W. blot.

42. ТЕНИАРИНХОЗАТА В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА 2008 – 2017 ГОДИНА

М. Виденова[1], Н. Цветкова[1], Р. Борисова[1], И. Райнова[1], Р. Харизанов[1], А. Иванова[1]

[1] Отдел Паразитология и тропическа медицина, Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София

Цел на настоящото проучване е да се анализира динамиката на разпространението на тениаринхозата (тениидоза с причинител *Taeniarhynchus saginatus*) сред населението на България, за периода от 2008 – 2017 година.

42. TAENIARHYNCHOSIS IN BULGARIA FOR THE PERIOD 2008 – 2017

M. Videnova[1], N. Tsvetkova[1], R. Borissova[1], I.Raynova[1], R. Harizanov[1], A. Ivanova[1]

[1] Department of Parasitology and Tropical Medicine, National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia

The aim of the present study is to analyze the dynamics of the distribution of taeniarhynchosis (caused by *Taeniarhynchus saginatus*) among the population of Bulgaria for the period 2008–2017.

Материали и методи. Анализът е изготвен на базата на лабораторни и клинични данни за диагностицирани и лекувани пациенти с тениаринхоза в ОПТМ към НЦЗПБ, както и на данни от епидемиологични проучвания на потвърдени случаи, извършвани от РЗИ, съгласно с действащата нормативна уредба в страната.

Резултати. За проучвания от нас период, случаи на тениаринхоза са установени на територията на 21 области на страната, при 215 лица. Трите области с най-голям брой регистрирани случаи в рамките на целия период са Шумен -14%, Пловдив-14% и Пазарджик-7%. Годишната заболяемост варира от 0.63 $‰_{000}$ (2008 г.) до 0.23 $‰_{000}$ (2017 г.), като средната заболяемост за проучвания период за страната е 0,37$‰_{000}$. Заболяването превалира сред лицата от женски пол (55.3%), а разпределението по възраст показва значително по-високо засягане на възрастните (83.3%) спрямо групата на децата и подрастващите (16.7%). Най засегнати са възрастовите групи 35–39 г. (13.49%) и 55–59 г. (13.02%). Опаразитените лица с различен от българския етнически произход представляват 54%.

Заключение. Данните от нашето проучване показват, че макар и спорадично случаи на тениаринхоза се регистрират ежегодно в страната. Тяхното разпространение е най-високо в региони с добре развито частно животновъдство и висок относителен дял на кланничен месодобив в домашни условия и без ветеринарно-медицински контрол на добитото месо. За ендемичното разпространение на тениаринхозата в страната способстват основно недобрите здравни познания на населението, способстващи контаминацията на околната среда с човешки екскременти и възможност за заразяване на междинните гостоприемници, консумацията на недобре термично обработени местни продукти, произведени в домашни условия и пропуски във ветеринарно-медицинския контрол.

Ключови думи. тениаринхоза; заболяемост; ендемичност

Materials and methods. The analysis is based on laboratory and clinical data for diagnosed and treated patients with taeniarhynchosis in OPTM at the NCIPD, as well as data from epidemiological studies carried out by RHIs in accordance with the current legislation in the country.

Results. For the studied period, cases of human taeniarhynchosis have been established in the territory of 21 regions of the country, with 215 diseased persons. The three areas with the highest number of reported cases during the whole period was Shumen – 14%, Plovdiv – 14% and Pazardzhik – 7%. Annual morbidity ranges from 0.63 per 100,000 (2008) to 0.23 per 100,000 (2017), with the average morbidity for the surveyed period at 0,37$‰_{000}$. The prevalence was higher among female subjects (55.3%), and the distribution by age showed a significantly higher incidence of elderly (83.3%) compared to the group of children and adolescents (16.7%). Most affected were the age groups 35–39 (13.49%) and 55–59 (13.02%) years. Patients of different ethnic origin from the Bulgarian one represent 54%.

Conclusion. Data from our study show that even sporadic cases of taeniarhynchosis are reported annually in the country. Their distribution is highest in regions with well-developed private livestock farming and a high relative share of slaughter meat production at home and without veterinary control of the meat. Poor health knowledge of the population contribute to environmental contamination with human excrement and possibility for infection of intermediate hosts, consumption of uncooked domestically home-made products and omissions in veterinary health control mainly contribute to the endemic spread of taeniarhynchosis in country.

Keywords. taeniarhynchosis; morbidity; endemicity

43. КОАГУЛАЗА-НЕГАТИВНИ СТАФИЛОКОКИ ВЪВ ВЛАГАЛИЩЕТО – КОЛОНИЗАЦИЯ ИЛИ ИНФЕКЦИЯ?

Т. Дерменджиев[1,2], Р. Райчева [3], З. Рачковска[2], М. Мурджева[1,2]

[1] Катедра по Микробиология и Имунология, Фармацевтичен факултет, Медицински Университет, Пловдив
[2] Лаборатория по Микробиология, Вирусология и Имунология, УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, България
[3] Катедра по Социална медицина и обществено здраве, Факултет по Обществено здраве, Медицински Университет Пловдив

Цел: Да се проучи видовия състав на коагулаза-негативните стафилококи изолирани от влагалищни секрети и връзката им с влагалищната инфекция.

Материал и методи: Проучват се 91 влагалищни секрети от 65 бременни и 26 небременни жени, пациентки на Клиниката по Акушерство и гинекология към УМБАЛ „Св.Георги“, Пловдив. Използват се автоматизирани (MALDI-TOF MS) и конвенционални микробиологични методи за идентификация, както и скорови системи за диагностика на инфекциозните вагинити.

Резултати: От коагулаза-негативните стафилококи, най-често се изолират *Staphylococcus haemolyticus* – 55(60.44%), *Staphylococcus epidermidis* – 27(29.67%) и *Staphylococcus hominis* 5(5.49%). Данни за леко и умерено изразен аеробен вагинит се установяват при 37(40.66%) от

43. COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI IN THE VAGINA – COLONIZATION OR INFECTION?

T. Dermendzhiev[1,2], R. Raycheva[3], Z. Rachkovska[2], M. Murdjeva[1,2]

[1] Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv
[2] Laboratory of Microbiology, Virology and Immunology, UMHAT „St. George“, Plovdiv, Bulgaria
[3] Department of Social Medicine and Public Health, Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

Objective: To study the composition of coagulase-negative staphylococci isolated from vaginal swabs and their association with vaginal infection.

Material and Methods: We have taken 91 vaginal swabs from 65 pregnant women and 26 non-pregnant women, patients of the Obstetrics and Gynecology Clinic of UMHAT „St. George“, Plovdiv. Automated (MALDI-TOF MS) and conventional microbiological identification methods, as well as score diagnostic systems for infectious vaginitis were used.

Results: The most often isolated from the coagulase-negative staphylococci were *Staphylococcus haemolyticus* – 55 (60.44%), *Staphylococcus epidermidis* – 27 (29.67%) and *Staphylococcus hominis* 5 (5.49%). Data on mild and moderate aerobic vaginitis were found in 37 (40.66%) of the subjects surveyed. In 24 (64.86%) of women with aerobic vaginitis, the condition was associated with a massive presence of *Staphylococcus haemolyticus* in the

изследваните. При 24(64.86%) от жените с аеробен вагинит, състоянието се асоциира с масивно присъствие на *Staphylococcus haemolyticus* във влагалищния секрет. Всички щамове *Staphylococcus haemolyticus* се изолират от влагалищните секрети на бременни.

Заключение: От коагулаза-негативните стафилококи *Staphylococcus haemolyticus* се изолира най-често от влагалищния секрет, както на здрави бременни, така и от бременни жени сданни за аеробен вагинит.

Ключови думи: коагулаза-негативни стафилококи, влагалищен секрет, аеробен вагинит.

vaginal swab. All strains of *Staphylococcus haemolyticus* are isolated from pregnant vaginal swabs.

Conclusion: From the coagulase-negative staphylococci *Staphylococcus haemolyticus* is most often isolated from the vaginal swabs of both healthy pregnant women and pregnant women with aerobic vaginitis.

Key words: coagulase-negative staphylococci, vaginal swabs, aerobic vaginitis

44. ВЪЗМОЖНОСТИ НА МУЛТИПЛЕКСЕН PCR В БЪРЗАТА ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ПАТОГЕНИ ОТ ХЕМОКУЛТУРИ

Г. Ленгерова [1], В. Кирина [1,2], Е. Христова [3]
М. Петров [1], М. Мурджева [1,2]

[1] Катедра Микробиология и имунология, Фармацевтичен факултет, Медицински университет – Пловдив;
[2] Лаборатория по Микробиология при УМБАЛ „Св. Георги“– Пловдив;
[3] Катедра Социална медицина и обществено здраве, Факултет по Обществено здраве, Медицински университет – Пловдив

Въведение: Идентификацията на микроорганизмите от положителни хемокултури с рутинни методи отнема време и това може да доведе до неадекватна начална терапия, развитие на антибиотична резистентност, удължен болничен престой, увеличаване на медицинските разходи и до понижаване преживяемостта на пациентите.

Цел: Да се проучат възможностите на мултиплексен PCR (mPCR) за детекция на бактериални патогени и откриване на гени за резистентност, директно от положителни хемокултури в рамките на 70 минути.

Материали и методи: С помощта на мултиплексен PCR (FilmArray, Biomerieux, France) бяха изследвани 59 позитивирали хемокултури от автоматизирана система BactAlert. Получените материали бяха от хоспитализирани пациенти с клинични и лабораторни данни за септично състояние. Резултатите бяха сравнени с рутинни биохимични методи, полуавтоматизирани и автоматизирани системи за микробна идентификация. Антибиотичната чувствителност се определяше чрез дисково-дифузионния метод на Бауер-Кърби и с MIC чрез автоматизираната система VITEK-2 Compact. Статистическата обработка на данните включваше дескриптивна статистика, непараметрични тестове за проверка на хипотезата, статистически пакет SPSS (версия19) и Microsoft Excel.

Резултати: При 84,7% от изследваните с mPCR положителни хемокултури резултатите се потвърдиха с класическите методи за идентификация. В останалите 15,3% не се установиха микроорганизми с mPCR, тъй като те не са включени в спектъра на теста. Сред доказаните етиологични агенти с mPCR Грам-положителните (40,4%) доминират над Грам-отрицателните (40,3 %), следвани от *Candida spp.* (19.3 %). Асоциирани кръвни инфекции се установиха в 11.9%. В шест от случаите (10.2%) с mPCR бързо бяха доказани гени, кодиращи резистентност към антибиотици (KPC, mec/A, vanA/B), които се потвърдиха и чрез използваните стандартни методи за определяне на антибиотична чувствителност.

Заключение: FilmArray Blood culture mPCR е точен тест за бърза идентификация на патогени и гени за резистентност директно от по-

44. MULTIPLEX PCR FOR RAPID IDENTIFICATION OF PATHOGENS IN POSITIVE BLOOD CULTURES

G. Lengerova [1], V. Kirina [1,2], E. Hristova [3],
MM. Petrov [1], M. Murdjeva[1,2]

[1] Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Plovdiv
[2] Laboratory of Microbiology and Immunology, St. George University Hospital, Plovdiv, Bulgaria
[3] Department of Social Medicine and Public Health, Faculty of Public Health, Medical University – Plovdiv

Introduction: The identification of blood cultures by routine methods takes a long time and this can lead to an inappropriate initial therapy, the development of resistance to antibiotics, a prolonged hospital stay, increased medical costs and reduced survival of patients.

Aim: To explore the capabilities of the multiplex PCR (mPCR) for rapid detection of bacterial pathogens and resistance genes directly from positive blood cultures for 70 minutes.

Material and methods: Multiplex PCR (FilmArray, Biomerieux, France) was applied on 59 positive blood cultures from the BactAlert automated system. The specimens were collected from hospitalized patients with clinical and laboratory data of SIRS. The results were compared with routine biochemical methods, semi-automated and automated microbial identification systems. Antibiotic sensitivity was determined by disk-diffusion method (Bauer-Kirby) and MIC (VITEK-2 Compact automated system). Statistical data processing included descriptive statistics, nonparametric analysis for testing hypotheses, using SPSS (version 19) and Microsoft Excel.

Results: In 84.7% of positive blood cultures tested with the mPCR, the results were confirmed by the classic identification methods. In other 15.3% cases no microorganisms were found by mPCR. This was due to the fact that not all microorganisms are included in the test spectrum, but routine methods identified other bacteria. Among the mPCR detected pathogens, Gram-positives (40.4%) predominated over Gram-negative (40.3%), followed by *Candida spp.* (19.3%). Associated blood infections were found in 11.9%. In six of the mPCR cases (10.2%) antibiotic resistance genes (KPC, mecA, van A/B) were detected, which were confirmed by the standard antibiotic susceptibility methods used.

Conclusion: The FilmArray Blood Culture Panel is an accurate test for rapid identification of pathogens and resistance genes directly from positive blood cultures. It enables simultaneous detection of more than one pathogen in the specimen. Reduced identification time helps to initiate an adequate antimicrobial therapy thus preventing complications or a lethal outcome in patients.

Key words: blood cultures, multiplex PCR, rapid microbiological identification

ложителни хемокултури, с възможност за едновременна детекция на повече от един патоген в материала. Съкращаването на времето за идентификация спомага за стартирането на адекватна антимикробна терапия и предотвратяване на летален изход или усложнения при пациентите.

Ключови думи: хемокултури, мултиплексен PCR, бърза микробиологична идентификация

45. МОЛЕКУЛЯРЕН МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АНТИМИКРОБНА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА НЯКОИ ВИДОВЕ НЕТУБЕРКУЛОЗНИ МИКОБАКТЕРИИ

Ю. Атанасова, А. Байкова С. Йорданова, Е. Бачийска

Национална референтна лаборатория по туберкулоза
Национален център по заразни и паразитни болести

Цел: Въвеждане на нов молекулярен анализ (GenoType NTM-DR) за бързо откриване на естествена и придобита резистентност към макролиди и аминогликозиди в клинично значими видове НТМ (*M. abscessus* (subsp. *abscessus*, *bolletii* and *massiliense*), *M. chelonae* и представителите на *M. AVIUM* complex (*M. AVIUM*, *M. intracellulare* и *M. chimaera*).

Материали и методи: ДНК екстракция от изолиран щам на твърда или течна хранителна среда, последвана от молекурярна идентификация чрез изпълнението на тестовете Mycobacterium CM/AS (Hain LifeScience). Осъществяването на NTM-DR, включва амплификация на специфични олигонуклеотиди, последвана от обратна хибридизация. Контролът на качеството включва и отрицателна контрола.

Резултати: Тестът коректното идентифицира клинично значими бързорастящи видове НТМ както и представителите на M. avium complex включително, и *M. chimaera* –близкородствен до *M. intracellulare* вид, свързван с инвазивни сърдечно-съдови инфекции.

Резистентността към аминогликозиди се определя чрез откриване на мутации в *rrs* гена.

Макролидна резистентностсе доказва чрез детекция на най-честите мутации в *rrl* гена, а при видове *M. abscessus* в *erm* [41] ген.

Тестът е въведен в НРЛ по ТБ, НЦЗПБ през м. ноември 2018г. Чрез него е определена антимикробната чувствителност на щамове от пациенти с доказана дългогодишна НТМ инфекция и на контролен щам *M. abscessus* subsp. *massiliense,* получен от Instand e. V. Доказаха се: по един щам *M. abscessus subsp. abscessus* и *M. intracellulare* с макролидна резистентност. Два щама *M. AVIUM и M. chelonae* се определят като чувствителни към макролиди и аминогликозиди.

Заключение: За пръв път в България се въведе тест за определяне на лекарствена чувствителност на НТМ щамове. Препоръчва се в контекста на доказана или рецидивираща инфекция.

Ключови думи: НТМ, ТЛЧ, ЛПА

Благодарности. Това проучване бе проведено, благодарение на безвъзмездно предоставените апаратура и тестове по програмите, финансирана от Глобалния фонд за борба със СПИН, туберкулоза и малария в България: *BUL-607-G02-T; BUL-809-G03-T; BGR-T-MoH, 2015–2018*

45. MOLECULAR METHOD FOR DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING IN NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA

Y. Atanasova, A. Baykova, S. Yordanova, E. Bachiyska

National Reference Laboratory of tuberculosis
National Center of Infectious and Parasitic Diseases,

Purpose of the study: is to apply a new molecular approach (GenoType NTM-DR) for the rapid detection of natural and acquired resistance to macrolides and aminoglycosides in clinically relevant types of NTM (*M. abscessus, M. chelonae* and *M AVIUM* complex (*M. AVIUM, M. intracellulare* and *M. chimaera*).

Materials and Methods: DNA extraction from of strain from solid or liquid media followed by molecular identification by performing Mycobacterium CM/AS (Hain LifeSciences) assays. The implementation of NTM-DR involves the amplification of specific oligonucleotides followed by reverse hybridization. Quality control also includes a negative control.

Results: The test allows the correct identification of clinically significant rapid growing NTM as well as of *M. AVIUM* complex including identification of *M. chimaera* – species related to *M. intracellulare* associated with invasive cardiovascular infections.

Resistance to aminoglycosides is determined by detecting mutations in the *rrs* gene.

Macrolide resistance is demonstrated by detecting the most common mutations in the *rrl* gene, and in *M. abscessus* species in the *erm* [41] gene.

The test was introduced in NRL of tuberculosis, NCIPD in November 2018. We apply this molecular DST test to strains of patients with proven prolonged NTM infection. We used control strain *M. abcessus* subsp. *massiliense* obtained from Instand e. V.

We obtain the next results: macrolide resistance – by one strain of *M. abscessus* subsp. *abscessus* and *M. intracellulare* and strains sensitive to 2 target group antimicrobial agents: *M. AVIUM* and M. *chelonae*.

Conclusion: For the first time in Bulgaria a drug susceptibility test of NTM strains is introduced. It is recommended in the context of a proven or repetitive infection.

Keywords: NTM, DST, LPA

Acknowledgements: This study was conducted thanks to the equipment and testing kits provided by the Progras funded by Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria, in Bulgaria: *BUL-607-G02-T; BUL-809-G03-T; BGR-T-MoH, 2015–2018*

46. МИКРОБИОЛОГИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НА МУЛТИРЕЗИСТЕНТНА ТУБЕРКУЛОЗА В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2018 ГОДИНА

А. Байкова, Е. Бачийска,
Ю. Атанасова, С. Йорданова, М. Минкова

Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), гр. София
Национална референтна лаборатория по туберкулоза (НРЛ ТБ)

Цел: Да се проучи микробиологичната характеристика на мултирезистентни щамове *M. tuberculosis* в България през 2018г.

Материали и методи: През 2018г. в НРЛ по туберкулоза, НЦЗПБ бяха потвърдени 25 MDR-TB случая от цялата страна. Пациентите бяха на възраст между 19 и 71 години (средно 45г.), от тях 17 мъже и 8 жени. Изолирани са от белодробен материал: 23 от храчка и 2 от БАЛ. За определяне на MDR-TB е използван фенотипен тест с автоматизирана система BACTEC MGIT 960 и молекулярен тест GenoType®MTBDR*plus* (HAIN, Lifescience) за откриване на мутации в гените: *rpo*B, *inh*A и *kat*G. ТЛЧ към втори ред препарати е определена по двата метода.

Резултати: Доказани бяха 25 MDR TB щама чрез фенотипно ТЛЧ. От тях 60% (n=15) са резистентни към HRSE, 16% (n=4) резистентни към HRE, 12% (n=3) резистентни към HRS и 12% (n=3) резистентни към HR. Мутацията в *rpo*B гена, определяща резистентност към Рифампицин е S531L в 100% от случаите. Изониазидовата резистентност в 56% (n=14) се дължи на мутация C15T в *inh*A гена, в 32% (n=8) на мутация S315T1 в *kat*G гена, в 8% (n=2) – на C15T и S315T. В един щам не е установена мутация в *inh*A и *kat*G. 40% (n=10) от MDR-TB щамовете са фенотипно резистентни към препарати от втори ред – 6 към флуорохинолони и 3 към инжекционни противотуберкулозни лекарства от втори ред. Като XDR е определен 1 щам. Мутация A90V в *gyr*A гена беше открита в 83% (n=5), а D94G – в 17% (n=1). Мутацията A1401G в *rrs* гена се среща в 2 от случаите, резистентни към аминогликозиди и циклични пептиди.

Заключение: През 2018г. в България са потвърдени 25 MDR TB. Фенотипната и генетичната характеристика на MDR-TB щамове е от съществено значение за определяне на навременната и адекватна терапия на пациентите.

Ключови думи: MDR – TB, ТЛЧ

Благодарности. Това проучване бе проведено, благодарение на безвъзмездно предоставените апаратура и тестове по програмите, финансирана от Глобалния фонд за борба със СПИН, туберкулоза и малария в България: *BUL-607-G02-T; BUL-809-G03-T; BGR-T-MoH, 2015–2018*

46. MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MULTI DRUG RESISTANT TUBERCULOSIS IN BULGARIA IN 2018

A. Baykova, E.Bachiyska,
Y. Atanasova, S. Yordanova, M. Minkova

National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia
National Reference Laboratory for Tuberculosis (NRLTB)

Purpose: To study the microbiological characteristics of multidrug resistant *M. tuberculosis* strains isolated in Bulgaria in 2018.

Materials and methods: In 2018, in the NRLTB, NCIPD were confirmed 25 MDR-TB cases from all over the country. Patients were between 19 and 71 years old (on average 45 years), of whom 17 were men and 8 were women. Isolated from pulmonary material: 23 sputum and 2 BAL. MDR-TB was determined using phenotypic test BACTEC® MGIT 960 System. Mmolecular method LPA, GenoType®MTBDR*plus* (HAIN, Lifescience) was used to detect mutations in the genes: *rpo*B, *inh*A and *kat*G. DST to second-line drugs was determined by both methods.

Results: There were defined 25 MDR *M. tuberculosis* strains using the conventional DST. Resistance to HRSE were 60% (n=15), 16% (n=4) resistance to HRE, 12% (n=3) resistance to HRS and 12 % (n=3) resistance to HR. The mutation in the *rpo*B gene that determines resistance to Rifampicin was S531L in 100% of cases. The Isoniazid resistance was associated with the C15T mutation in the *inh*A gene – 56% (n=14), with the S315T1 mutation in the *kat*G gene – 32% (n=8) and simultaneously to the C15T and S315T1 mutations – 8% (n=2). In one strain was not detected mutation in *inh*A and *kat*G. 40% (n=10) of the MDR-TB strains were phenotypic resistant to second line drugs: 6 were resistant to fluoroquinolone (s) and 3 – to the injectable second line drugs. One strain was XDR-TB. Mutation A90V in the *gyr*A gene was detected in 83% (n=5) and D94G – 17% (n=1). Mutation A1401G in *rrs* gene was detected in two cases resistance to the injectables.

Conclusion Were confirmed 25 MDR-TB cases in Bulgaria in 2018. The phenotypic and genetic characteristics of MDR TB are essential for determining timely and adequate therapy for patients.

Key words: MDR-TB, DST

Acknowledgements: This study was conducted thanks to the equipment and testing kits provided by the Progras funded by Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria, in Bulgaria: *BUL-607-G02-T; BUL-809-G03-T; BGR-T-MoH, 2015–2018*