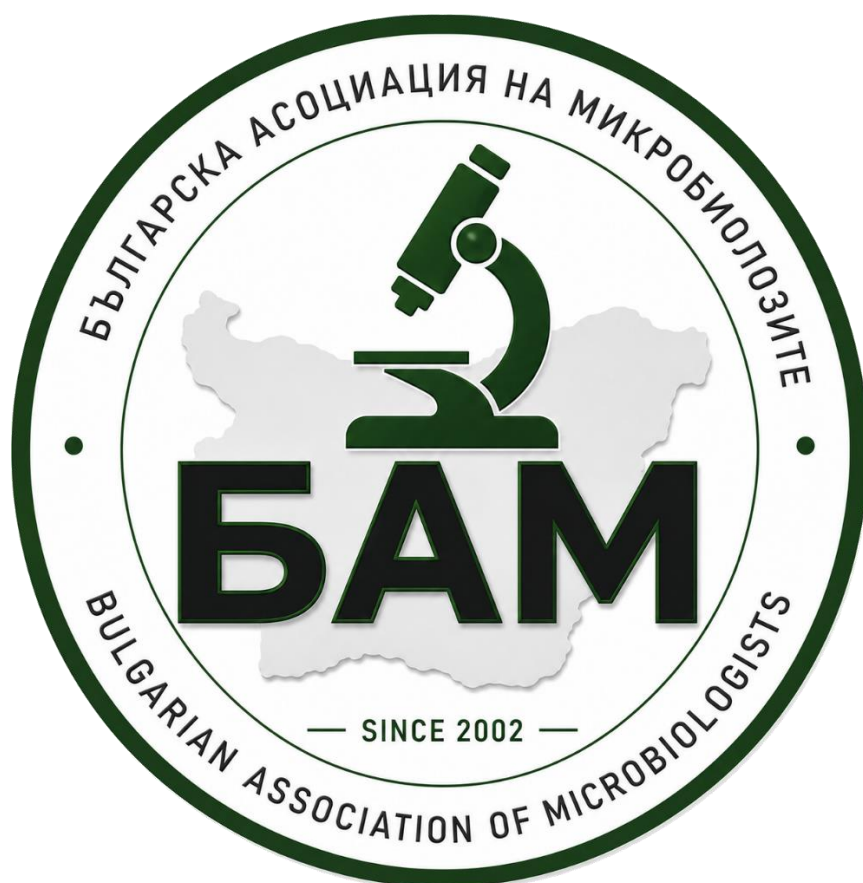


СБОРНИК НАУЧНИ ТРУДОВЕ

**XXIV НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС
ПО КЛИНИЧНА МИКРОБИОЛОГИЯ И
ИНФЕКЦИИ НА БЪЛГАРСКАТА
АСОЦИАЦИЯ НА МИКРОБИОЛОЗИТЕ**



София, 9.10 – 11.10.2026 г.

СЕСИЯ I – ОТЧЕТ ЗА ДЕЙНОСТТА НА НАЦИОНАЛНИТЕ РЕФЕРЕНТНИ ЦЕНТРОВЕ ПО ИНФЕКЦИИ С ОТРАЖЕНИЕ ЗА ОБЩЕСТВЕНОТО ЗДРАВЕ ЗА 2025 ГОДИНА	1
НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР „РЕСПИРАТОРНИ ИНФЕКЦИИ И ТУБЕРКУЛОЗА” - АНАЛИЗ НА ДЕЙНОСТТА ПРЕЗ 2025-2026.....	1
NATIONAL REFERENCE CENTER “RESPIRATORY INFECTIONS AND TUBERCULOSIS” – ANALYSIS OF ACTIVITY IN 2025-2026.....	2
ДОКЛАД НА НАЦИОНАЛНИЯ РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО МИКРОБНА ЛЕКАРСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ И АНТИБИОТИЧНА КОНСУМАЦИЯ.....	3
REPORT FROM THE NATIONAL REFERENCE CENTER FOR MICROBIAL DRUG RESISTANCE AND ANTIBIOTIC USE	3
БАКТЕРИАЛНИ, ВИРУСНИ И ПАРАЗИТНИ ВЕКТОР-ПРЕНОСИМИ ИНФЕКЦИИ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2025 Г.....	4
BACTERIAL, VIRAL AND PARASITIC VECTOR-BORNE INFECTIONS IN BULGARIA, 2025.....	4
НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ЗООАНТРОПОНОЗИ С ЕПИДЕМИЧЕН РИСК, НОВИ ИНФЕКЦИИ И УПРАВЛЕНИЕ НА БИОРИСКА -2025 (НРЦ ЗЕРНИ-УБ)	5
NATIONAL REFERENT CENTER OF ZOONOSES WITH EPIDEMIC RISK, NEW INFECTIONS AND BIOHAZARD MANAGEMENT – 2025 (NRC ZERNI-BM).....	6
НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ИНФЕКЦИИ, ПРЕДАВАНИ С ХРАНИ И ВОДИ (НРЦ-ИПХВ), АНАЛИЗ НА ЗАБОЛЯЕМОСТТА, 2025 Г.....	6
NATIONAL REFERENCE CENTER FOR FOOD- AND WATERBORNE DISEASES (NRC FWD), MORBIDITY ANALYSIS, 2025.....	7
НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР „СЕКСУАЛНО-ПРЕДАВАНИ ИНФЕКЦИИ (СПИ) И ВИРУСНИ ХЕПАТИТИ“	8
NATIONAL REFERENCE CENTRE FOR SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS (STIS) AND VIRAL HEPATITIS.....	9
ДОКЛАД ЗА ДЕЙНОСТТА НА НАЦИОНАЛНИЯ РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ИНФЕКЦИИ, СВЪРЗАНИ С МЕДИЦИНСКОТО ОБСЛУЖВАНЕ (НРЦ-ИСМО) ПРЕЗ 2025Г.	9
REPORT ON THE ACTIVITY OF THE NATIONAL REFERENCE CENTRE FOR HEALTHCARE-ASSOCIATED INFECTIONS (NRC-HAI) IN 2025.....	10
НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ВАКСИНОПРЕДОТВРАТИМИ ИНФЕКЦИИ: ГОДИШЕН ДОКЛАД ЗА ДЕЙНОСТТА ПРЕЗ 2025 Г.....	11

NATIONAL REFERENCE CENTER FOR VACCINE-PREVENTABLE INFECTIONS: ANNUAL REPORT OF ACTIVITIES IN 2025	11
СЕСИЯ II – МИКРОБНА ЛЕКАРСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ	1
СЪВРЕМЕННА ДИАГНОЗА И ЛЕЧЕНИЕ НА ПНЕВМОНИИТЕ, ПРИДОБИТИ В ОБЩЕСТВОТО, В ДЕТСКАТА ВЪЗРАСТ	1
MODERN DIAGNOSIS AND TREATMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDHOOD.....	2
ПРИЛОЖЕНИЕ НА AUTOF MS В БЪРЗАТА МИКРОБИОЛОГИЧНА ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ИЗОЛАТИ ОТ АМБУЛАТОРНИ ПАЦИЕНТИ.....	2
APPLICATION OF AUTOF MS IN THE RAPID MICROBIOLOGICAL IDENTIFICATION OF ISOLATES FROM OUTPATIENTS	3
АКТИВНОСТ НА НОВИЯ ПЛЕВРОМУТИЛИНОВ АНТИБИОТИК, LEFAMULIN, ВЪРХУ КЛИНИЧНИ ИЗОЛАТИ НА <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	4
ACTIVITY OF THE NEW PLEUROMUTILIN ANTIBIOTIC, LEFAMULIN, ON CLINICAL <i>HELICOBACTER PYLORI</i> ISOLATES	4
АНТИМИКРОБНА <i>IN VITRO</i> АКТИВНОСТ НА ТРИ НОВООДОБРЕНИ АНТИБИОТИКА СРЕЩУ НОЗОКОМИАЛНИ КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНИ ИЗОЛАТИ <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> С МНОЖЕСТВЕНА/ЕКСТЕНЗИВНА ЛЕКАРСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ (2014–2024).....	5
<i>IN VITRO</i> ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THREE NEWLY APPROVED ANTIBIOTICS AGAINST NOSOCOMIAL CARBAPENEM-RESISTANT <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> ISOLATES WITH MULTIPLE/EXTENSIVE DRUG RESISTANCE (2014–2024)	6
ДНК НА ПАРВОВИРУС B19, ОТКРИТА В ТЕРАТОМ НА ЯЙЧНИЦИТЕ ПРИ АНТИ- NMDAR ЕНЦЕФАЛИТ: КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ	7
PARVOVIRUS B19 DNA DETECTED IN OVARIAN TERATOMATOUS TISSUE IN ANTI-NMDAR ENCEPHALITIS: A CASE REPORT	8
РЕЗУЛТАТИ ОТ НАЦИОНАЛНО МУЛТИЦЕНТРОВО ГЕНОМНО ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНИ <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> - СЕПТЕМВРИ- ДЕКЕМВРИ 2025	9
RESULTS FROM THE NATIONAL MULTICENTRE GENOMIC SURVEY ON CARBAPENEM-RESISTANT <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> – SEPTEMBER–DECEMBER 2025.....	10
ВЪЗНИКВАНЕ И ПЕРСИСТИРАНЕ НА <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> ST6260, НОСЕЩА <i>BLANDM-5</i> , ПРИ ПРОУЧВАНЕ НА КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНИ <i>ENTEROBACTEREALES</i> В УМБАЛ “ЛОЗЕНЕЦ” - СОФИЯ (2022-2025)	11

EMERGENCE AND PERSISTENCE OF <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> ST6260 CARRYING <i>BLANDM-5</i> IN A STUDY OF CARBAPENEM-RESISTANT <i>ENTEROBACTERIALES</i> IN UNIVERSITY HOSPITAL “LOZENETS” - SOFIA (2022-2025).....	12
ПРЕСТРУКТУРИРАНЕ НА РЕЗИСТОМА В ПИТЕЙНАТА ВОДА И ОБОГАТЯВАНЕ НА БАКТЕРИАЛНАТА БИОМАСА В СИСТЕМИТЕ ЗА ЦЕНТРАЛИЗИРАНО ГОРЕЩО ВОДОСНАБДЯВАНЕ.	12
RESHAPING OF THE DRINKING WATER RESISTOME AND ENRICHMENT OF BACTERIAL BIOMASS IN DISTRICT-HEATING DOMESTIC HOT WATER SYSTEMS	13
PCR ТЕСТ ЗА <i>MYCOPLASMA GENITALIUM</i> И АНТИБИОТИЧНА РЕЗИСТЕНТНОСТ КЪМ МАКРОЛИДИ И ХИНОЛОНИ - НАШИЯТ ОПИТ	14
PCR TEST FOR <i>MYCOPLASMA GENITALIUM</i> AND ANTIBIOTIC RESISTANCE TO MACROLIDES AND QUINOLONES - OUR EXPERIENCE.....	14
ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ АНТИБИОТИЧНАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> SUBSP. <i>PNEUMONIAE</i>	15
STUDY ON THE ANTIBIOTIC RESISTANCE OF <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> SUBSP. <i>PNEUMONIAE</i>	16
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ ЛЕКАРСТВЕНАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА ИЗОЛАТИ НА <i>P. JIROVECII</i> ОТ ИМУНОКОМПЕТЕНТНИ И ИМУНОКОМПРОМЕТИРАНИ ПАЦИЕНТИ С ПНЕВМОЦИСТНА ПНЕВМОНИЯ ...	16
A MOLECULAR BIOLOGICAL STUDY OF DRUG RESISTANCE IN <i>P. JIROVECII</i> ISOLATES FROM IMMUNOCOMPETENT AND IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS WITH PNEUMOCYSTIS JIROVECII PNEUMONIA	17
СЕСИЯ III – РЕСПИРАТОРНИ ИНФЕКЦИИ.....	1
ПРОБЛЕМИ И ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА ПРЕД ДИАГНОСТИКАТА И ПОВЕДЕНИЕТО ПРИ СЛУЧАИТЕ С БЕЛОДРОБНА БОЛЕСТ, ПРИЧИНЕНА ОТ НЕТУБЕРКУЛОЗНИ МИКОБАКТЕРИИ	1
PROBLEMS AND CHALLENGES IN THE DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF CASES WITH PULMONARY DISEASE CAUSED BY NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA1	
СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КЛИНИЧНИТЕ И ЛАБОРАТОРНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА COVID-19 ПРИ ПАЦИЕНТИ ОТ РАЗЛИЧНИ ВЪЗРАСТОВИ ГРУПИ	2
COVID-19, AGE, CLINICAL CHARACTERISTICS, LABORATORY BIOMARKERS, DISEASE SEVERITY.....	3
РЕСПИРАТОРНИ ВИРУС-БАКТЕРИЯ КО-ИНФЕКЦИИ ПРИ ХОСПИТАЛИЗИРАНИ ПАЦИЕНТИ: КО-ПАТОГЕНИ, ВЪЗРАСТОВИ И КЛИНИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ ..	3

COINFECTIONS WITH RESPIRATORY VIRUSES AND BACTERIA IN HOSPITALIZED PATIENTS: CO-PATHOGENS, AGE, AND CLINICAL CHARACTERISTICS	4
СХОДЕН В- И Т-КЛЕТЪЧЕН ИМУНЕН ОТГОВОР СЛЕД ДВЕ РАЗЛИЧНИ COVID-19 ИРНК ВАКСИНИ ПРИ ОГРАНИЧЕН ВА.2.86-СПЕЦИФИЧЕН ОТГОВОР НА В-КЛЕТКИТЕ НА ПАМЕТТА	5
SIMILAR MEMORY B AND T CELL RESPONSES IN RECIPIENTS OF TWO DIFFERENT 2023 COVID-19 MRNA VACCINE FORMULATIONS WITH A RESTRICTED SARS-COV-2 BA.2.86-SPECIFIC MBC RESPONSE.....	6
Т-КЛЕТЪЧНИ И РАЗТВОРИМИ БИОМАРКЕРИ, ХАРАКТЕРИЗИРАЩИ ДЪЛЪГ COVID И СИНДРОМ НА ХРОНИЧНАТА УМОРА	7
T-CELL AND SOLUBLE BIOMARKERS CHARACTERIZING LONG COVID AND CHRONIC FATIGUE SYNDROME	8
ТУБЕРКУЛОЗА В БЪЛГАРИЯ – МИКРОБИОЛОГИЧНИ И ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ.....	9
TUBERCULOSIS IN BULGARIA – MICROBIOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS	9
ТЕНДЕНЦИИ ПРИ MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX ИНФЕКЦИИТЕ.....	10
TRENDS IN MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX (MAC) INFECTIONS.....	11
RSV – ТЕЖЕСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕТО ПРИ ДЕЦА	11
RSV – DISEASE BURDEN IN CHILDREN	12
СЕСИЯ IV – СЕКСУАЛНО-ПРЕДАВАНИ ИНФЕКЦИИ.....	1
МОЛЕКУЛЯРНО-ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА HIV-1 В БЪЛГАРИЯ.....	1
MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HIV-1 IN BULGARIA	2
РЕЗИСТЕНТНАТА ГОНОРЕЯ: ВСЕ ПО-СЕРИОЗНО ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВО ПРЕД ОБЩЕСТВЕНОТО ЗДРАВЕ В ЕВРОПА	2
ANTIMICROBIAL-RESISTANT GONORRHOEA: AN EMERGING PUBLIC HEALTH CHALLENGE IN EUROPE.....	3
АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧНИ ОКСИДАТИВНИ ПРОФИЛИ НА CD4+ И CD8+ Т-КЛЕТКИ ОТ HIV + ЛИЦА В ЗАВИСИМОСТ ОТ ИМУНОЛОГИЧНОТО ВЪЗСТАНОВЯВАНЕ..	4
ANTIGEN-SPECIFIC OXIDATIVE PROFILES OF CD4+ AND CD8+ T-CELLS FROM HIV+ INDIVIDUALS DEPENDING ON IMMUNOLOGICAL RECOVERY	5

HPV ПОЗИТИВНОСТ И ПОВЕДЕНЧЕСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ЖЕНИ, ПОСЕЩАВАЩИ ГИНЕКОЛОГИЧЕН ПРЕГЛЕД: ПРЕДВАРИТЕЛНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ПИЛОТНО ПРОУЧВАНЕ.....	6
HUMAN PAPILLOMAVIRUS POSITIVITY AND BEHAVIORAL/CLINICAL CHARACTERISTICS AMONG WOMEN ATTENDING GYNECOLOGIC SERVICES: PRELIMINARY PILOT RESULTS.....	7
HIV-1 СЕРОПОЗИТИВНИ ХОРА, ИНФЕКТИРАНИ ПРИ УПОТРЕБА НА ИНЖЕКЦИОННИ НАРКОТИЦИ, РЕГИСТРИРАНИ ДО 31.12.2025 Г.	7
HIV-1 SEROPOSITIVE PEOPLE, INFECTED BY INJECTING DRUGS UNTIL 31.12.2025	8
АНАЛИЗ НА СЕРОЛОГИЧНИТЕ МАРКЕРИ ЗА ЕКСПОЗИЦИЯ КЪМ ВИРУСА НА ХЕПАТИТ D ПРИ ПАЦИЕНТИ С АКТИВНА ИЛИ ОКУЛТНА ИНФЕКЦИЯ С ХЕПАТИТ В.....	9
ANALYSIS OF SEROLOGICAL MARKERS FOR HEPATITIS D VIRUS EXPOSURE IN PATIENTS WITH ACTIVE OR OCCULT HEPATITIS B INFECTION	10
ПИЛОТНО СРАВНИТЕЛНО ПРОУЧВАНЕ С ДВА МЕТОДА PCR НА ВАГИНАЛНИ ПРОБИ С МИКРОСКОПСКА КАРТИНА НА БАКТЕРИАЛНА ВАГИНОЗА.....	10
A PILOT COMPARATIVE STUDY USING TWO PCR METHODS ON VAGINAL SAMPLES WITH MICROSCOPIC DIAGNOSIS OF BACTERIAL VAGINOSIS	11
СЕСИЯ V – ВАКСИНО-ПРЕДОТВРАТИМИ ИНФЕКЦИИ	1
РОТАВИРУСЕН ЕНТЕРИТ ПРИ ВЪЗРАСТНИ – ЕПИДЕМИОЛОГИЯ, КЛИНИЧНИ ПРОЯВИ, УСЛОЖНЕНИЯ, ИЗХОД – СОБСТВЕН ОПИТ	1
ROTAVIRUS ENTERITIS IN ADULTS: EPIDEMIOLOGY, CLINICAL MANIFESTATIONS, COMPLICATIONS, OUTCOMES, AND OUR EXPERIENCE	2
ТУБЕРКУЛОЗЕН МЕНИНГИТ.....	2
TUBERCULOUS MENINGITIS	3
МЕНИНГИТ КАТО ЕДИНСТВЕНА ПРОЯВА НА EBV ИНФЕКЦИЯ. КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ.....	4
MENINGITIS AS THE SOLE MANIFESTATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION: A CASE REPORT.....	4
СЪВРЕМЕННО СЪСТОЯНИЕ НА МОРБИЛИ В БЪЛГАРИЯ: АНАЛИЗ НА ЕПИДЕМИЧНИЯ ВЗРИВ 2026 Г.....	5
CURRENT STATUS OF MEASLES IN BULGARIA: ANALYSIS OF THE OUTBREAK IN 2026.....	5

НЕПОЛИОМИЕЛИТНИ ЕНТЕРОВИРУСИ, СВЪРЗАНИ С ОСТРИ ВЯЛИ ПАРАЛИЗИ И ЛИЦЕВИ ПАРЕЗИ В РАМКИТЕ НА НАЦИОНАЛНИЯ НАДЗОР НА ОВП (2019–2025 Г.).....	6
NON-POLIO ENTEROVIRUSES ASSOCIATED WITH ACUTE FLACCID PARALYSIS AND FACIAL PALSUS WITHIN THE FRAMEWORK OF NATIONAL AFP SURVEILLANCE (2019–2025).....	7
МЕДИЦИНСКИЯ ПЕРСОНАЛ И ПРОТИВОГРИПНАТА ВАКСИНАЦИЯ: ОТ ЛИЧЕН ИЗБОР КЪМ ПРОФЕСИОНАЛНА ОТГОВОРНОСТ.....	7
HEALTHCARE WORKERS AND INFLUENZA VACCINATION: FROM PERSONAL CHOICE TO PROFESSIONAL RESPONSIBILITY	8
ДОКАЗВАНЕ НА АНТИТЕЛА СРЕЩУ ХЕПАТИТ А И ХЕПАТИТ Е ВИРУСИ В СБОРНА ПЛАЗМА.....	9
DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST HEPATITIS A AND HEPATITIS E VIRUSES IN POOLED PLASMA	9
ОЦЕНКА НА НАЛИЧИЕТО НА ПРОТЕКТИВНИ АНТИТЕЛА СРЕЩУ ХЕПАТИТ В ВИРУС СРЕД ПАЦИЕНТИ (РОДЕНИ СЛЕД 1992 ГОДИНА), ИЗСЛЕДВАНИ В НРЛ „ХЕПАТИТНИ ВИРУСИ“ ЗА ПЕРИОДА 2018 – 2026 ГОДИНА.....	10
ASSESSMENT OF THE PRESENCE OF PROTECTIVE ANTIBODIES AGAINST HEPATITIS B VIRUS AMONG PATIENTS (BORN AFTER 1992), WHICH WERE TESTED IN NRL “HEPATITIS VIRUSES” FOR THE PERIOD 2018 – 2026.....	11
ПЕРСИСТИРАНЕ НА BCG ВАКСИНАТА В ЛАБОРАТОРНИ ЖИВОТИНИ	11
PERSISTENCE OF BCG VACCINE IN LABORATORY ANIMALS.....	12
ПИЛОТНО ПРОУЧВАНЕ НА АЛТЕРНАТИВЕН МЕТОД ЗА ДОКАЗВАНЕ НА СЪМНИТЕЛНИ СЛУЧАИ НА МОРБИЛИ И РУБЕОЛА В БЪЛГАРИЯ ЧРЕЗ ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПРОБИ ОТ ИЗСУШЕНИ КРЪВНИ ПЕТНА И ОРАЛНА ТЕЧНОСТ	12
A PILOT STUDY USING ALTERNATIVE METHODS FOR CONFIRMING SUSPECTED CASES OF MEASLES AND RUBELLA IN BULGARIA THROUGH THE ANALYSIS OF DRIED BLOOD SPOTS AND ORAL FLUID	13
ЦИРКУЛИРАЩИ РОТАВИРУСНИ ГЕНОТИПОВЕ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2025Г.....	14
CIRCULATING ROTAVIRUS GENOTYPES IN BULGARIA IN 2025.	14
СЕСИЯ VI – ИНФЕКЦИИ, ПРИЧИНЯВАНИ ОТ ХРАНИ И ВОДИ.....	1
ВИБРИОЗИТЕ В ЕВРОПА: ВИДОВО РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ, ДВИЖЕЩИ СИЛИ НА ОКОЛНАТА СРЕДА, КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ И НУЖДТА ОТ ЗАСИЛЕН НАДЗОР	1

VIBRIOSIS IN EUROPE: SPECIES DISTRIBUTION, ENVIRONMENTAL DRIVERS, CLINICAL IMPACT AND THE NEED FOR STRENGTHENED SURVEILLANCE	2
ФИЛОГЕНЕТИЧЕН АНАЛИЗ НА ЦЕЛОГЕНОМНО СЕКВЕНИРАНИ ИЗОЛАТИ <i>VIBRIO VULNIFICUS</i> ОТ ВОДНИ ПРОБИ ОТ ЧЕРНО МОРЕ И КЛИНИЧЕН ИЗОЛАТ	3
PHYLOGENETIC ANALYSIS OF WHOLE-GENOME SEQUENCED <i>VIBRIO VULNIFICUS</i> ISOLATES FROM THE BLACK SEA WATER AND A CLINICAL ISOLATE	3
ИЗОЛИРАНЕ НА ЧОВЕШКИ АДЕНОВИРУСИ ОТ ОТПАДНИ ВОДИ В КЛЕТЪЧНА КУЛТУРА	4
RECOVERY OF HUMAN ADENOVIRUSES FROM WASTEWATER SAMPLES IN CELL CULTURE MODEL	5
ДОСТИЖЕНИЯТА НА ПРОЕКТ SUMMIT ПРИ ИЗУЧАВАНЕ НА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА ПАТОГЕНИ В ОКОЛНАТА СРЕДА	6
ACHIEVEMENTS OF THE SUMMIT PROJECT IN STUDYING THE SPREAD OF PATHOGENS IN THE ENVIRONMENT	7
ГЕНЕТИЧНО РАЗНООБРАЗИЕ НА ЧОВЕШКИ ИЗОЛАТИ ОТ <i>BLASTOCYSTIS SPP.</i> В БЪЛГАРИЯ.....	7
GENETIC DIVERSITY OF HUMAN <i>BLASTOCYSTIS SPP.</i> ISOLATES IN BULGARIA....	8
МОЛЕКУЛЯРНА ДЕТЕКЦИЯ НА МИКРОСПОРИДИИ В ЧОВЕШКИ И ЖИВОТИНСКИ ФЕКАЛНИ ПРОБИ	9
MOLECULAR DETECTION OF <i>MICROSPORIDIA</i> IN HUMAN AND ANIMAL FECAL SAMPLES.....	9
СЛУЧАЙ НА <i>HETEROPHYES HETEROPHYES</i> В БЪЛГАРИЯ.....	10
A CASE OF <i>HETEROPHYES HETEROPHYES</i> IN BULGARIA.....	11
СЕСИЯ VII – ВЕКТОРНО-ПРЕДАВАНИ И ДРУГИ ИНФЕКЦИИ	1
СРАВНЕНИЕ НА ДВЕ СЕРОЛОГИЧНИ ПЛАТФОРМИ ПРИ ИЗСЛЕДВАНЕ НА СПЕЦИФИЧНИ АНТИТЕЛА СРЕЩУ ПРИЧИНИТЕЛЯ НА ЛАЙМСКАТА БОРЕЛИОЗА	1
COMPARISON OF TWO SEROLOGICAL PLATFORMS FOR THE DETECTION OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST THE CAUSATIVE AGENT OF LYME DISEASE	2
B31 И OSPC MIX-ЗАВИСИМИ ЦИТОКИНОВИ ОТГОВОРИ ПРИ СЕРОПОЗИТИВНИ ЗА <i>BORRELIA BURGDORFERI</i> ПАЦИЕНТИ	2
B31 AND OSPC MIX-DRIVEN CYTOKINE RESPONSES IN <i>BORRELIA BURGDORFERI</i> -SEROPOSITIVE PATIENTS.....	3

АТИПИЧНО ПРОТИЧАНЕ НА ТРОПИЧЕСКА МАЛАРИЯ: ПРЕДСТАВЯНЕ НА КЛИНИЧНИ СЛУЧАИ НА ДВАМА ПАЦИЕНТИ.....	4
ATYPICAL COURSE OF TROPICAL MALARIA PRESENTATION OF CLINICAL CASES OF TWO PATIENTS	4
ДВА СЛУЧАЯ НА КЪРЛЕЖОВ ЕНЦЕФАЛИТ БЕЗ ЕПИДЕМИОЛОГИЧНА ВРЪЗКА - ПОТВЪРДЕНИ В ДВЕ ОБЛАСТИ НА БЪЛГАРИЯ (М. МАЙ 2026 Г.).....	5
TWO CASES OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS WITHOUT EPIDEMIOLOGY CONNECTION - CONFIRMED IN TWO REGIONS OF BULGARIA (MAY 2026)	6
ВНОСНИ СЛУЧАИ НА ДЕНГА В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА ЯНУАРИ 2025-ЮНИ 2026 Г.	6
IMPORTED DENGUE CASES IN BULGARIA, JANUARY 2025–JUNE 2026.....	7
ПЪРВИ ЛАБОРАТОРНО ПОТВЪРДЕНИ ВНОСНИ СЛУЧАИ НА ЧИКУНГУНЯ ВИРУС В БЪЛГАРИЯ	8
FIRST LABORATORY-CONFIRMED IMPORTED CHIKUNGUNYA VIRUS CASES IN BULGARIA.....	8
ТЕКУЩИ ДАННИ ЗА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО И ВИДОВАТА ДОМИНАНТНОСТ НА ИКСОДОВИТЕ КЪРЛЕЖИ В БЪЛГАРИЯ.....	9
CURRENT DATA ON THE DISTRIBUTION AND ABUNDANCE OF HARD TICKS IN BULGARIA	10
КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ КОЛИЧЕСТВОТО ВАЛЕЖИ И СЛУЧАИТЕ НА ЛЕПТОСПИРОЗА В НЯКОИ ОБЛАСТИ НА БЪЛГАРИЯ ЗА 5 ГОДИШЕН ПЕРИОД (2021-2025 Г.)	10
CORRELATION BETWEEN RAINFALL AMOUNT AND LEPTOSPIROSIS CASES IN SOME AREAS OF BULGARIA FOR A 5-YEAR PERIOD (2021-2025)	11
СЕСИЯ VIII – ИНФЕКЦИИ, СВЪРЗАНИ С МЕДИЦИНСКОТО ОБСЛУЖВАНЕ И ИНФЕКЦИИ ПРИ ИМУНОДЕФИЦИТНИ СЪСТОЯНИЯ И ЗАБОЛЯВАНИЯ.....	1
ПРИЛАГАНЕ НА ПОДХОДА ПРОМЯНА В ПОВЕДЕНИЕТО ПРИ ВНЕДРЯВАНЕ РЪКОВОДСТВОТА ЗА ПКИ/AMS, СОМ-В МОДЕЛ.	1
APPLYING THE BEHAVIOR CHANGE APPROACH TO IMPLEMENTING THE IPC/AMS GUIDELINES, COM-B MODEL	1
КАК ЕВРОПЕЙСКИ ПРОЕКТ EU JAMRAI 2 ПОДПОМАГА СИСТЕМИТЕ ЗА ПКИ И АМС НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ СТРАНИ	2
HOW THE EUROPEAN PROJECT EU JAMRAI 2 SUPPORTS IPC AND AMS SYSTEMS OF EU COUNTRIES.....	2
ИМА ЛИ ВЪТРЕБОЛНИЧНА ЛЕГИОНЕРСКА БОЛЕСТ В БЪЛГАРИЯ?	3

IS THERE HOSPITAL ACQUIRED LEGIONNAIRES' DISEASE IN BULGARIA?	3
МИКРОБИОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА НЕ-ЛЕГИОНЕЛНИ ИЗОЛАТИ ПРИ ДВА ПОТВЪРДЕНИ СЛУЧАЯ НА ЛЕГИОНЕРСКА БОЛЕСТ	4
MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION OF NON-LEGIONELLA ISOLATES IN TWO CULTURE-CONFIRMED CASES OF LEGIONNAIRES' DISEASE	5
ГЕНОТИПНА И ФЕНОТИПНА ХАРАКТЕРИСТИКА НА АДХЕЗИВНИЯ КАПАЦИТЕТ И ПРОФИЛА НА АНТИМИКРОБНА УСТОЙЧИВОСТ ПРИ КЛИНИЧНИ ИЗОЛАТИ НА STAPHYLOCOCCUS AUREUS И PSEUDOMONAS AERUGINOSA	6
GENOTYPIC AND PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF ADHESIVE CAPACITY AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE IN CLINICAL ISOLATES OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND PSEUDOMONAS AERUGINOSA	7
ГЕНОТИПНИ И ФЕНОТИПНИ ПРОФИЛИ НА РЕЗИСТЕНТНОСТ ПРИ ИНВАЗИВНИ ИЗОЛАТИ НА A. BAUMANNII ОТ УНИВЕРСИТЕТСКА БОЛНИЦА В БЪЛГАРИЯ.....	8
GENOTYPIC AND PHENOTYPIC RESISTANCE PROFILES IN INVASIVE ISOLATES A. BAUMANNII FROM A TERCARY HOSPITAL IN BULGARIA.....	9
ОЦЕНКА НА РИСКА ОТ РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE ПРИ БЕЗСИМПТОМНИ ПЕДИАТРИЧНИ ПАЦИЕНТИ	10
ASYMPTOMATIC CARRIAGE OF TOXIGENIC CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE STRAINS AMONG BULGARIAN PEDIATRIC PATIENTS	10
РЕШЕНИЯ, КОИТО ПРЕДЛАГА ИЗКУСТВЕНИЯ ИНТЕЛЕКТ, ЗА СТАНДАРТИЗИРАНЕ И ОПТИМИЗИРАНЕ НА ДЕЙНОСТИТЕ, СВЪРЗАНИ С ХИГИЕННИ ГРИЖИ ЗА ТЕЖКОБОЛНИ ПАЦИЕНТИ.....	11
ARTIFICIAL INTELLIGENCE SOLUTIONS FOR IMPROVING AND STANDARDIZING HYGIENE CARE FOR CRITICALLY ILL PATIENTS	12
КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ХРОНИЧЕН МАКСИЛАРЕН СИНУИТ С ГЪБИЧНА ЕТИОЛОГИЯ	12
CLINICAL CASE OF CHRONIC MAXILLARY SINUSITIS WITH FUNGAL ETIOLOGY	13
СЕСИЯ IX – РАЗНИ	1
АНАЛИЗ НА СЪСТОЯНИЕТО НА ПАРАЗИТНАТА ЗАБОЛЯЕМОСТ В БЪЛГАРИЯ..	1
THE STATUS OF PARASITIC INFECTIONS IN BULGARIA: AN ANNUAL ANALYSIS FOR 2025.....	2
ШЕСТГОДИШНО РЕТРОСПЕКТИВНО ПРОУЧВАНЕ НА ВИРУСНА ДЕТЕКЦИЯ В ЛИКВОР В БЪЛГАРИЯ, 2020–2025 Г	3

SIX-YEAR RETROSPECTIVE STUDY OF VIRAL PATHOGEN DETECTION IN CEREBROSPINAL FLUID IN BULGARIA, 2020–2025	4
ВИДОВО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА BRUCELLA SPP. С ИЗПОЛЗВАНЕ НА ЦЕЛОГЕНОМНО СЕКВЕНИРАНЕ И БИОИНФОРМАТИЧЕН АНАЛИЗ.	5
SPECIES IDENTIFICATION OF BRUCELLA SPP. USING WHOLE-GENOME SEQUENCING AND BIOINFORMATIC ANALYSIS.....	5
АНАЛИЗ НА ЗАБОЛЯЕМОСТТА ОТ КОНТАКТНИ ПАРАЗИТОЗИ В БЪЛГАРИЯ, 2021–2025 Г.	6
INCIDENCE ANALYSIS OF COMMUNITY-ACQUIRED PARASITIC INFECTIONS IN BULGARIA, 2021–2025.....	6
КОГАТО ПРОБАТА СЕ ПРЕВЪРНЕ В ДАННИ: РИСКОВЕ ЗА КИБЕРБИОСИГУРНОСТТА ПРИ МИКРОБНАТА ГЕНОМИКА.....	7
WHEN THE SAMPLE BECOMES DATA: CYBERBIOSECURITY RISKS IN MICROBIAL GENOMICS.....	8
ДОКАЗВАНЕ НА ПАРВОВИРУС В19 (В19V) ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪМНИТЕЛНИ ЗА МОРБИЛИ В БЪЛГАРИЯ.....	8
DETECTION OF PARVOVIRUS B19 (B19V) IN PATIENTS SUSPECTED FOR MEASLES IN BULGARIA.....	9
ХАПЛОТИПНО И НУКЛЕОТИДНО РАЗНООБРАЗИЕ НА ПАРАЗИТА E. VERMICULARIS (ТИП В) И РОЛЯТА НА МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ ЗА КОНТРОЛА НА ЕНТЕРОБИОЗАТА В БЪЛГАРИЯ.....	10
THE HAPLOTYPE AND NUCLEOTIDE DIVERSITY OF THE PARASITE E. VERMICULARIS (TYPE B), AND THE ROLE OF MOLECULAR BIOLOGICAL STUDIES IN CONTROLLING ENTEROBIASIS IN BULGARIA.....	11
НЕОБХОДИМО ЛИ Е ДА СЕ ЗАПОЧНЕ АНТИБИОТИЧНО ЛЕЧЕНИЕ СЛЕД ИЗОЛИРАНЕ НА SPHINGOMONAS PAUCIMOBILIS ОТ КУЛТУРИ ОТ НОСЕН СЕКРЕТ?.....	12
IS IT NECESSARY TO INITIATE ANTIBIOTIC TREATMENT FOLLOWING THE ISOLATION OF SPHINGOMONAS PAUCIMOBILIS FROM NASAL SECRETION CULTURES?	12

СЕСИЯ I – ОТЧЕТ ЗА ДЕЙНОСТТА НА НАЦИОНАЛНИТЕ РЕФЕРЕНТНИ ЦЕНТРОВЕ ПО ИНФЕКЦИИ С ОТРАЖЕНИЕ ЗА ОБЩЕСТВЕННОТО ЗДРАВЕ ЗА 2025 ГОДИНА

НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР „РЕСПИРАТОРНИ ИНФЕКЦИИ И ТУБЕРКУЛОЗА” - АНАЛИЗ НА ДЕЙНОСТТА ПРЕЗ 2025-2026

Н. Корсун¹, В. Левтерова¹, М. Николова¹, Ю. Атанасова¹, Н. Рукмански¹, Д. Павлова¹,
И. Григорова¹, С. Йорданова¹, С. Йорданов¹, А. Байкова¹, Н. Бранкова¹, И. Симеоновски¹,
Я. Тодорова¹, Р. Емилова¹, Г. Николов¹, И. Томова¹, А. Дечева¹, С. Панайотов¹, Н.
Владимирова¹, А. Минкова¹, Ж. Гецова¹, Р. Цонева¹, Л. Маринова¹

¹Национален Център по Заразни и Паразитни Болести

ЦЕЛ: Да се обобщят резултатите от епидемиологичния и лабораторен надзор на инфекциите на респираторния тракт с вирусна и бактериална етиология в България.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Извършен бе текущ и годишен епидемиологичен анализ на заболяемостта от респираторни инфекции: ваксинапредотвратими (коклюш, бактериални менингити и др.) и без рутинна ваксинапрофилактика (грип/ОРЗ, COVID-19 и др.). През сезон 2025-2026 г. 3640 назофарингеални секрета на пациенти с грипоподобни заболявания/ОРЗ бяха тествани едновременно за грипни вируси тип А/Б и SARS-CoV-2. Респираторни проби на 2853 пациента бяха допълнително изследвани за 9 други респираторни вируси. Общо 348 клинични проби бяха изследвани за туберкулоза. Извършени бяха потвърдителни изследвания на 172 щам, изпратени от лабораториите в страната. Осъществена бе видова идентификация на нетуберкулозните микобактерии (НТМ). Интерферон-гама базирани тестове за имунодиагностика на туберкуозна инфекция бяха проведени при 74 лица със съмнение за инфекция с *M. tuberculosis* и при 248 здравни специалисти от лечебните заведения за диагностика и лечение на туберкулоза. Чрез Real-Time PCR бяха извършени диагностични изследвания за коклюш, паракоклюш, *Chlamydia* (*C. psittaci*, *C. pneumoniae*), *M. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *H. influenzae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *C. burnetii*, *L. monocytogenes* и *N. meningitidis*. Проучено бе носителството на *S. pneumoniae* при 91 здрави деца на възраст 1-5 г. За диагностика на Легионерска болест бяха изследвани 149 проби на 94 пациента.

РЕЗУЛТАТИ: Извършен бе целогодишен мониторинг и оценка на интензивността на епидемичния процес на грип и ОРЗ и на други дихателни инфекции, регистрирани в страната през 2025 г. Оперативен седмичен анализ на заболяемостта от грип и ОРЗ в България се публикува на интернет страницата на НЦЗПБ. През сезон 2025-2026 г. бяха идентифицирани 720 (19,8%) грипни вируси: 96 A(H1N1)pdm09, 622 A(H3N2) и 2 B/Victoria. SARS-CoV-2 бе доказан в 107 (3%) проби. Сред останалите негрипни респираторни вируси най-често (9%) бяха идентифицирани риновируси. Общо 18 щам *M. tuberculosis* complex бяха доказани като резистентни, 6 от които MDR-TB, от които 5 pre-XDR-TB. Идентифицирани бяха 107 щам нетуберкулозни микобактерии при 90 пациента. При 14 (18,9%) от изследваните лица със съмнение за туберкуозна инфекция и при 74 (29,8%) от тестваните здравни работници се установи положителен IGRA резултат. Позитивни резултати за коклюш бяха получени при 6 (5,9%) пациента, *M. pneumoniae* - 1, *N. meningitidis* - 10 (40%), *S. pneumoniae* - 4 (28,6%) от 52 изследвани ликвори. Носителство на *S. pneumoniae* бе установено чрез Real-Time PCR при 2 (2,2%) здрави деца на възраст 1-5 г. Легионерска болест бе диагностицирана като потвърдени случаи при 22 (23,4%) пациента, от които 7 с фатален изход.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: НРЦ „Респираторни инфекции и туберкулоза” интегрираше усилията на различни специалисти с цел по-пълното и комплексно проучване на респираторните инфекции и туберкулозата в България.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: респираторна инфекция, туберкулоза

NATIONAL REFERENCE CENTER “RESPIRATORY INFECTIONS AND TUBERCULOSIS” – ANALYSIS OF ACTIVITY IN 2025-2026

*N. Korsun, V. Levterova, M. Nikolova, Y. Atanasova, N. Rukmanski, D. Pavlova,
I. Grigorova, S. Yordanova, S. Yordanov, A. Baykova, N. Brankova, I. Simeonovski,
Y. Todorova, R. Emilova, G. Nikolov, I. Tomova, A. Detcheva, S. Panaiotov,
N. Vladimirova, A. Minkova, Zh. Getsova, R. Tsoneva, L. Marinova*

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: To summarize the results of epidemiological and laboratory surveillance of respiratory tract infections of viral and bacterial etiology in Bulgaria.

MATERIALS AND METHODS: A current and annual epidemiological analysis of respiratory infection incidence was conducted, including vaccine-preventable infections (such as pertussis and bacterial meningitis) and those without routine vaccine prophylaxis (such as influenza/ARI and COVID-19). During the 2025-2026 season, 3640 nasopharyngeal swabs of patients with influenza-like illness/ARI were tested simultaneously for influenza type A/B viruses and SARS-CoV-2. Respiratory samples from 2853 patients were additionally screened for 9 other respiratory viruses. A total of 348 clinical samples were tested for tuberculosis. Confirmatory tests were performed on 172 strains sent by laboratories nationwide. Species identification of nontuberculous mycobacteria (NTM) was performed. Interferon-gamma-based tests were performed on 74 individuals with suspected tuberculosis infection and 248 healthcare workers from tuberculosis diagnostic and treatment facilities. Real-Time PCR testing was performed for pertussis, parapertussis, Chlamydia (C.pneumoniae and C.pneumoniae), M.pneumoniae, L.pneumophila, H.influenzae, Corynebacterium diphtheriae, C.burnetii, L.monocytogenes, and N.meningitidis. S.pneumoniae carriage was studied in 91 children aged 1-5 years. 149 samples from 94 patients were tested for the diagnosis of Legionnaires' disease.

RESULTS: Year-round monitoring and assessment of the intensity of influenza and ARI epidemic processes, and of other respiratory infections registered in the country in 2025, were carried out. An operational weekly analysis of influenza and ARI incidence in Bulgaria is published on the NCIPD website. In the 2025-2026 season, 720 (19.8%) influenza viruses were identified: 96 A(H1N1)pdm09, 622 A(H3N2), and 2 B/Victoria. SARS-CoV-2 was detected in 107 (3%) samples. Among other respiratory viruses, rhinoviruses were identified most frequently (9%). A total of 18 strains of M. tuberculosis complex were drug-resistant, 6 of which were MDR-TB and 5 were pre-XDR-TB. A total of 107 NTM strains were identified in 90 patients. Fourteen (18.9%) of the tested individuals with suspected tuberculosis infection, and 74 (29.8%) of the tested healthcare workers had a positive IGRA result. Positive results for pertussis were obtained in 6 (5.9%) of the examined patients, M. pneumoniae - 1, N. meningitidis - 10 (40%), and S. pneumoniae - 4 (28.6%) of 52 examined CSF samples. Carriers of S. pneumoniae were 2 (2.2%) children aged 1-5 years. Legionnaires' disease was diagnosed in 22 (23.4%) patients, of which 7 were fatal.

CONCLUSION: NRC “Respiratory infections and tuberculosis” united the efforts of various experts for a more complete and comprehensive study of respiratory infections and tuberculosis in Bulgaria.

KEYWORDS: respiratory infection, tuberculosis

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

*И. Н. Иванов¹, И. Стойков^{1,2}, Д. Дончев¹, С. Събчева², И. Алексиев¹, Р. Харизанов¹, Е.
Добрева¹, Р. Христова¹, И. Живкова¹, И. Филипова¹, Н. Корсун¹, Т. Тенев¹, Н.
Владимирова¹, П. Орозова³*

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

Националният референтен център по микробна лекарствена резистентност и антибиотична консумация интегрира задълбочени проучвания 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 оформени след анализ на годишните отчети на над 150 микробиологични лаборатории в 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 рутинната практика. В тази връзка и с цел синхронизиране на работата на микробиологичните лаборатории с европейските изисквания, ще се отдели време да се разяснят повтарящите се грешки в интерпретацията (вкл. при вродена 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 промените и новостите в европейския стандарт EUCAST. Ще бъдат докладвани последните национални данни за нивата на антиретровирусна резистентност при HIV, резистентността към антивирусни, антипаразитни и антимикотични препарати както и най-актуалните данни за консумацията на антимикробни препарати.

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

*I.N Ivanov¹, I. Stoikov^{1,2}, D. Donchev¹, S. Sabtcheva², I. Alexiev¹, R. Harizanov¹, E. Dobрева¹, R.
Hristova¹, I. Zhivkova, I. Philipova¹, N. Korsun¹, T. Tenev¹, N. Vladimirova¹, P. Orozova³*

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

The National Reference Centre for Microbial Drug Resistance and Antibiotic Use integrates in-depth studies by specialists in the field of drug resistance related to bacterial, fungal, viral and parasitic infections in the community and hospitals, as well as antimicrobial resistance in the agricultural and food industry. The latest trends in aetiological structure, bacterial resistance and antibiotic consumption in Bulgaria - BulSTAR will be presented after analyzing the annual reports of more than 150 microbiological laboratories. Issues related to the unusual phenotypes registered in specific bug-drug combinations with regard to correct interpretation will be addressed. Means to avoid misinterpretation in routine practice will be discussed. In this context, and in order to synchronize AMR testing in the microbiology laboratory network with European standards, the guidelines for electronic reporting in relation to the external quality management system will be discussed. We will discuss the repeated misinterpretation of intrinsic resistance, the inefficiency of a given antibiotic to treat certain infections, and what to report when there is insufficient data for a particular bug-drug combination in EUCAST. The common problems associated with electronic reporting in BulSTAR will be presented and discussed.

The main changes and new categories in EUCAST will be presented and discussed. Finally, the latest national data on rates of antiretroviral resistance in HIV, антижирал, antiparasitic and antifungal resistance will be presented, as well as the most recent data on antimicrobial use.

БАКТЕРИАЛНИ, ВИРУСНИ И ПАРАЗИТНИ ВЕКТОР-ПРЕНОСИМИ ИНФЕКЦИИ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2025 Г.

*И. Христова¹, Р. Харизанов¹, И. Трифонова¹, А. Минкова¹, Н. Владимирова¹, Л. Маринова¹,
Г. Каменов¹, Е. Панайотова¹, Т. Гладнишка¹, П. Генова-Калу¹, О. Миков¹, В. Иванова¹, Е.
Тасева¹, Н. Миткова¹, С. Буковска¹*

¹Национален център по заразни и паразитни Болести

През 2025 г. бяха регистрирани 373 случая на Лаймска борелиоза (390 случая за 2024 г.) и 67 случая на Марсилска треска (73 случая за 2024 г.). В 20 области на страната бяха регистрирани 36 случая на Ку-треска, (47 сл. от 8 области за 2024 г.). Както и в предходната година беше регистриран 1 случай на Кримска-Конго хеморагична треска. За разлика от 2024 г, когато бяха регистрирани 31 случая на треска Западен Нил, през 2025 г. е регистран само 1 случай. Както и в предходната година са съобщени 6 случаи на вирусна треска Денга, всичките внесени. Случаи на кърлежов енцефалит не са регистрирани (1 случай за 2024 г.). През 2025 г. в страната бяха регистрирани 7 случая на вносна малария (18 слчая през 2024 г.), всичките с причинител *P. falciparum*, като 3 от болелите са български граждани и 4 са чужденци. Всички са пристигнали от ендемични за малария държави в Африка. Един от случаите (български гражданин) е с летален изход. През годината се наблюдава значително увеличение на случаите на висцерална лайшманиоза на територията на страната. Регистрирани са общо 22 случая (4 случая за 2024 г.) в следните области: Благоевград -1, Пазарджик – 2, Кърджали – 1, Пловдив -8, Стара Загора – 5 и Хасково – 5. Четири от случаите са с летален изход. Годишната заболяемост за страната е 0,34‰ (0,06‰ за 2024 г.). От юни до септември в областите Благоевград и Хасково по линия на VectorNet е проведен ентомологичен надзор за установяване разпространението на *Culex tritaeniorhynchus*, *Cx. modestus*, *Cx. theileri* и *Cx. peregrinus* в България. При общо шест полеви улова на комари са уловени 746 екземпляра, от които само един от област Хасково принадлежи към вида *Cx. theileri*. Проведени бяха лабораторни изпитвания (10 броя) върху ефективността на ларвициди, пространствени, контактни имагоциди и репеленти, срещу вектори на инфекции (комари и мухи).

BACTERIAL, VIRAL AND PARASITIC VECTOR-BORNE INFECTIONS IN BULGARIA, 2025

*I. Christova¹, R. Harizanov¹, I. Trifonova¹, A. Minkova¹, N. Vladimirova¹, L. Marinova¹, G.
Kamenov¹, E. Panayotova¹, T. Gladnishka¹, P. Genova-Kalou¹, O. Mikov¹, V. Ivanova¹, E.
Taseva¹, N. Mitkova¹, S. Bukovska¹*

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases

In 2025, 373 cases of Lyme disease (390 cases in 2024) and 67 cases of Mediterranean spotted fever (73 cases in 2024) were reported. In 20 regions of the country, 36 cases of Q fever were reported (47 cases in 8 regions in 2024). As in the previous year, one case of Crimean-Congo hemorrhagic fever was reported. Unlike 2024, when 31 cases of West Nile fever were reported, only 1 case was reported in 2025. As in the previous year, 6 cases of viral Dengue fever were reported, all of them imported. No cases of tick-borne encephalitis were reported (one case in 2024). In 2025, 7 cases of imported malaria were recorded. All of these were caused by the *Plasmodium falciparum* species of parasite. Three of the patients were Bulgarian citizens and four were foreigners. All of the infected individuals had arrived from malaria-endemic countries in Africa. One of the cases (in a Bulgarian citizen) was fatal. During the year, a significant increase in cases of visceral leishmaniasis was observed across the country. A total of 22 cases (4 cases

in 2024) were registered in the following districts: Blagoevgrad (1), Pazardzhik (2), Kardzhali (1), Plovdiv (8), Stara Zagora (5) and Haskovo (5). Four of the cases were fatal. The country's annual incidence rate is 0.34 ‰, compared to 0.06 ‰ people in 2024. From June to September, entomological surveillance was conducted in the districts of Blagoevgrad and Haskovo under the VectorNet project to determine the distribution of *Culex tritaeniorhynchus*, *Cx. modestus*, *Cx. theileri* and *Cx. perexiguus* in Bulgaria. In a total of six field catches of mosquitoes, 746 specimens were collected, of which only one from Haskovo district belonged to the species *Cx. Theileri*. A total of 10 laboratory investigations on insecticidal and repellent efficacy of larvicides, space-spray and contact aerosols against vectors of infections (mosquitoes, flies) were conducted.

**НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ЗООАНТРОПОНОЗИ С
ЕПИДЕМИЧЕН РИСК, НОВИ ИНФЕКЦИИ И УПРАВЛЕНИЕ НА БИОРИСКА -
2025 (НРЦ ЗЕРНИ-УБ)**

*И. Христова¹, И. Томова¹, П. Генова¹, Б. Цафарова¹, Н. Цветкова¹, И. Иванов¹, Е.
Георгиева¹, Н. Корсун¹, В. Толчков¹, Е. Панайотова¹, Л. Горянова¹, Й. Добринова¹, И.
Трифорова¹, Е. Кънева¹, Н. Миткова¹, М. Николова¹, Т. Лазарова¹, В. Левтерова¹, И.
Симеоновски¹*

¹Национален център по заразни и паразитни болести

Зооантропонозите са голяма група инфекции, включително заболявания причиняващи епидемични взривове с последствия не само за общественото здравеопазване, но и в социално-икономически план. Причинителите на някои зооантропонози са микроорганизми от Рискови Гупи 3 и 4, а част от тях биха могли да се използват като биотерористични агенти. НРЦ ЗЕРНИ-УБ поддържа готовност за своевременна и компетентна реакция при необходимост от детекция и на подобни патогени. През 2025 няма потвърдени случаи на антракс, туларемия, чума, птичи грип, MERS-CoV, Ебола и Марбург. Свързани с клъстери на бруцелоза при животни са 5 случая на заболяване при хора. При 48 лица е доказана остра форма на инфекция от Ку-треска чрез доказване на anti-*C. burnetii* IgM/IgG phase II антитела и при 15 лица – чрез доказване на ДНК на *C. burnetii*. Пациентите са от 9 града в страната. През 2025 г. не са регистрирани епидемични взривове от Ку-треска. За годината ХТБС е доказана при 4 пациента, а ККХТ – при 1. Нотифицирани са 12 случая на трихинелоза от два епидемични взрива в различни области. Регистрирани са 114 болни с ехинококоза. Изготвен е анализ на зоонозните заболявания с епидемичен риск, регистрирани и съобщени през 2024 г. Специалисти на НРЦ ЗЕРНИ-УБ са участвали активно в разработването на научни проекти, актуализиране на методични указания за мрежата, наредби на МЗ, експертни съвети. Активно е и сътрудничеството към съответните мрежи на ECDC и WHO. НРЦ в състава на НРЦ ЗЕРНИ-УБ, успешно участва 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 различни специалности в инфектологията. Разнообразната дейност на НРЦ ЗЕРНИ-УБ през изтеклата година бе популяризирана чрез редица публикации и участия в и конгреси.

**NATIONAL REFERENT CENTER OF ZOOSES WITH EPIDEMIC RISK, NEW
INFECTIONS AND BIOHAZARD MANAGEMENT – 2025 (NRC ZERNI-BM)**

*I. Christova¹, I. Tomova¹, P. Genova¹, B. Tsafarova¹, N. Tsvetkova¹, I. Ivanov¹, E. Georgieva¹,
N. Korsun¹, V. Tolchikov¹, E. Panayotova¹, L. Goryanova¹, Y. Dobrinova¹, I. Trifonova¹, E.
Kaneva¹, N. Mitkova¹, M. Nikolaova¹, T. Lasarova¹, V. Levterova¹, I. Simeonovski¹*

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

Zoonoses are a large group of infections, including diseases that may cause outbreaks with severe public health and socio-economic consequences. The causative agents of some zoonoses are microorganisms from Risk Groups 3 or 4 and several of them could be used as bioterroristic agents. NRC ZERNI-BM maintained preparedness for timely and competent reaction for detection of such pathogens. There were no confirmed cases of anthrax, tularemia, plague, avian flu, MERS-CoV, Ebola, and Marburg in 2025. Five cases of brucellosis in humans associated with clusters of the disease in animals were registered. In 48 persons, an acute form of Q fever was detected by proving anti-*C. burnetii* IgM/IgG phase II antibodies and in 15 persons – by positive *C. burnetii* DNA. The patients are from 9 regions in the country. There were no epidemic outbreaks of Q fever in 2025. HFRS was proven in 4 patients, and CCHF – in 1. Trichinellosis was reported in 12 cases from two epidemic outbreaks in different districts. Echinococcosis was registered 114 patients. Analysis of zoonotic diseases with epidemic risk registered and reported in Bulgaria during 2025 was prepared. NRC ZERNI-BM experts participated actively in the development of scientific projects. They were also active collaborators to the respective networks within ECDC and WHO. NRLs from ZERNI-BM participated successfully in several international EQAs and conducted training courses for colleagues from the country. The results from various NRC ZERNI-BM activities during 2025 were presented in a number of articles and congresses.

**НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ИНФЕКЦИИ, ПРЕДАВАНИ С
ХРАНИ И ВОДИ (НРЦ-ИПХВ), АНАЛИЗ НА ЗАБОЛЯЕМОСТТА, 2025 Г.**

*И. Георгиева¹, Х. Даскалов², Г. Каменов¹, Н. Цветкова¹, М. Павлова¹, А. Дечева¹, А.
Стоянова¹, В. Петкова¹, Р. Стоянова¹, Т. Тенев¹, Е. Голкочева-Маркова¹, Н.
Владимирова¹, А. Минкова¹, Е. Тасева¹, Н. Бранкова¹, Р. Борисова¹, М. Виденова¹, Г.
Николов¹, Е. Гюрова², Г. Крумова-Вълчева², М. Миланов², Г. Матева²*

*¹Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София, ²Национален
център по безопасност на храните (НЦБХ), Национален диагностичен научно-
изследователски ветеринарномедицински институт (НДНИВМИ), София*

ЦЕЛ: Анализ на заболяемостта от инфекции с хранителен и воден произход в България за 2025 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Използвани са данните от годишния анализ на отдел “Епидемиология”, данните на отделите “Микробиология”, Вирусология” и “Паразитология” на НЦЗПБ и данните на НЦБХ към НДНИВМИ. Анализът е по нозологични единици съгласно изискванията на Наредба № 21/18.07.2005 г. на МЗ.

РЕЗУЛТАТИ: През 2025 г. чревните инфекции заемат 29,25% от регистрираните случаи на остри заразни болести (без COVID-19) по хората в страната. Водеща остава групата на острите ентероколити и гастроентерити (77,7% от всички инфекциозни чревни заболявания). Регистрирани са 24 смъртни случая, 26,4% от всички починали от заразни болести (без COVID-19, грип и ОРЗ, туберкулоза, СПИН и полово предавани инфекции). Общият леталитет за чревните инфекции е 0,21%. Заболяемостта е както следва: ботулизъм – 0,02 ‰ (през 2024 г. - 0), коремен тиф/паратиф – 0,02 ‰ (през 2024 г. - 0,02 ‰),

гастроентерит/ентероколит – 137,18%000 (148,10%000 през 2024 г.), шигелоза – 0,95%000 (1,21%000 през 2024 г.), йерсиниоза 0,23%000 (0,28%000 през 2024 г.), кампилобактериоза – 8,09%000 (5,38%000 през 2024 г.), колиентерити (ешерихиози) – 5,03%000 (5,86%000 през 2024 г.), салмонелоза – 11,95%000 (14,72%000 през 2024 г.), инфекции, предизвикани от *E. Coli*, продуциращи Shiga/Vero токсини - 0,03%000 (0,09%000 през 2024 г.). Заболяемостта от ротавирусна инфекция е 13,14%000 (17,24%000 през 2024 г., 9,72%000 през 2023 г., 12,03%000 през 2022 г., 4,31%000 през 2021 г. и 6,34%000 през 2020 г.). Заболяемостта от вирусен хепатит А е с тенденция за намаление – 1,58 %000 (0,70 %000 през 2024 г., 2,92%000 през 2023 г., 4,43%000 през 2022 г., 10,45 %000 през 2021 г.). Регистрирани са 162 случая на вирусен хепатит Е, заболяемост 2,52%000 (2,06%000 за 2024 г., 1,97%000 за 2023 г.). От паразитните инвазии, предавани с храна и вода за гиардиаза са изследвани общо 437 496 лица, като установената екстензинвазия е 0,16%, заболяемост 7,98%000. Децата от организирани детски колективи и начална училищна възраст с гиардиаза са 187 или 26,7% от регистрираните случаи през годината. За криптоспоридиоза са изследвани общо 30 пациенти по клинични показания и не са установени положителни за тази паразитоза през 2025 г. Продължава тенденцията най-често в хранителните продукти да се изолира *S. Infantis*, следвана от *S. Derby* и *S. Typhimurium*. Значително се увеличава количеството на изследваните проби за наличие на веротоксигенни *E. coli* и стафилококов ентеротоксин. Засилва се и интересът от изследване на замразени плодове за откриване на норовируси и вируса на хепатит А в тях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Анализът на данните показва, че през последните две години се отчита по-висока заболяемост от чревни инфекции в сравнение с предходните четири години. През 2025 г. са регистрирани 11 371 случая, заболяемост 176,64%000 (2024 г. - 12435 случая, заболяемост 192,9%000, 2023 г. – 8829 случая, заболяемост 136,9%000 ; 2022 г. – 6702 случая, заболяемост 98, 0%000 ; 2021 г. – 3908 случая, заболяемост 56,50%000 и 6358 случая, заболяемост 91,46%000 през 2020 г.).

КЛЮЧОВИ ДУМИ: инфекции предавани с храна и вода, анализ, заболяемост

NATIONAL REFERENCE CENTER FOR FOOD- AND WATERBORNE DISEASES (NRC FWD), MORBIDITY ANALYSIS, 2025

I. Georgieva¹, H. Daskalov², G. Kamenov¹, N. Tsvetkova¹, M. Pavlova¹, A. Decheva¹, A. Stoianova¹, V. Petkova¹, R. Stoyanova¹, T. Tenev¹, E. Golkocheva-Mrkova¹, N. Vladimirova¹, A. Minkova¹, E. Taseva¹, N. Brankova¹, R. Borisova¹, M. Videnova¹, E. Gyurova², G. Krumova-Valcheva², M. Milanov², G. Mateva²

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, ²National Centre for Food Safety (NCFS), National Diagnostic Research Veterinary Institute (NDRVI)

AIM: To analyze the incidence rate of food- and waterborne infections in 2025.

MATERIALS AND METHODS: The annual report of the Epidemiology Department and the data obtained from the Microbiology, Virology, and Parasitology Departments of NCIPD and from the National Center for Food Safety at the NDRVI 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 2025, enteric infections comprised 29,25% of the totally registered acute infectious diseases among humans in Bulgaria. Acute enterocolitides and gastroenteritides remain the leading enteral infections (77.7%). In 2025, a total of 24 deaths were registered, (26.4% of all deaths of infectious diseases or 0.21% case fatality rate). Incidence rate of enteric infections is as follows: botulism – 0.02 %000 (0 in 2024), typhoid fever – 0.02 %000 (0.02 %000 in 2024), gastroenteritis/enterocolitis 137.18%000 (148.10%000 in 2024), shigellosis 0.95%000 (1.21%000 in 2024), yersiniosis 0.23%000 (0.28%000 in 2024), campylobacteriosis 8.09%000 (5.38%000 in 2024), colienteritis (escherichiosis) 5.03%000 (5.86%000 in 2024), salmonellosis 11.95%000 (14.72%000 in 2024), infections caused by Shiga/Vero toxin producing *E. coli* 0.03%000 (0.09%000 in 2024). Incidence rate of rotaviral gastroenteritis shows a increasing trend – 13.14%000 (17.24%000 in 2024; 9.72%000 in 2023; 12.03%000 in 2022; 4.31%000 in 2021 and 6.34%000 in 2020). Incidence rate of hepatitis A also reveals a decreasing trend – 1.58%000 (0.70%000 in 2024;

2.92%000 in 2023; 4.43%000 in 2022, 10.45%000 in 2021). There were 162 HEV cases, 2.52%000 (2.06%000 in 2024; 1.97%000 in 2023; 0.76 %000 in 2022; 0.67%000 in 2021 and 1.27%000 in 2020). Regarding foodborne and waterborne parasitic infections, a total of 437 496 individuals were tested for giardiasis, revealing an invasion extensiveness of 0.16% and an incidence rate of 7.98%000. Children in organized childcare groups and early school age accounted for 187 giardiasis cases, representing 26.7% of the total registered cases for the year. For cryptosporidiosis, a total of 30 patients were tested based on clinical indications, and no positive cases were detected for this parasitosis in 2025. The trend of *S. Infantis* being the most frequently isolated pathogen in food products continues, followed by *S. Derby* and *S. Typhimurium*. The number of samples tested for the presence of verotoxigenic *E. coli* and staphylococcal enterotoxin has increased significantly. There is also a growing interest in testing frozen fruits to detect noroviruses and hepatitis A virus.

CONCLUSION: The incidence rate of enteral infections in 2024/2025 increases as compared to the previous 4 years - 11371 cases, incidence 176.6%000; (2024 – 12435 cases, incidence 192.9%000; 2023 – 8829 cases, incidence 136.9%000; 2022 – 6702 cases, incidence 98.0%000; 2021 – 3908 cases, incidence 56.50%000; 2020 – 6358 cases, incidence 91.46%000, respectively).

KEYWORDS: food- and waterborne diseases, analysis, incidence rate

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

И. Алексиев¹, Т. Тенев¹, Е. Голкочева-Маркова¹, П. Великов¹, М. Христова-Савова¹, Р. Димитрова¹, А. Христова¹, А. Костадинова¹, А. Парицуева¹, Л. Григорова¹, И. Филипова¹, В. Левтерова¹, И. Трифонова¹, И. Иванов¹, И. Симеоновски¹, В. Миланова¹, Н. Цветкова¹, Р. Борисова¹, В. Якимова¹, Л. Маринова¹, Н. Владимирова¹, К. Петкова¹, А. Минкова¹, Р. Емилова¹, М. Николова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

Националният референтен център (НРЦ) по сексуално-предавани инфекции (СПИ) и вирусни хепатити е създаден през 2013 г. и обединява експерти от Националната референтна лаборатория по сексуално-предавани инфекции, Националната референтна лаборатория по молекулярна микробиология, Националната референтна лаборатория по имунология, Националната референтна лаборатория по хепатитни вируси, Националната референтна лаборатория по херпесни и онкогенни вируси, Националната референтна потвърдителна лаборатория по HIV, Националната референтна лаборатория „Диагностика на паразитозите“ и секция „Епидемиология, надзор и ранно оповестяване на инфекции“. Основната цел на НРЦ е да осигурява интегриран мултидисциплинарен подход към диагностиката, епидемиологичния надзор, превенцията и контрола на сексуално-предаваните инфекции и вирусните хепатити. Чрез прилагане на съвременни лабораторни и молекулярно-диагностични методи Центърът подпомага етиологичното уточняване на сложни случаи, разследването на епидемични взривове и прилагането на ефективни противоепидемични мерки. Дейността му се осъществява в тясно сътрудничество с лечебните заведения, Министерството на здравеопазването, регионалните здравни инспекции, Европейския център за профилактика и контрол върху заболяванията (ECDC) и Световната здравна организация (СЗО). НРЦ осъществява референтна, диагностична, експертно-консултативна, научноизследователска, обучителна и информационна дейност, като осигурява национална експертиза и методична подкрепа в областта на СПИ и вирусните хепатити. В настоящото съобщение са представени и анализирани резултатите от референтната диагностична дейност, имунологичния мониторинг и епидемиологичния надзор на най-разпространените бактериални и вирусни сексуално-предавани инфекции, както и на паразитозите, регистрирани през 2026 г. Обсъдени са също актуалните тенденции в епидемиологията, диагностиката и контрола на СПИ в България в контекста на актуалните европейски препоръки и тенденции.

NATIONAL REFERENCE CENTRE FOR SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS (STIS) AND VIRAL HEPATITIS

I. Alexiev¹, T. Tenev¹, E. Golkocheva-Markova¹, P. Velikov¹, R. Dimitrova¹, A. Hristova¹, A. Kostadinova¹, A. Partsuneva¹, L. Grigorova¹, I. Philipova¹, V. Levterova¹, I. Trifonova¹, I. Ivanov¹, I. Simeonovski¹, V. Milanova¹, N. Tsvetkova¹, R. Borisova¹, V. Yakimova¹, L. Marinova¹, N. Vladimirova¹, K. Petkova¹, A. Minkova¹, R. Emilova¹, M. Nikolova

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

The National Reference Centre (NRC) for Sexually Transmitted Infections (STIs) and Viral Hepatitis was established in 2013 and brings together experts from the National Reference Laboratory for Sexually Transmitted Infections, the National Reference Laboratory for Molecular Microbiology, the National Reference Laboratory for Immunology, the National Reference Laboratory of Hepatitis Viruses, the National Reference Laboratory of Herpesviruses and Oncogenic Viruses, the National Reference Confirmatory Laboratory of HIV, the National Reference Laboratory “Diagnosis of Parasitic Diseases”, and the Unit Epidemiology and Surveillance of Communicable Diseases. The primary objective of the NRC is to provide an integrated multidisciplinary approach to the diagnosis, epidemiological surveillance, prevention and control of sexually transmitted infections and viral hepatitis. Through the implementation of advanced laboratory and molecular diagnostic methods, the Centre supports the accurate aetiological diagnosis of complex cases, the investigation of infectious disease outbreaks, and the implementation of effective public health control measures. Its activities are carried out in close collaboration with healthcare institutions, the Ministry of Health, the Regional Health Inspectorates, the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), and the World Health Organization (WHO). The NRC performs reference and diagnostic activities, provides expert consultation, conducts research and training, and delivers information services, thereby ensuring national expertise and methodological support in the field of sexually transmitted infections and viral hepatitis. This report presents and analyses the results of reference diagnostic activities, immunological monitoring, and epidemiological surveillance of the most common bacterial and viral sexually transmitted infections, as well as parasitic infections, recorded in 2025. Current trends in the epidemiology, diagnosis and control of STIs in Bulgaria are also discussed in the context of contemporary European recommendations and epidemiological trends.

ДОКЛАД ЗА ДЕЙНОСТТА НА НАЦИОНАЛНИЯ РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ИНФЕКЦИИ, СВЪРЗАНИ С МЕДИЦИНСКОТО ОБСЛУЖВАНЕ (НРЦ-ИСМО) ПРЕЗ 2025Г.

Е. Добрева¹, Н. Владимирова¹, И. Н. Иванов¹, Р. Христова¹, И. Живкова¹, Д. Дончев¹, И. Стойков¹, И. Томова¹, К. Нзок-Стойкова¹, М. Павлова¹, А. Дечева¹, Л. Маринова¹, М. Николова¹, С. Йорданова¹, Г. Гетова¹, Т. Тенев¹, Е. Голкочева-Маркова¹, С. Крумова¹, И. Георгиева¹, Н. Цветкова¹, В. Якимова¹

¹Национален Център по Заразни и Паразитни болести

През 2025 г. са анализирани данни за 2 630 271 пациенти, изписани от лечебните заведения в страната. Антибиотично лечение е отчетено при 35,72% от тях, а честотата на ИСМО е 0,57%. Най-често регистрираните ИСМО са инфекции на хирургичното място (20,61%) и инфекции на пикочните пътища (19,51%).

Проведени са изследвания за идентификация и антибиотична чувствителност на болнични изолати, като най-разпространени са мултирезистентните *Klebsiella pneumoniae* (57,27%). От 2025 г. лечебните и здравните заведения извършват изследвания на медицински изделия и водни системи за наличие на легионелна контаминация, с цел оценка на риска от възникване на легионерна болест,

асоциирана с медицинското обслужване. Предварителните данни показват положителни резултати за *L. pneumophila* в 57% от изследваните обекти. В НРЛ „Хепатитни вируси“ е проследено носителството на HBsAg и anti-HCV при 52 медицински специалисти от различни лечебни и здравни заведения в страната, както и е оценен имунитетът срещу вируса на хепатит В при 27 медицински служители. Общо 1 854 здравни работници са изследвани за имунитет срещу морбили и рубеола в НРЛ „Морбили, паротит и рубеола“. IgG антитела срещу морбили са установени при 86,14% от изследваните, а защитен имунитет срещу рубеола – при 95,15%. В НРЛ „Диагностика на паразитози“ е проведено проучване за носителство на *Pneumocystis jirovecii* сред клинично здрави медицински и немедицински лица, контактни на пациенти с пневмоцистна пневмония, като при всички изследвани лица резултатите са отрицателни. През 2025 г. членове на НРЦ-ИСМО участваха в работна група към Министерството на здравеопазването за изготвяне на проект за изменение и допълнение на Наредба №2 относно реда за организация на профилактиката и контрола на вътреболничните инфекции. Анализирани са данни от тематична проверка на Регионалните здравни инспекции за прилагане на стандартните предпазни мерки и са обобщени в доклад до МЗ. Специалистите от лаборатория „Дезинфекция и стерилизация“ извършиха 47 изпитвания за оценка на ефективността на дезинфектанти за повърхности и хигиена на ръцете.“

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Инфекции, свързани с медицинското обслужване (ИСМО)

REPORT ON THE ACTIVITY OF THE NATIONAL REFERENCE CENTRE FOR HEALTHCARE-ASSOCIATED INFECTIONS (NRC-HAI) IN 2025

*E. Dobрева¹, N. Vladimirova¹, I. N. Ivanov¹, R. Hristova¹, I. Zhivkova¹, D. Donchev¹, I. Stoikov¹,
I. Tomova¹, K. Ngoc-Stoikova¹, M. Pavlova¹, A. Detcheva¹, M. Nikolova¹, S. Yordanova¹, G.
Getova¹, T. Tenev¹, E. Golkocheva-Markova¹, S. Krumova¹, I. Georgieva¹, N. Tsvetkova¹, V.
Qkimova¹*

¹*National Centre of Infectious and Parasitic Diseases*

In 2025, data from 2,630,271 patients discharged from healthcare facilities nationwide were analysed. Antibiotic treatment was reported in 35.72% of patients, while the rate of healthcare-associated infections (HAIs) was 0.57%. The most frequent HAIs were surgical site infections (20.61%) and urinary tract infections (19.51%). Hospital isolates were analysed for identification and antimicrobial susceptibility, with multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* being the most prevalent (57.27%). From 2025, healthcare facilities were required to test water systems and medical devices for *Legionella* spp. to assess the risk of healthcare-associated Legionnaires' disease. Preliminary results showed *L. pneumophila* positivity in 57% of the facilities tested. The NRL for Hepatitis Viruses tested 52 healthcare workers for HBsAg and anti-HCV and assessed hepatitis B immunity in 27 staff members. A total of 1,854 healthcare workers were tested for immunity to measles and rubella at the NRL for Measles, Mumps and Rubella. Protective IgG antibodies were detected in 86.14% for measles and 95.15% for rubella. The NRL for Parasitic Diseases investigated *Pneumocystis jirovecii* carriage among healthcare and non-healthcare personnel exposed to patients with *Pneumocystis pneumonia*; all results were negative. In 2025, NRC-HAI experts participated in a Ministry of Health working group on amendments to Ordinance No. 2 regarding prevention and control of healthcare-associated infections. Data from a Regional Health Inspectorate inspection on the implementation of standard precautions were analysed and summarised for the MoH. The Disinfection and Sterilisation Laboratory performed 47 evaluations of disinfectant efficacy for surface and hand hygiene products.

KEYWORDS: Healthcare-associated infections (HAIs)

НАЦИОНАЛЕН РЕФЕРЕНТЕН ЦЕНТЪР ПО ВАКСИНОПРЕДОТВРАТИМИ ИНФЕКЦИИ: ГОДИШЕН ДОКЛАД ЗА ДЕЙНОСТТА ПРЕЗ 2025 Г.

*Н. Владимирова¹, С. Крумова¹, И. Георгиева¹, А. Стоянова¹, Т. Тенев¹ Е. Голгочева-
Маркова¹, Р. Стефанова¹, Ч. Исмаилова¹, В. Левтерова¹ А. Дечева¹, Н. Бранкова¹, И.
Симеоновски¹, М. Николова¹, Г. Николов¹*

¹НЦЗПБ, Национален референтен център по ваксинапредотвратими инфекции

ЦЕЛ: да представи работата на Националния референтен център по ваксинапредотвратими инфекции (НРЦ-ВПИ) по епидемиологичния и лабораторния надзор, както и по профилактиката на ВПИ през 2025 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: обобщена е информацията относно изпълнението на противоепидемичната, научната, учебната и организационно-методичната дейност, предвидени в годишния план на НРЦ-ВПИ за 2025 г.

РЕЗУЛТАТИ:

1. Анализ на ваксинапредотвратимите болести в България (за 2024 г.);
2. Анализ на имунизациите и имунизационния обхват с профилактични ваксини в България (за 2024 г.);
3. Референтна лабораторна диагностика за доказване причинители на ВПИ, подлежащи на лабораторен надзор;
4. Подготвени и разпространени информационни материали за Европейската имунизационна седмица в България (2025 г.);
5. Подготвяне на периодична информация от надзора на ВПИ в страната и изпращане към Министерство на здравеопазването;
6. Анализ на актуалното състояние по елиминацията на морбили и рубеола за 2024 г. и предоставяне на НВК към МЗ и на ЕРБ на СЗО; Работа с регионалния офис на СЗО за оценка на елиминацията на двете инфекции в България;
7. Интензивна дейност с ECDC – участие в уебинари по тема ваксини и ваксинации и лабораторен надзор; докладване в EpiPulse/TESSy по протокол на случаи на ВПИ;
8. Представяне на резултатите от научната работа по ВПИ в научни форуми;
9. Участие на експертите от НРЦ-ВПИ в следдипломното обучение по Програмата за СДО на НЦЗПБ;
10. Предоставяне на информация за разпространението на конкретни ВПИ и за начините за предпазване от тях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Работата на НРЦ-ВПИ е в подкрепа на здравните власти в превенцията и управлението на ВПИ.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: ваксинапредотвратими болести, надзор, имунизации

NATIONAL REFERENCE CENTER FOR VACCINE-PREVENTABLE INFECTIONS: ANNUAL REPORT OF ACTIVITIES IN 2025

*N. Vladimirova¹, S. Krumova¹, I. Georgieva¹, A. Stoyanova¹, T. Tenev¹, E. Golkotcheva-
Markova¹, R. Stefanova¹, Ch. Ismailova¹, V. Levterova¹ A. Decheva¹, N. Brankova¹, I.
Simeonovski¹, M. Nikolova¹, G. Nikolov¹*

¹NCIPD, National Reference Center for Vaccine Preventable Diseases

AIM: to present the work of the National Reference Centre for Vaccine-Preventable Infections (NRC-VPI) on the epidemiological and laboratory surveillance, as well as prevention of VPI in 2025

MATERIALS AND METHODS: information on the implementation of the epidemiological, scientific, educational and organizational and methodological activities foreseen in the annual plan of the NRC-VPI for 2025 is summarized

RESULTS:

1. Analysis of vaccine-preventable diseases in Bulgaria (2024);
2. Analysis of immunization coverage with preventive vaccines in Bulgaria (for 2024);
3. Reference laboratory diagnostics to prove causative agents of VPIs subject to laboratory surveillance;
4. Information materials prepared and distributed for the European Immunization Week in Bulgaria (2025);
5. Preparation of periodic information on VPI surveillance in the country and dissemination to the Ministry of Health;
6. Analysis of the current status of measles and rubella elimination for 2024 and submission to the NVC at the MoH and to the WHO ERB; Work with the WHO regional office to assess the elimination of the two infections in Bulgaria;
7. Intensive work with ECDC - participation in webinars on vaccines and vaccination, and lab surveillance; reporting in EpiPulse/TESSy on protocol of VPI cases;
8. Presentation of the results of scientific work on VPIs in scientific forums;
9. Participation of NRC-VPI experts in the postgraduate training of the annual NCIPD Continuous Professional Development education program;
10. Provision of information on the spread of specific VPIs and ways to prevent them

CONCLUSION: The work of NRC-VPI supports health authorities in the prevention and management of VPIs.

KEYWORDS: vaccine preventable infections, surveillance, immunizations

СЕСИЯ II – МИКРОБНА ЛЕКАРСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ

СЪВРЕМЕННА ДИАГНОЗА И ЛЕЧЕНИЕ НА ПНЕВМОНИИТЕ, ПРИДОБИТИ В ОБЩЕСТВОТО, В ДЕТСКАТА ВЪЗРАСТ

П. Переновска¹

¹Клиника по педиатрия, УМБАЛ “Александровска“

Пневмонията е възпалително заболяване на белия дроб, характеризиращо се с консолидация на паренхимата, дължащо се на натрупване на ексудат в алвеоларните пространства с асоциирано възпаление и на околната интерстициална тъкан **Пневмонията, придобита в обществото /ППО/** се дефинира като поява на симптоми и белези на пневмония при иначе здрави индивиди, инфектирани извън болнично заведение. При класическата лобарна пневмония се натрупва ексудат в алвеолите с директното му разпространение в съседни алвеоларни пространства до възникване на конфлуирални инфекциозни огнища, ограничени в рамките на засегнатия лоб. В световен мащаб ППО остава най-честата причина за смърт в детска възраст - около 50% от смъртните случаи във възрастовата група до 5 годишна възраст.

Пневмонията се причинява от различни инфекциозни агенти, включително вируси, бактерии и гъбички. Сред тях водещ причинител е *S. pneumoniae*, а RSV е най-честият вирусен причинител на пневмония при деца. *Mycoplasma pneumoniae* е атипичен бактерии, проявяващ се обичайно като лека самоограничаваща се респираторна инфекция. В ~10% от инфектираните причинява пневмония, която в ~ 20% от случаите е придружена от парапневмоничен плеврален излив.

Пневмококвата пневмония остава водеща причина за заболяемост и хоспитализация при децата, въпреки въвеждането на конюгатните пневмококови ваксини и напредъка в антимикробната терапия.

Диагнозата на пневмонията в детската възраст се поставя най- често клинично, повечето препоръки са за рентгенография на гръдния кош само в случаи на по-тежко или атипично клинично протичане. Клиничните симптоми отразяват тежестта на пневмонията: тираж ноздрено дишане; цианоза, тежък респираторен дистрес синдром, необходимост от механична вентилация, необяснима метаболитна ацидоза, хипотония, нарушения в съзнанието –тежко заболяване.

Индикации за хоспитализация: сатурация на кислорода под 92%, пъшкащо дишане, апнеи, тахипнея над 70/мин за кърмачетата и над 50/мин за по-големите деца, затруднено дишане и тираж, нарушения в храненето и дехидратация, липса на ефект от започнат перорален антибиотик, кърмачета под 6 месеца със съмнение за бактериална ППО, придружаващи заболявания, невъзможност на семейството да провежда адекватно лечение у дома. Въпреки утвърдените протоколи, емпиричната антибиотична терапия на острите пневмонии в детска възраст и днес е предизвикателство за педиатъра.

Профилактиката на пневмонията при деца е основен компонент от стратегията за намаляване на детската смъртност.

MODERN DIAGNOSIS AND TREATMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDHOOD

Prof. P. Perenovska¹

¹*Department of Pediatrics, University Hospital "Aleksandrovska"*

Pneumonia is an inflammatory disease of the lung, characterized by consolidation of the parenchyma due to the accumulation of exudate in the alveolar spaces with associated inflammation and the surrounding interstitial tissue. **Community-acquired pneumonia /CAP/** is defined as the appearance of symptoms and signs of pneumonia in otherwise healthy individuals infected outside a hospital setting. In classic lobar pneumonia, exudate accumulates in the alveoli with its direct spread to adjacent alveolar spaces until confluent infectious foci occur, limited within the affected lobe. Worldwide, CAP remains the most common cause of death in childhood - about 50% of deaths in the age group up to 5 years.

Pneumonia is caused by a variety of infectious agents, including viruses, bacteria, and fungi. Among them, the leading cause is *S. pneumoniae*, and RSV is the most common viral cause of pneumonia in children. *Mycoplasma pneumoniae* is an atypical bacterium that usually presents as a mild, self-limiting respiratory infection. It causes pneumonia in ~10% of those infected, which in ~20% of cases is accompanied by parapneumonic pleural effusion.

Pneumococcal pneumonia remains a leading cause of morbidity and hospitalization in children, despite the introduction of pneumococcal conjugate vaccines and advances in antimicrobial therapy.

The diagnosis of pneumonia in childhood is most often made clinically, with most recommendations for chest radiography only in cases of more severe or atypical clinical course. Clinical symptoms reflect the severity of pneumonia: nasal breathing; cyanosis, severe respiratory distress syndrome, need for mechanical ventilation, unexplained metabolic acidosis, hypotension, impaired consciousness - severe illness.

Indications for hospitalization: oxygen saturation below 92%, groaning breathing, apneas, tachypnea above 70/min for infants and above 50/min for older children, difficulty breathing and circulation, feeding disorders and dehydration, lack of effect of oral antibiotics, infants under 6 months with suspected bacterial PPO, concomitant diseases, inability of the family to provide adequate treatment at home. Despite the established protocols, empirical antibiotic therapy of acute pneumonia in childhood is still a challenge for the pediatrician today.

Prevention of pneumonia in children is a major component of the strategy for reducing child mortality.

ПРИЛОЖЕНИЕ НА AUTOF MS В БЪРЗАТА МИКРОБИОЛОГИЧНА ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ИЗОЛАТИ ОТ АМБУЛАТОРНИ ПАЦИЕНТИ

М. Мурджева^{1,2}, П. Гарджева^{1,3}

¹ГБ-СМДЛ "Зинвест" - Пловдив, ²Медицински университет-Плевен, Факултет по фармация, Катедра по микробиология и вирусология, ³Медицински университет-Пловдив, Медицински факултет, Катедра по медицинска микробиология и имунология "чл.-кор. проф. Ел. Янев"

ЦЕЛ: Бързата идентификация на клинично значими микробни изолати е от критично значение за диагнозата на инфекцията и стартирането на навременна антимикробна терапия. Проучването има за цел да сравни възможностите за точно определяне на микробни изолати с AutofTX8 – ново поколение компактна MALDI-TOF система, в сравнение с рутинната микробиологична идентификация.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Сравнени са 545 изолата на пациенти в ГБ-СМДЛ „Зинвест“ - Пловдив, идентифицирани чрез класически биохимични и морфологични тестове и чрез анализ на протеинов профил с Autof TX8 (Autobio Diagnostics) за периода март-юни 2026 г.

РЕЗУЛТАТИ: От общо 545 изолата с Autof TX8 се идентифицираха коректно 529 (97.1%). В 28.4% изолатите бяха от урини, следвани от генитални секрети (вагинални, цервикални, уретрални и еякулати - 26.3%), назофарингеални (25.1%), рани (6.8%), ушни (4.4%), очни (3.2%) и единични храчки и фецес. Системата не успя да определи някои *K.pneumoniae* (в 1.7 % от случаите) и единични *E.aerogenes*, *C.freundii*, *C.albicans*, *S.pneumoniae*, вероятно поради мукозните колонии, които бяха идентифицирани с рутинни биохимични тестове. Улеснение с MALDI-TOF Autof TX8 е бързата идентификация на изолати, които трудно се разпознават с класически микробиологични тестове, напр. *Ochrobactrum anthropi*, *Brevibacterium ravenburgense*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S.auricularis*, *S.nepalensis*, *N.perflava*, *N.macacae*, *A.ursingii*, *A.pittii*, *A.bereziniae*, *A.johnsonii*, *A.geminorum*, *P.azothoformans*, *P.oryzihabitans*, *P.koreensis*, *P.lundensis*, *E.hormaechei*, *Saprochaete clavata*, *Magnusiomyces capitatus*, *Candida inconspicua*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Технологиата с Autof TX8 съкращава времето за идентификация на клинично значими бактерии и гъбички от дни на минути, което подпомага адекватното и бързо стартиране на антимикробна терапия там, където е необходимо, или ограничава прилагането на лечение с антимикробни средства, ако идентифицираният изолат няма клинична значимост.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: MALDI-TOF, Autof TX8, микробна идентификация

APPLICATION OF AUTOF MS IN THE RAPID MICROBIOLOGICAL IDENTIFICATION OF ISOLATES FROM OUTPATIENTS

M. Murdjeva^{1,2}, P. Gardjeva^{1,3}

¹German-Bulgarian Medical Laboratory "Synwest"-Plovdiv, ²Medical University-Pleven, Faculty of Pharmacy, Department of Microbiology and Virology, ³Medical University of Plovdiv, Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Immunology

AIM: Rapid identification of clinically significant microbial isolates is critical for the diagnosis of infection and the initiation of timely antimicrobial therapy. This study aims to compare the capabilities for accurate identification of microbial isolates with AutofTX8 - a new generation compact MALDI-TOF system, compared to routine microbiological identification.

MATERIALS AND METHODS: 545 isolates of outpatients at the Synwest German-Bulgarian Medical Laboratory - Plovdiv, identified by classical biochemical and morphological tests and by protein profile analysis with Autof TX8 (Autobio Diagnostics) between March and June 2026, were compared.

RESULTS: Out of a total of 545 isolates, 529 (97.1%) were correctly identified with Autof TX8. In 28.4% isolates came from urine samples, followed by genital secretions (vaginal, cervical, urethral and ejaculate - 26.3%), nasopharyngeal swabs (25.1%), wounds (6.8%), ear (4.4%), eye swabs (3.2%) and single sputum and feces. The system failed to identify some *K. pneumoniae* (in 1.7% of cases) and single *E. aerogenes*, *C. freundii*, *C. albicans*, *S. pneumoniae*, probably due to mucosal colonies that were determined by routine biochemical tests. Autof TX8 MALDI-TOF facilitates rapid identification of isolates that are difficult to recognize with classical microbiological tests, e.g. *Ochrobactrum anthropi*, *Brevibacterium ravenburgense*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S.auricularis*, *S.nepalensis*, *N.perflava*, *N.macacae*, *A.ursingii*, *A.pittii*, *A.bereziniae*, *A.johnsonii*, *A.geminorum*, *P.azothoformans*, *P.oryzihabitans*, *P.koreensis*, *P.lundensis*, *E.hormaechei*, *Saprochaete clavata*, *Magnusiomyces capitatus*, *Candida inconspicua*.

CONCLUSION: Autof TX8 technology reduces the time to identify clinically significant bacteria and fungi from days to minutes, which supports adequate and rapid initiation of antimicrobial therapy where necessary, or limits the use of antimicrobial therapy if the identified isolate is not clinically significant.

KEYWORDS: MALDI-TOF, Autof TX8, microbial identification

АКТИВНОСТ НА НОВИЯ ПЛЕВРОМУТИЛИНОВ АНТИБИОТИК, LEFAMULIN, ВЪРХУ КЛИНИЧНИ ИЗОЛАТИ НА *HELICOBACTER PYLORI*

Людмила Боянова¹, Лилия Йорданова Боянова¹, Райна Гергова¹, Румяна Марковска¹

¹Катедра по медицинска микробиология, Медицински университет - София

ЦЕЛ: Резистентността към антибиотици на *Helicobacter pylori* непрекъснато се увеличава, което значително усложнява лечението на свързаните с него чести заболявания. Лефамулинът е нов антибактериален агент и първият антибиотик от класа на плевромутилините, който действа чрез инхибиране на синтеза на бактериални протеини. Лекарството е одобрено както от Агенцията по храните и лекарствата, така и от Европейската агенция по лекарствата за лечение на бактериална пневмония, придобита в обществото. Лефамулинът е наличен както като парентерални, така и в перорални форми и е активен срещу грам-положителни и някои грам-отрицателни бактерии.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвахме активността на lefamulin срещу 91 клинични изолати *H. pylori* от възрастни симптоматични пациенти като използвахме тест ленти за МПК.

РЕЗУЛТАТИ: Стойностите на МПК₅₀, МПК₉₀ и границите на МПК бяха съответно 0.25, 2 и 0.016– ≥256 mg/l за lefamulin, 4, ≥256 и 0.016– ≥256 mg/l за clarithromycin и 0.75, ≥32 и 0.002– ≥32 mg/l за levofloxacin. Срещу 61 изолата, резистентни към clarithromycin (с МПК >0.25 mg/l), МПК₅₀ и МПК₉₀ за лефамулина бяха 0.5 съотв. 4 mg/l. Срещу 40-те изолата, резистентни към levofloxacin (МПК >1 mg/l), МПК₅₀ и МПК₉₀ на лефамулина бяха 0.25 и съотв. 0.75 mg/l.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Новият плевромутилинов антибиотик превъзхождаше *in vitro* както кларитромицина, така и левофлоксацина срещу изолатите *H. pylori*. Потенциалната му полезност за лечение на инфекции с *H. pylori*, резистентни на макролиди и флуорохинолони, и особено на тези с двойна резистентност към антибиотиците от двата класа, използвани в режимите на ерадикация, оправдава по-нататъшното проучване на лефамулина. Употребата на нови антибиотици може да предложи терапевтични ползи, ако резултатите *in vitro* бъдат потвърдени в последващи клинични изпитвания.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Helicobacter pylori*; чувствителност; нови антибиотици

ACTIVITY OF THE NEW PLEUROMUTILIN ANTIBIOTIC, LEFAMULIN, ON CLINICAL *HELICOBACTER PYLORI* ISOLATES

Lyudmila Boyanova¹, Liliya Yordanova Boyanova¹, Raina Gergova¹, Rumyana Markovska¹

¹Department of Medical Microbiology, Medical University - Sofia

AIM: Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* is steadily increasing, which significantly complicates the treatment of the frequent diseases associated with it. Lefamulin is a newer antibacterial agent, and the first antibiotic in the pleuromutilin class that acts by suppressing bacterial protein synthesis. The drug has been approved by both the Food and Drug Administration and the European Medicines Agency for treating community-acquired bacterial pneumonia. Lefamulin is available in both parenteral and oral formulations and is active against gram-positive and some gram-negative bacteria.

MATERIALS AND METHODS: We investigated the activity of lefamulin against 91 clinical *H. pylori* isolates from symptomatic adult patients by using MIC test strips.

RESULTS: The MICs₅₀, MICs₉₀, and MIC ranges were 0.25, 2, and 0.016–≥256 mg/l for lefamulin, 4, ≥256, and 0.016–≥256 mg/l for clarithromycin, and 0.75, ≥32, and 0.002–≥32 mg/l, respectively, for levofloxacin. Against the 61 clarithromycin resistant isolates (MICs, >0.25 mg/l), lefamulin MICs₅₀ and MICs₉₀ were 0.5 mg/l and 4 mg/l. Against the 40 levofloxacin resistant isolates (MICs, >1 mg/l), lefamulin MICs₅₀ and MICs₉₀ were 0.25 mg/l and 0.75 mg/l.

CONCLUSION: The new pleuromutilin antibiotic outperformed *in vitro* both clarithromycin and levofloxacin against *H. pylori* isolates. Its potential usefulness in treating *H. pylori* infections resistant to macrolides and fluoroquinolones, and especially those with dual resistance to the antibiotics from both classes used in eradication regimens, justifies further investigation of lefamulin. The use of new antibiotics may offer therapeutic benefits if the *in vitro* results are confirmed in subsequent clinical trials.

KEYWORDS: *Helicobacter pylori*; susceptibility; new antibiotics

АНТИМИКРОБНА *IN VITRO* АКТИВНОСТ НА ТРИ НОВООДОБРЕНИ АНТИБИОТИКА СРЕЩУ НОЗОКОМИАЛНИ КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНИ ИЗОЛАТИ *ACINETOBACTER BAUMANNII* С МНОЖЕСТВЕНА/ЕКСТЕНЗИВНА ЛЕКАРСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ (2014–2024)

Т. Стратева¹, А. Стратев^{2,3}, С. Атанасова¹, С. Пейков^{1,4,5}

¹Медицински университет – София, Медицински факултет, Катедра по медицинска микробиология, ²УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ – София, Клиника по анестезиология и интензивно лечение, ³Медицински университет – София, Медицински факултет, Катедра по анестезиология и интензивно лечение, ⁴Софийски университет „Св. Климент Охридски“, Биологически факултет, Катедра "Генетика", ⁵София Тех Парк, Лаборатория "БиоИнфоТех"

ЦЕЛ: Настоящото проучване имаше за цел да оцени *in vitro* активността на cefiderocol (CFDC), sulbactam-durlobactam (SUL-DUR) и eravacycline (ERV) срещу 60 карбапенем-резистентни изолата *Acinetobacter baumannii* (CRAB) с множествена/екстензивна лекарствена резистентност (MDR/XDR), получени от български университетски болници (2014–2024).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Бяха извършени идентификация чрез автоматизирани системи, тестове за определяне на чувствителност към антимикробни лекарствени средства и целогеномно сквениране.

РЕЗУЛТАТИ: Всички изследвани изолата *A. baumannii* демонстрираха висока степен на резистентност както към imipenem, така и към meropenem, с МПК стойности над 16 mg/L. Разпределението на профилите на антимикробна резистентност (AMP) беше както следва: XDR + трудна за лечение резистентност – 70%, XDR – 23.3%, и MDR – 6.7%. Придобити карбапенем-хидролизиращи β-лактамази от клас D, в това число OXA-23 (група OXA-23-like), OXA-72 (група OXA-24/40-like) и OXA-23 + OXA-73, бяха открити съответно в 60%, 11.7% и 28.3% от CRAB изолатите. Нивата на AMP за CFDC, SUL-DUR и ERV бяха съответно 23.3%, 0% и 3%. Всички 14 изолата *A. baumannii*, резистентни към CFDC (стойности на МПК в диапазона 4–64 mg/L), бяха blaPER-1-положителни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Настоящото проучване показва отлична *in vitro* активност на SUL-DUR и ERV срещу терапевтично проблемни CRAB, получени от хоспитализирани пациенти. Сравнително високият дял на CFDC-резистентни изолата *A. baumannii* е тревожен. Поради това непрекъснатият надзор на AMP, включително по отношение на новооодобрените антибиотици, трябва да бъде ключов елемент от съвременните стратегии „Единно здраве“ и практиките за управление на нозокомиалните инфекции. Финансиране: Проучването е финансирано от Съвета по медицинска наука на Медицински университет –

София, проект № 9826/21.11.2025 г., договор № Д-115/01.06.2026 г.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Acinetobacter baumannii*, антимикробна резистентност, новоодобрени антибиотици

**IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THREE NEWLY APPROVED
ANTIBIOTICS AGAINST NOSOCOMIAL CARBAPENEM-RESISTANT
ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLATES WITH MULTIPLE/EXTENSIVE DRUG
RESISTANCE (2014–2024)**

T. Strateva¹, A. Stratev^{2,3}, S. Atanasova¹, S. Peykov^{1,4,5}

¹Medical University of Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology,

²UMHAT “St. Ivan Rilski” – Sofia, Clinic of Anaesthesiology and Intensive Care, ³Medical
University of Sofia, Faculty of Medicine, Department of Anaesthesiology and Intensive Care,

⁴Sofia University “St. Kliment Ohridski”, Faculty of Biology, Department of Genetics, ⁵Sofia
Tech Park, BioInfoTech Laboratory

AIM: The present study aimed to evaluate the in vitro activity of cefiderocol (CFDC), sulbactam-durlobactam (SUL-DUR), and eravacycline (ERV) against 60 carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) isolates with multiple/extensive drug resistance (MDR/XDR) from Bulgarian university hospitals (2014–2024).

MATERIALS AND METHODS: Identification by automated systems, antimicrobial susceptibility testing, and whole-genome sequencing were performed.

RESULTS: All studied *A. baumannii* isolates were high-level resistant to both imipenem and meropenem, with MIC values above 16 mg/L. The distribution of antimicrobial resistance (AMR) profiles was as follows: XDR + difficult-to-treat resistance – 70%, XDR – 23.3%, and MDR – 6.7%. Acquired carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamases, including OXA-23 (OXA-23-like group), OXA-72 (OXA-24/40-like group), and OXA-23+OXA-73, were detected in 60%, 11.7%, and 28.3% of the CRAB isolates, respectively. The AMR rates for CFDC, SUL-DUR, and ERV were 23.3%, 0%, and 3%, respectively. All 14 CFDC-resistant *A. baumannii* isolates (MIC values in the range of 4–64 mg/L) were blaPER-1-positive.

CONCLUSION: The present study reveals excellent *in vitro* activity of SUL-DUR and ERV against therapeutically problematic CRAB obtained from inpatients. The relatively high proportion of CFDC-resistant *A. baumannii* isolates is alarming. Therefore, continuous surveillance of AMR, including newly approved antibiotics, should be a key component of modern “One Health” strategies and nosocomial infection management practices. Funding: The study was supported by a grant from the Council of Medical Science of the Medical University of Sofia, project no. 9826/21.11.2025, contract no. D-115/01.06.2026.

KEYWORDS: *Acinetobacter baumannii*, antimicrobial resistance, newly approved antibiotics

ДНК НА ПАРВОВИРУС В19, ОТКРИТА В ТЕРАТОМ НА ЯЙЧНИЦИТЕ ПРИ АНТИ-NMDAR ЕНЦЕФАЛИТ: КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ

Т. Вълков¹, Д. Кюркчиев², Е. Куртева², К. Тумангелова-Юзеир², Ж. Арабаджиев³, В. Иванова⁴, Д. Кисьова, Р. Аргирова⁵, Г. Димитров⁶, Й. Ямакова⁷

¹Катедра по инфекциозни болести, Медицински университет - София, УМБАЛ „Проф. Иван Киров“, ¹⁴³¹ София, България, ²Катедра по клинична имунология, Медицински университет - София, Университетска болница „Иван Рилски“, ¹⁴³¹ София, България, ³Аджибадем Сити Клиник, Университетска болница „Токуда“, ¹⁴⁰⁷ София, България, ⁴Катедра по обща и клинична патология, Медицински университет - София, ¹⁴³¹ София, България, ⁵Катедра по клинична лаборатория, Аджибадем Сити Клиник, Болница „Токуда“, ¹⁴⁰⁷ София, България, ⁶Катедра по медицинска онкология, Медицински университет - София, УМБАЛ „Царица Йоанна“, ¹⁵²⁷ София, България, ⁷Катедра по анестезиология и интензивно лечение, Медицински университет - София, УМБАЛ „Александровска“, ¹⁴³¹ София, България

ЦЕЛ: Представяне на клиничен случай: 18-годишна жена се е представя с остри невропсихиатрични симптоми, треска, стомашно-чревен продром и бързо прогресиращо поведенческо разстройство, прогресиращо до енцефалопатия.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Клиничен случай на 18-годишно момиче с анти-NMDAR-енцефалит. Бяха проведени епидемиологично проучване, клинични и клиниколабораторни изследвания; образни изследвания; имунологични, хистологични и молекулярно-биологични изследвания.

РЕЗУЛТАТИ: Резултатите от изследванията на цереброспиналната течност и кръвта, заедно с клиничните характеристики, подкрепят диагнозата анти-NMDAR енцефалит. Образната диагностика идентифицира овариална маса и е извършена хирургична резекция. Хистопатологията потвърждава зрял тератом, съдържащ невроглиални елементи. Молекулярният анализ открива ДНК на парвовирус В19 в резецираната тератоматозна тъкан. Не е установена системна виремия или активна вирусна инфекция на централната нервна система. Пациентката е получила имунотерапия, комбинирана с отстраняване на тумора, с последващо клинично подобрение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Този случай документира необичайно откриване на В19V ДНК в тъкан на тератом на яйчника при пациент с анти-NMDAR енцефалит. Макар и биологично интригуващ, настоящите доказателства не подкрепят причинно-следствена връзка между В19V инфекцията и анти-NMDAR енцефалита, свързан с тератом. Констатацията трябва да се разглежда като генерираща хипотеза. Систематична оценка на вирусното присъствие в тератомите, съчетана с пространствена локализация и функционални имунологични изследвания, би била необходима, за да се изясни дали вирусната инфекция на туморната тъкан може да модулира автоимунния риск.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: анти-NMDAR енцефалит; тератом на яйчниците; парвовирус В19

PARVOVIRUS B19 DNA DETECTED IN OVARIAN TERATOMATOUS TISSUE IN ANTI-NMDAR ENCEPHALITIS: A CASE REPORT

T. Valkov¹, D. Kyurkchiev², E. Kurteva², K. Tumangelova-Yuzeir², J. Arabadjiev³, V. Ivanova⁴,
D. Kisova, R. Argirova⁵, G. Dimitrov⁶, Y. Yamakova⁷

¹Department of Infectious Diseases, Medical University of Sofia, Prof. Ivan Kirov Hospital, ¹⁴³¹ Sofia, Bulgaria, ²Department of Clinical Immunology, Medical University of Sofia, University Hospital "Ivan Rilski", ¹⁴³¹ Sofia, Bulgaria, ³Acibadem City Clinic, University Hospital "Tokuda", ¹⁴⁰⁷ Sofia, Bulgaria, ⁴Department of General and Clinical Pathology, Medical University of Sofia, ¹⁴³¹ Sofia, Bulgaria, ⁵Department of Clinical Laboratory, Acibadem City Clinic Tokuda Hospital, ¹⁴⁰⁷ Sofia, Bulgaria, ⁶Department of Medical Oncology, Medical University of Sofia, University Hospital "Tsaritsa Yoanna", ¹⁵²⁷ Sofia, Bulgaria, ⁷Department Anaesthesiology and Intensive Care, Medical University of Sofia, University Hospital "Aleksandrovska", ¹⁴³¹ Sofia, Bulgaria

AIM: Case Presentation: An 18-year-old woman presented with acute neuropsychiatric symptoms, fever, gastrointestinal prodrome, and rapidly progressive behavioral disturbance progressing to encephalopathy.

MATERIALS AND METHODS: Clinical case of an 18-year-old girl with anti-NMDAR encephalitis. An epidemiological study, clinical and clinical laboratory studies; imaging studies; immunological, histological and molecular biological studies were performed.

RESULTS: Cerebrospinal fluid and blood test results, together with clinical features, supported the diagnosis of anti-NMDAR encephalitis. Imaging identified an ovarian mass, and surgical resection was performed. Histopathology confirmed a mature teratoma containing neuroglial elements. Molecular analysis detected parvovirus B19 DNA within the resected teratomatous tissue. No systemic viremia or active central nervous system viral infection was identified. The patient received immunotherapy combined with tumor removal, with subsequent clinical improvement.

CONCLUSION: This case documents an unusual detection of B19V DNA within ovarian teratoma tissue in a patient with anti-NMDAR encephalitis. While biologically intriguing, current evidence does not support a causal relationship between B19V infection and teratoma-associated anti-NMDAR encephalitis. The finding should be regarded as hypothesis-generating. Systematic evaluation of viral presence in teratomas, coupled with spatial localization and functional immunologic studies, would be required to clarify whether viral infection of tumor tissue can modulate autoimmune risk.

KEYWORDS: anti-NMDAR encephalitis; ovarian teratoma; parvovirus B19

**РЕЗУЛТАТИ ОТ НАЦИОНАЛНО МУЛТИЦЕНТРОВО ГЕНОМНО ПРОУЧВАНЕ
ВЪРХУ КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* -
СЕПТЕМВРИ-ДЕКЕМВРИ 2025**

И. Н. Иванов^{1,3}, И. Стойков^{1,2}, Д. Дончев^{1,3}, И. Живкова^{1,3}, Р. Христова^{1,3}, Е. Добрева¹, А. Бъчварова⁴, Й. Калчев⁵, Х. Хиткова⁶, К. Цанкова⁷, М. Ахмедов⁸, Е. Бозова⁹, Н. Абрашев¹⁰,
С. Събчева²

¹Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, ²Университетска специализирана болница за активно лечение по онкология, ³Център за компетентност "ИмуноПатоген",
⁴Acibadem City Clinic УМБАЛ Токуда, ⁵УМБАЛ "Свети Георги"- Пловдив, ⁶УМБАЛ "Д-р Георги Странски" Плевен, ⁷УМБАЛ Бургас, ⁸МБАЛ Търговище, ⁹МБАЛ - Шумен

ЦЕЛ: *Klebsiella pneumoniae* е водещ мултирезистентен патоген в българските и европейските болници, с резистентност към карбапенеми (CRE), достигаща до 60%. Настоящото мултицентрово национално проучване е част от инициативата на ECDC CRE25 за геномно характеризиране на циркулиращите в ЕС *K. pneumoniae*, резистентни към карбапенеми (Кр-CRE).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: В периода септември–декември 2025 г. в НРЛ-КМАР по протокол на ECDC бяха анализирани 72 Кр-CRE изолата от шестте NUTS-2 региона на България. МПК към 20 антимикробни средства бяха определени съгласно EUCAST. Дълговерижно целогеномно секвениране бе извършено чрез Oxford Nanopore, а биоинформатичният анализ — качествен контрол, асемблиране, резистом, вирулом и филогеномика — чрез алгоритъм, разработен в НРЛ-КМАР.

РЕЗУЛТАТИ: Установени бяха високи нива на резистентност към имипенем-релебактам (87%), цефтазидим-авибактам (80%), колистин (47%), цефидерокол (33%), флуорохинолони (100%) и аминогликозиди (69–78%), при 100% запазена чувствителност единствено към азтреонам-авибактам. Най-честа карбапенемаза бе NDM-5 (61%), почти изцяло при ST6260, докато NDM-1 (10%) се асоциираше със ST147 и ST11. KPC-2 (14%) се срещаше при ST258, ST16 и ST147, а при 15% от изолатите бяха установени две карбапенемази. Колистиновата резистентност се свързваше с хромозомни мутации в *mgtB* (21%), *phoQ* (15%) и *pmrB*, а аминогликозидната — с 16S рРНК метилази (*rmtB*, *rmtF*, *armA*). Детерминанти за резистентност към цефидерокол бяха открити само при 8 изолата (SHV-12, мутации в *cirA* и SHV промотора). Идентифицирани бяха три големи sgMLST клъстера, като ST6260 доминираше във всички NUTS-2 региони.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Проучването установява много висока резистентност към стратегически антибиотици, обусловена от ограничен брой високорискови клонове, и поставя въпроса за национална епидемия от *K. pneumoniae* ST6260.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Klebsiella*, carbapenem-resistance, WGS

RESULTS FROM THE NATIONAL MULTICENTRE GENOMIC SURVEY ON CARBAPENEM-RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* – SEPTEMBER– DECEMBER 2025

I. N. Ivanov^{1,3}, I. Stoikov^{1,2}, D. Dontchev^{1,3}, I. Zhivkova^{1,3}, R. Hristova^{1,3}, E. Dobрева¹, A. Bachvarova⁴, Y. Kalchev⁵, H. Hitkova⁶, K. Tsankova⁷, M. Ahmedov⁸, E. Bozova⁹, N. Abrashev¹⁰,
S. Sabtcheva²

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, ²University Specialised Hospital for Active Oncological Treatment, ³Competence Centre "ImmunoPathogen", ⁴Acibadem City Clinic UMBAL Tokuda, ⁵UMBAL "St. George" - Plovdiv, ⁶UMBAL "Dr. Georgi Stranski", Pleven, ⁷UMBAL Burgas, ⁸MBAL Targovishte, ⁹MBAL Shumen

AIM: *Klebsiella pneumoniae* is a leading multidrug-resistant pathogen in Bulgarian and European hospitals, with carbapenem resistance (CRE) reaching up to 60%. This multicenter national study was conducted as part of the ECDC CRE25 initiative for genomic characterization of circulating carbapenem-resistant *K. pneumoniae* (Kp-CRE) in the EU.

MATERIALS AND METHODS: Between September and December 2025, 72 Kp-CRE isolates from the six NUTS-2 regions of Bulgaria were analyzed at the NRL-AMR according to the ECDC protocol. MICs for 20 antimicrobial agents were determined in accordance with EUCAST. Long-read whole-genome sequencing was performed using Oxford Nanopore technology, and bioinformatic analysis — including quality control, assembly, resistome, virulome, and phylogenomic analysis — was conducted using an algorithm developed at the NRL-AMR.

RESULTS: High levels of resistance were observed to imipenem-relebactam (87%), ceftazidime-avibactam (80%), colistin (47%), cefiderocol (33%), fluoroquinolones (100%), and aminoglycosides (69–78%), with 100% preserved susceptibility only to aztreonam-avibactam. The most frequent carbapenemase was NDM-5 (61%), detected almost exclusively in ST6260, whereas NDM-1 (10%) was associated with ST147 and ST11. KPC-2 (14%) was found in ST258, ST16, and ST147, while two carbapenemases were detected in 15% of isolates. Colistin resistance was associated with chromosomal mutations in mgrB (21%), phoQ (15%), and pmrB, while aminoglycoside resistance was mediated by 16S rRNA methylases (rmtB, rmtF, armA). Determinants of cefiderocol resistance were identified in only 8 isolates (SHV-12, mutations in cirA and the SHV promoter). Three major cgMLST clusters were identified, with ST6260 dominating across all NUTS-2 regions.

CONCLUSION: This study demonstrates very high resistance to strategic antibiotics, driven by the circulation of a limited number of high-risk clones, and raises the question of a national outbreak of *K. pneumoniae* ST6260.

KEYWORDS: *Klebsiella*, carbapenem-resistance, WGS

**ВЪЗНИКВАНЕ И ПЕРСИСТИРАНЕ НА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ST6260,
НОСЕЩА *BLANDM-5*, ПРИ ПРОУЧВАНЕ НА КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНИ
ENTEROBACTERALES В УМБАЛ „ЛОЗЕНЕЦ“ - СОФИЯ (2022-2025)**

Д. Хамидов¹, Е. Кьоляян^{1,2}, И. Стойков^{3,4}, Т. Тодоров^{5,6}, И. Н. Иванов^{3,4}, Г. Тодоров¹, А.
Сяров^{5,6}, Р. Въжарова^{5,6}

¹УМБАЛ „Лозенец“, Лаборатория по клинична микробиология и вирусология, София,

²Министерство на здравеопазването, Дирекция „Обществено здраве“, София,

³Национална референтна лаборатория „Контрол и мониторинг на антимикробната
резистентност“, отдел „Микробиология“, НЦЗПБ, София, ⁴Център за компетентност
„ИмуноПатоГен“, София, ⁵УМБАЛ „Лозенец“, Лаборатория по медицинска генетика и
молекулярна биология, София, ⁶Софийски университет „Св. Климент Охридски“,
Медицински факултет

ЦЕЛ: Проучване на геномната епидемиология и молекулярно-генетичните механизми на резистентност при клинично значими карбапенем-резистентни *Enterobacterales* (CRE), изолирани в УМБАЛ „Лозенец“ за периода 2022–2025 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Идентификацията на видовете е извършена чрез MALDI-TOF MS. Антимикробната чувствителност е изпитана чрез дисково-дифузионния метод и чрез микродилуционния метод (за колистин и цефидерокол). Извършено е целогеномно секвениране (WGS) на 23 представителни изолата. Биоинформатичният анализ включва определяне на резистом, вирулом, плазмиден профил и SNP-базиран филогенетичен анализ.

РЕЗУЛТАТИ: *K. pneumoniae* съставлява 88% (178/202) от всички CRE. Метало-β-лактамазите от тип NDM са най-често срещаните карбапенемази. При секвенираните щамове доминира линията *K. pneumoniae* ST6260 (n=16), представена от два филогенетични клъстера. Всички са носители на хромозомно локализиран ген *blaNDM-5*. Клъстер 1 носи и плазмид-медиран ген *blaOXA-232*. Клъстер 2 е представен от колистин-резистентни щамове, характеризиращи се със скъсяване на гена *mgtB* и T157P субституция в *pmrB*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Данните демонстрират стабилно персистиране на CRE. Установява се нововъзникваща за Европа високорискова мултирезистентна линия *K. pneumoniae* ST6260, съчетаваща хромозомен *blaNDM-5* с плазмиден *blaOXA-232* или механизми за колистинова резистентност.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: карбапенем-резистентни *Enterobacterales*, геномна епидемиологи, *K. pneumoniae* ST6260

**EMERGENCE AND PERSISTENCE OF KLEBSIELLA PNEUMONIAE ST6260
CARRYING BLANDM-5 IN A STUDY OF CARBAPENEM-RESISTANT
ENTEROBACTERIALES IN UNIVERSITY HOSPITAL “LOZENETS” - SOFIA (2022-
2025)**

D. Hamidov¹, E. Keuleyan^{1,2}, I. Stoikov^{3,4}, T. Todorov^{5,6}, I. N. Ivanov^{3,4}, G. Todorov¹, A.
Syarov^{5,6}, R. Vazharova^{5,6}

¹University Hospital “Lozenetz”, Laboratory of Clinical Microbiology and Virology, Sofia,
Bulgaria, ²Ministry of Health, Directorate “Public Health”, Sofia, Bulgaria
³National Reference Laboratory for Control and Monitoring of Antimicrobial Resistance,
Department of Microbiology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia,
Bulgaria, ⁴Center of Competence, “ImmunoPathoGen”, Sofia, Bulgaria, ⁵University Hospital
“Lozenetz”, Laboratory of Medical Genetics and Molecular Biology, Sofia, Bulgaria, ⁶Sofia
University “St. Kliment Ohridski”, Faculty of Medicine, Sofia, Bulgaria

AIM: Investigation of the genomic epidemiology and molecular mechanisms of resistance among clinically significant carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) isolated at University Hospital “Lozenetz” during the 2022–2025 period.

MATERIALS AND METHODS: Species identification was performed by MALDI-TOF MS. Antimicrobial susceptibility testing was carried out using the disk diffusion method and the microdilution method (for colistin and cefiderocol). Whole-genome sequencing (WGS) was conducted on 23 representative isolates. Bioinformatic analysis included determination of the resistome, virulome, plasmid profiling, and SNP-based phylogenetic analysis.

RESULTS: *K. pneumoniae* accounted for 88% (178/202) of all CRE. NDM-type metallo-β-lactamases were the most common carbapenemases. Among the sequenced strains, the *K. pneumoniae* ST6260 lineage (n=16) predominated, represented by two phylogenetic clusters. All isolates carried a chromosomally localized *bla*NDM-5 gene. Cluster 1 also harbored a plasmid-mediated *bla*OXA-232 gene. Cluster 2 comprised colistin-resistant strains characterized by *mcrB* gene truncation and a T157P substitution in *pmrB*.

CONCLUSION: The data demonstrate the sustained persistence of CRE and identify an emerging high-risk multidrug-resistant *K. pneumoniae* ST6260 lineage in Europe, characterized by chromosomally encoded *bla*NDM-5 together with either plasmid-borne *bla*OXA-232 or colistin resistance mechanisms.

KEYWORDS: carbapenem-resistant *Enterobacterales*, genomic epidemiology, *K. pneumoniae* ST6260

**ПРЕСТРУКТУРИРАНЕ НА РЕЗИСТОМА В ПИТЕЙНАТА ВОДА И
ОБОГАТЯВАНЕ НА БАКТЕРИАЛНАТА БИОМАСА В СИСТЕМИТЕ ЗА
ЦЕНТРАЛИЗИРАНО ГОРЕЩО ВОДОСНАБДЯВАНЕ.**

Д. Бинев¹, С. Иванов¹, К. Шишкова¹

¹Софийски университет “Св. Климент Охридски”, Биологически факултет

ЦЕЛ: Да се оцени влиянието на системите за централизирано горещо водоснабдяване върху бактериалните общности и резервоара от гени за антимикробна резистентност (АМР) в питейната вода.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: qPCR за количествено определяне на бактериалния товар в 14 двойки проби студена и гореща вода от София, Пловдив и Плевен за определяне на бактериалния товар. Shotgun

метагеномика е извършена върху 6 двойки проби за идентификация и анализ на АМР гени. Сравнени са бактериална биомаса, таксономично богатство, както и богатство и равномерност на АМР гени.

РЕЗУЛТАТИ: Горещата вода показва значително повишен бактериален товар спрямо студената вода. Наблюдава се увеличение на таксономичното богатство без промяна в доминиращата таксономична структура. Идентифицирани са общо 20 АМР гена, като най-разпространени са детерминанти за резистентност към ванкомицин, тетрациклини, флуорохинолони, аминогликозиди и фосфомицин. Богатството на АМР гени остава непроменено, докато тяхната равномерност се увеличава значително в горещата вода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Системите за централизирано горещо водоснабдяване са свързани с обогатяване на бактериалната биомаса и увеличено таксономично богатство, без промяна в разнообразието на АМР гени. Наблюдава се реструктуриране на резистома, характеризиращо се с по-равномерно разпределение на АМР детерминантите, което потенциално увеличава експозицията към бактерии, носещи клинично значими гени за антимикробна резистентност.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Антимикробна резистентност, Резистом, Централизирано горещо водоснабдяване

RESHAPING OF THE DRINKING WATER RESISTOME AND ENRICHMENT OF BACTERIAL BIOMASS IN DISTRICT-HEATING DOMESTIC HOT WATER SYSTEMS

D. Binev¹, S. Ivanov¹, K. Shishkova¹

¹Sofia University St. Kliment Ohridski, Faculty of Biology

AIM: To assess the impact of centralized hot water supply systems on bacterial communities and the reservoir of antimicrobial resistance (AMR) genes in drinking water.

MATERIALS AND METHODS: qPCR was used to determine bacterial load in 14 paired cold and hot water samples from Sofia, Plovdiv, and Pleven. Shotgun metagenomic sequencing was performed on 6 paired samples for the identification and analysis of antimicrobial resistance (AMR) genes. Comparisons were made of bacterial biomass, taxonomic richness, as well as AMR gene richness and evenness.

RESULTS: Hot water showed a significant increase in bacterial load compared to cold water. An increase in taxonomic richness was observed without changes in the structure of dominant taxa. A total of 20 AMR genes were identified, with the most prevalent being determinants associated with vancomycin resistance, followed by genes conferring resistance to tetracyclines, fluoroquinolones, aminoglycosides, and fosfomycin. AMR gene richness remained unchanged, while evenness increased significantly in hot water samples.

CONCLUSION: Centralized hot water supply systems are associated with enrichment of bacterial biomass and increased taxonomic richness, without changes in AMR gene diversity. A restructuring of the resistome is observed, characterized by a more even distribution of AMR determinants, potentially increasing exposure to bacteria carrying clinically relevant antimicrobial resistance genes.

KEYWORDS: Antimicrobial resistance, Resistome, Centralized hot water supply systems

PCR ТЕСТ ЗА *MYCOPLASMA GENITALIUM* И АНТИБИОТИЧНА РЕЗИСТЕНТОСТ КЪМ МАКРОЛИДИ И ХИНОЛОНИ - НАШИЯТ ОПИТ

М. Боянова-Машикина¹, А. Тошев, С. Николова¹, Н. Сестримска¹, А. Калъчева¹

¹МДЛ Цибалаб

**авторите имат равностоен принос към изследването*

ЦЕЛ: Да се установи разпространението на *Mycoplasma genitalium* и честотата на мутации, свързани с резистентност към азитромицин и моксифлоксацин сред пациентите, изследвани с PCR тест за микоплазми и уреаплазми в МДЛ Цибалаб.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани са 3086 проби (1407 мъже и 1679 жени) в периода от януари до юли 2026 по реда на тяхното постъпване в лаборатория Цибалаб. Използвани са диагностични набори Allplex STI Essential, Allplex MG AziR и Allplex MG MoxiR, Seegene. ДНК е изолирана автоматизирано с апарат Nextractor, Genolution с касети за екстракция CUS151.

РЕЗУЛТАТИ: Установяват се $n=23$ (0,74%) положителни за *M. genitalium* проби, което е в съгласие с данните за базова честота в общата популация около 1%. Разпределението на положителните по пол е $n=18$ (78,3%) мъже и $n=5$ (21,7%) жени. Разликата се обяснява с факта, че при мъжете много по-често има клинична изява и целенасоченост на изследването, докато при жени положителните по-рядко имат симптоматика и вероятно са случайни находки. От положителните за *M. genitalium* проби $n=15$ (65%) са резистентни на някой от включените в изследването антибиотици азитромицин и моксифлоксацин, като $n=8$ (53%) от тях са резистентни и на двата антибиотика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: *M. genitalium* е труден за култивиране облигатен патоген, като PCR тестът е единственият надежден диагностичен метод за тези организми. Емпиричното лечение с азитромицин (макролид) доведе до глобален скок на антимикробната резистентност при *M. genitalium*, като тази тенденция е налице и за моксифлоксацин (хинолон) като втори избор на лечение. Нашите резултати са в съгласие с тези наблюдения установявайки 65 % носителство на мутации за резистентност в изолатите от *M. genitalium*. Възможностите на молекулярно-биологичните тестове предоставят бърз и надежден резултат за установяване на тази резистентност преди започване на лечение, което ги определя като задължителен елемент от диагностиката на този патоген.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Микоплазма гениталиум, резистентност

PCR TEST FOR *MYCOPLASMA GENITALIUM* AND ANTIBIOTIC RESISTANCE TO MACROLIDES AND QUINOLONES - OUR EXPERIENCE

М. Boyanova-Mashkina¹, А. Toshev¹, S. Nikolova¹, N. Sestrimska¹, А. Kalacheva¹

¹MDL Cibalab

** the authors have equal contributions to the study*

AIM: To determine the prevalence of *Mycoplasma genitalium* and the frequency of mutations associated with resistance to azithromycin and moxifloxacin among patients examined with a PCR test for mycoplasmas and ureaplasmas at MDL Cibalab.

MATERIALS AND METHODS: 3086 samples (1407 men and 1679 women) were examined in the period from January to July 2026, in the order of their admission to the Cibalab laboratory. Diagnostic kits Allplex STI Essential, Allplex MG AziR and Allplex MG MoxiR, Seegene were used. DNA was isolated automatically with a Nextractor, Genolution apparatus with CUS151 extraction cassettes.

RESULTS: A total of n=23 (0.74%) samples tested positive for *M. genitalium*, which is consistent with data on the baseline prevalence in the general population of approximately 1%. The distribution of positives by gender was n=18 (78.3%) men and n=5 (21.7%) women. The difference is explained by the fact that in men there is much more often a clinical manifestation and the testing is targeted, while in women the positive ones are less often symptomatic and are probably incidental findings. Of the positive for *M. genitalium* samples n=15 (65%) were resistant to one of the antibiotics included in the study azithromycin and moxifloxacin, with n=8 (53%) of them being resistant to both antibiotics

CONCLUSION: *M. genitalium* is a difficult-to-cultivate obligate pathogen, with PCR testing being the only reliable diagnostic method for these organisms. Empirical treatment with azithromycin (a macrolide) has led to a global surge in antimicrobial resistance in *M. genitalium*, a trend that is also present for moxifloxacin (a quinolone) as a second-line treatment. Our results are consistent with these observations, showing a prevalence of 65% for resistance-associated mutations in *M. genitalium* isolates. The capabilities of molecular biological tests provide a rapid and reliable result for establishing this resistance before starting treatment, which defines them as a mandatory element of the diagnosis of this pathogen.

KEYWORDS: *Mycoplasma genitalium*, resistance,

ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ АНТИБИОТИЧНАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUBSP. *PNEUMONIAE*

Д. Пенчева¹, Е. Грозданова-Василева¹, С. Хараламбиева¹, Б. Петров¹, Е. Драгижева²

¹ДКЦ „Света София“, София, България, ²МБАЛ „Света София“, София, България

ЦЕЛ: Целта на това проучване бе да се изследва профила на антибиотичната резистентност на щамове *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, изолирани в първите шест месеца на 2026 година в МБАЛ и ДКЦ „Св. София“.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Използвани са данни от 69 изолирани клинични щамове, идентифицирани с VITEK® 2 и с определена от него антимикробна чувствителност според критериите на EUCAST, 2026г.

РЕЗУЛТАТИ: Установи се, че 73,8% от проучваните щамове не произвеждат широкоспектрни бета лактамази (ESBL) и само 26,15% са положителни за тях. Всички щамове (100%) са резистентни на ampicillin (вродена резистентност), като над 90% резистентност е отчетена към ampicillin/sulbactam, cefuroxime, cefuroxime axetil, cefotaxime и moxifloxacin. Най-голям % чувствителност е установена към colistin - 57,45%. Установи се, че при мултирезистентни щамове вариант за лечение са imipenem/relebactam и meropenem/vaborbactam, но и при тях е регистрирана резистентност от 64,58% при първата комбинация и 59,18% при втората. От всичките 69 изолата *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, единадесет (15,94%) са отчетени като резистентни на всички антибиотици от AST карти 438+XN 26. Седем от тях са изолати при жени, четири - при мъже. Осем от тях са изолирани от урина, два от храчка и един от раневни секрет. Шест от изолатите са от пациенти, настанени в отделение реанимация, един е от отделение урология, трима от отделение кардиология и един от отделение ендокринология. Трима от пациентите са починали по време на престоя им в болницата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Изнесените данни показват належаща нужда от адекватна антибиотична политика, нови антибиотици или техни алтернативи в борбата с антибиотичната резистентност при *K. pneumoniae* spp. *pneumoniae*.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Антибиотична резистентност, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, EUCAST

STUDY ON THE ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* *SUBSP. PNEUMONIAE*

D. Pencheva¹, E. Grozdanova-Vasileva¹, S. Haralambieva¹, B. Petrov¹, E. Dragizheva²

¹St. Sofia Diagnostic and Consultative Center, Sofia, Bulgaria, ²St. Sofia Hospital, Sofia, Bulgaria

AIM: The aim of this study was to investigate the antibiotic resistance profile of *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* strains isolated during the first six months of 2026 at St. Sofia Hospital and St. Sofia Diagnostic and Consultative Center.

MATERIALS AND METHODS: Data from 69 clinical isolates were analyzed. Identification and antimicrobial susceptibility testing were performed using the VITEK® 2 automated system according to the EUCAST 2026 criteria.

RESULTS: Among the studied isolates, 73.8% were non-producers of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs), whereas 26.15% were ESBL-positive. All isolates (100%) were resistant to ampicillin (natural resistant). Resistance rates exceeding 90% were observed for ampicillin/sulbactam, cefuroxime, cefuroxime axetil, cefotaxime, and moxifloxacin. The highest susceptibility rate was observed for colistin (57.45%). For multidrug-resistant isolates, imipenem/relebactam and meropenem/vaborbactam remained potential therapeutic options; however, resistance rates of 64.58% and 59.18%, respectively, were also detected. Of the 69 *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* isolates, 11 (15.94%) were resistant to all antibiotics included in the AST 438+XN26 testing cards. Seven of these isolates originated from female patients and four from male patients. Eight isolates were recovered from urine samples, two from sputum samples, and one from a wound specimen. Six isolates were obtained from patients hospitalized in the intensive care unit, one from the urology department, three from the cardiology department, and one from the endocrinology department. Three of these patients died during hospitalization.

CONCLUSION: The findings demonstrate an urgent need for adequate antibiotic policy, the development of new antimicrobial agents and alternative therapeutic approaches to combat antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*.

KEYWORDS: Antibiotic resistance, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*, EUCAST

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ ЛЕКАРСТВЕНАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА ИЗОЛАТИ НА *P. JIROVECI* ОТ ИМУНОКОМПЕТЕНТНИ И ИМУНОКОМПРОМЕТИРАНИ ПАЦИЕНТИ С ПНЕВМОЦИСТНА ПНЕВМОНИЯ

В. Якимова¹, Н. Цветкова¹, Р. Борисова¹, А. Иванова¹, М. Виденова¹, Н. Янчева-Петрова²

¹Национален център по заразни и паразитни болести, ²СБАЛИПБ „Проф. Иван Киров“

ЦЕЛ: Да се установи наличието на точкови мутации в кодони 55 и 57 на гена, кодиращ ензима дихидроптероат синтаза (dhps), обуславящи лекарствена резистентност към комбинацията от триметоприм-сулфаметоксазол, ефективна както за лечение, така и за профилактика на пневмоцистозата, в български изолати на *P. jirovecii*.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани са респираторни проби на пациенти със съмнение за РСР, събирани за рутинна диагностика в НРЛ „Диагностика на паразитозите“ за периода 2024 г. – м. май 2026 г. чрез Real-time PCR беше осъществена успешна амплификация на гена, кодиращ mt LSU rRNA, в генома на *P. jirovecii*.

За откриване на точкови мутации в региона на dhps гена беше проведен PCR-RFLP анализ на положителните проби.

РЕЗУЛТАТИ: Анализирани са общо 290 проби, 181 пациенти с белодробни заболявания и инфекции на дихателните пътища и 109 пациенти с доказана ХИВ инфекция. Положителните проби (n = 76, 26 %) са подложени на PCR амплификация на dhps locus - прицелно място на сулфонамиди. Всички (n=76) изолати показаха dhps генотип 1 (див тип). Мутантни алели не бяха открити и при повторно изследвани контролни проби, получени след проведено лечение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: От проведеното проучване липсват данни за инфекции, причинени от изолати на *P. jirovecii*, носещи мутантния dhps ген. Молекулярните тестове остават ключови за доказване на колонизация с патогена, както и за проследяване на разпространението на щамове в страната.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: dhps, лекарствена резистентност, *P. jirovecii*

БЛАГОДАРНОСТИ: Това проучване е финансирано от проект BG16RFPR002-1.014-0017 „Център за компетентност „Имунопатоген“ към Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ 2021–2027 г.

A MOLECULAR BIOLOGICAL STUDY OF DRUG RESISTANCE IN *P. JIROVECII* ISOLATES FROM IMMUNOCOMPETENT AND IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS WITH PNEUMOCYSTIS JIROVECII PNEUMONIA

V. Yakimova¹, N. Tsvetkova¹, R. Borisova¹, A. Ivanova¹, M. Videnova¹, N. Yancheva-Petrova²

¹National Centre for Infectious and Parasitic Diseases, ²SBALIPB "Prof. Ivan Kirov"

AIM: To determine the presence of point mutations in codons 55 and 57 of the gene encoding the enzyme dihydropteroate synthase (dhps) that confer drug resistance to the trimethoprim-sulfamethoxazole combination, effective for both the treatment and prevention of pneumocystosis in Bulgarian *P. jirovecii* isolates.

MATERIALS AND METHODS: Respiratory specimens from patients with suspected PCP, collected for routine diagnosis at the National Reference Laboratory for Parasitic Diseases between 2024 and May 2026, were analysed. Successful amplification of the gene encoding mt LSU rRNA in the *P. jirovecii* genome was achieved using real-time PCR. To detect point mutations in the dhps gene region, PCR-RFLP analysis was performed on the positive samples.

RESULTS: A total of 290 samples were analysed, including 181 patients with pulmonary diseases and respiratory tract infections and 109 patients with confirmed HIV infection. Positive samples (n = 76, 26 %) underwent PCR amplification of the dhps locus - the target site for sulfonamides. All (n = 76) isolates showed the dhps genotype 1 (wild type). No mutant alleles were detected, even in repeat control samples obtained after treatment.

CONCLUSION: The present study provides no evidence of infections caused by *P. jirovecii* isolates carrying the mutant dhps gene. Molecular tests remain essential for detecting pathogen colonisation and monitoring the spread of circulating strains in the country.

KEYWORDS: dhps, drug resistance, *P. jirovecii*

ACKNOWLEDGEMENTS: This study was funded by Project BG16RFPR002-1.014-0017, "Immunopathogen Competence Center," under the "Scientific Research, Innovation, and Digitalization for Smart Transformation" Program, 2021–2027.

СЕСИЯ III – РЕСПИРАТОРНИ ИНФЕКЦИИ

ПРОБЛЕМИ И ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА ПРЕД ДИАГНОСТИКАТА И ПОВЕДЕНИЕТО ПРИ СЛУЧАИТЕ С БЕЛОДРОБНА БОЛЕСТ, ПРИЧИНЕНА ОТ НЕТУБЕРКУЛОЗНИ МИКОБАКТЕРИИ

В. Миланов¹

*¹Медицински университет – София, Медицински факултет, Катедра по професионални
болести*

Инфекциите с нетуберкулозни микобактерии (НТМ) са нарастващ проблем за общественото здравеопазване. Те не са включени в списъка със заразни болести, определен от ECDC и Европейската комисия. Регистрирането им е възможно в рамките на Европейския регистър за бронхиектазии. В България съобщаването на случаите с инфекции, причинени от НТМ, се основава предимно на лабораторни данни, а не на регистрация в съответствие с препоръчаните протоколи и добрата клинична практика. Клиничните прояви при случаите с белодробна болест, причинена от НТМ (НТМ-ББ), са важни, но неспецифични, тъй като често са маскирани от обичайно съпътстващите хронични белодробни заболявания. Рентгенологичните промени са насочващи за задълбочаване на диагностичния процес и за проследяване на прогресията на НТМ-ББ. Единствените методи, потвърждаващи наличието на НТМ, са микробиологичното и молекулярно-генетичното изследване на различни биологични проби, предимно храчки и бронхо-алвеоларен лаваж, което изисква наличие на микробиологични лаборатории с капацитет за поставяне на диагнозата – Националната референтна лаборатория по туберкулоза (НРЛ-ТБ) и лабораториите в университетските болници и лечебните заведения за контрол на ТБ. Диагнозата НТМ-ББ се основава на комплексно интерпретиране на клиничните, рентгенологичните и микробиологичните (понякога патоморфологичните) критерии. Започването на лечение зависи от патогенността на изолираните НТМ, рисковете и ползите от терапията, желанието и възможността на пациента да се лекува. Терапевтичните режими са продължителни, включват много антибактериални лекарства, с възможни прояви на значителни лекарствени реакции и са с високи нива на неуспех от лечението. Най-важно е решаването на организационните въпроси, свързани с капацитета за извършване на диагностиката, регистрирането, лечението, грижите и проследяването на пациентите с НТМ-ББ, методичното ръководство и нормативната уредба, гарантираща осигуряването на адекватно и непрекъснато финансиране на тези дейности.

PROBLEMS AND CHALLENGES IN THE DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF CASES WITH PULMONARY DISEASE CAUSED BY NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA

V. Milanov¹

¹Medical University of Sofia, Faculty of Medicine, Department of Occupational Diseases

Infections caused by nontuberculous mycobacteria (NTM) are a growing public health problem. They are not included in the list of communicable diseases defined by the ECDC and the European Commission. Their registration is possible within the framework of the European Bronchiectasis Registry. Recording and reporting of NTM infections in Bulgaria is mainly based on laboratory data, not in accordance with recommended protocols and good clinical practice.

Clinical manifestations of the cases with pulmonary disease caused by NTM (NTM-PD) are important but non-specific, as they are often masked by existing chronic lung diseases. Radiological signs are important for the diagnostic process and monitoring the progression of NTM-PD. Microbiological and molecular-genetic methods confirm NTM in different biological samples, mainly sputum and bronchoalveolar lavage, which requires microbiological laboratories with diagnostic capacity – the Tuberculosis National Reference Laboratory (NRL-TB), microbiological laboratories at university hospitals and TB health facilities.

NTM-PD diagnosis is complex and includes a triad of clinical, radiological and microbiological (and sometimes pathomorphological) criteria. This is important when we have to differentiate between NTM colonization and significant pulmonary disease. Treatment of NTM-PD involves the use of multiple drugs for a period of at least 12 months following conversion to negative sputum culture. The disease is challenging to treat due to the toxicity of the drugs often having limited efficacy. It can be associated with poor treatment outcomes, especially in the elderly people with comorbidities.

Systematizing the knowledge and evidence-based recommendations for diagnosis, registration, treatment, care and follow-up of the patients with NTM-PD, and their adaptation to the Bulgarian health system is very important to ensure adequate management of the cases, as well as appropriate funding of the activities related with this issue.

СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КЛИНИЧНИТЕ И ЛАБОРАТОРНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА COVID-19 ПРИ ПАЦИЕНТИ ОТ РАЗЛИЧНИ ВЪЗРАСТОВИ ГРУПИ

Ф. Тенчев^{1,2}, Н. Янчева-Петрова^{1,2}

¹*Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина, МУ-София,*

²*Университетска Многопрофилна болница за Активно Лечение на Инфекциозни и
Паразитни Болести „Проф.Ив.Киров“ - София*

ЦЕЛ: Целта на настоящото проучване е да се сравнят клиничните прояви, лабораторните показатели и факторите, свързани с тежестта и клиничния изход при пациенти с COVID-19 в различни възрастови групи.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Проведено е ретроспективно кохортно проучване върху три анализирани кохорти хоспитализирани пациенти с PCR-потвърден COVID-19. Изследвани са клиничните симптоми, придружаващите заболявания, лабораторните показатели, проведеното лечение, тежестта и клиничният изход. Използвани са дескриптивен статистически анализ, χ^2 тест, Fisher exact test, Mann-Whitney U тест, ROC анализ и логистична регресия.

РЕЗУЛТАТИ: Младите пациенти се характеризират със статистически значимо по-честа поява на фебрилитет, главоболие, миалгии, нарушения в обонянето и вкуса, както и гастроинтестинални симптоми. При пациентите на възраст над 49 години значително по-често се наблюдават задух, по-ниска кислородна сатурация и тежки форми на заболяването. Възрастните пациенти имат по-висока честота на артериална хипертония,

сърдечно-съдови, респираторни, неврологични и бъбречни заболявания. При младите пациенти по-високите стойности на CRP, феритин, D-dimer, LDH, AST и ALT, както и по-ниските стойности на pO_2 , са свързани с необходимост от интензивно лечение, като ендокринно-метаболитните заболявания се идентифицират като независим рисков фактор за превеждане в ОАИЛ. При пациентите на възраст 49–104 години неблагоприятният клиничен изход е свързан предимно с повишени стойности на урея, креатинин и D-dimer, по-нисък хематокрит и наличие на придружаващи заболявания на дихателната система. ROC анализът определя оптимални cut-off стойности за урея > 15.49 mmol/l и D-dimer > 1.78 mg/l като показатели с висока диагностична стойност за неблагоприятен изход. Не се установява статистически значима връзка между серумните нива на SAA и клиничния изход.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Възрастта е основен фактор, определящ клиничния фенотип и тежестта на COVID-19. При младите пациенти доминират системните и невросензорните прояви, докато при възрастните преобладават хипоксемията, коморбидността и маркерите на органна дисфункция. Получените резултати могат да подпомогнат ранната оценка на риска и оптимизирането на терапевтичния подход при пациенти с COVID-19.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: COVID-19, клинични характеристики, лабораторни биомаркери

COVID-19, AGE, CLINICAL CHARACTERISTICS, LABORATORY BIOMARKERS, DISEASE SEVERITY.

P. Tenchev^{1,2}, N. Yancheva-Petrova^{1,2}

¹Department for Infectious Diseases, Parasitology and Tropical Medicine, Medical University of Sofia, ²University Multiprofile Hospital for Active Treatment of Infectious and Parasitic Diseases "Prof. Ivan Kirov" - Sofia

AIM: The aim of the present study was to compare the clinical manifestations, laboratory parameters, and factors associated with disease severity and clinical outcome in patients with COVID-19 from different age groups.

MATERIALS AND METHODS: A retrospective cohort study was conducted involving three analyzed cohorts of hospitalized patients with PCR-confirmed COVID-19. Clinical symptoms, comorbidities, laboratory parameters, treatment modalities, disease severity, and clinical outcomes were evaluated. Descriptive statistical analysis, the χ^2 test, Fisher's exact test, the Mann–Whitney U test, ROC analysis, and logistic regression were used for statistical analysis.

RESULTS: Younger patients were characterized by a significantly higher prevalence of fever, headache, myalgia, olfactory and taste disturbances, as well as gastrointestinal symptoms. In contrast, patients aged more than 49 years exhibited a significantly higher frequency of dyspnea, lower oxygen saturation, and severe forms of the disease. Older patients also had a higher prevalence of arterial hypertension, cardiovascular, respiratory, neurological, and renal diseases. Among younger patients, elevated levels of CRP, ferritin, D-dimer, LDH, AST, and ALT, together with lower pO₂ values, were associated with the need for intensive care, while endocrine-metabolic diseases were identified as an independent risk factor for ICU admission. In patients aged 49–104 years, an unfavorable clinical outcome was primarily associated with elevated urea, creatinine, and D-dimer levels, lower hematocrit values, and the presence of chronic respiratory diseases. ROC analysis identified optimal cut-off values of urea >15.49 mmol/L and D-dimer >1.78 mg/L as biomarkers with high diagnostic performance for predicting an unfavorable clinical outcome. No statistically significant association was found between serum SAA levels and clinical outcome.

CONCLUSION: Age is a major determinant of the clinical phenotype and severity of COVID-19. Systemic and neurosensory manifestations predominate in younger patients, whereas hypoxemia, comorbidities, and markers of organ dysfunction are more prominent in older patients. These findings may contribute to early risk stratification and optimization of therapeutic management in patients with COVID-19.

KEYWORDS: COVID-19, clinical characteristics, laboratory biomarkers.

РЕСПИРАТОРНИ ВИРУС-БАКТЕРИЯ КО-ИНФЕКЦИИ ПРИ ХОСПИТАЛИЗИРАНИ ПАЦИЕНТИ: КО-ПАТОГЕНИ, ВЪЗРАСТОВИ И КЛИНИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

*Н. Рукмански¹, Д. Павлова¹, И. Трифонова¹, Н. Корсун¹, В. Левтерова², М. Иванова²,
И. Иванов³, Т. Вълков³, Д. Иванов³, С. Волева³, П. Великов³, Й. Узунова⁴, И. Христова^{1,2}*

ЦЕЛ: Проучването имаше за цел да анализира етиологията, епидемиологичните и клинични характеристики на респираторните вирус-бактерия ко-инфекции при хоспитализирани пациенти през периода октомври 2025 - юни 2026 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани бяха назофарингеални проби на пациенти с остро респираторно заболяване (ОРЗ), хоспитализирани в две болници в гр. София. Multiplex Real-time PCR беше проведен за доказване на 5 често срещани респираторни бактерии и 13 респираторни вируса: SARS-CoV-2, грипни вируси А/Б, респираторно-синцитиален вирус (RSV), човешки метапневмовирус (HMPV), парагрипни вируси (PIV) 1/2/3 тип, риновируси (RV), аденовируси (AdV) и бокавируси (BoV).

РЕЗУЛТАТИ: Изследвани бяха проби на 1087 пациента за наличие на 13 респираторни вируса. Общо 553 проби с доказан респираторен вирус бяха изследвани допълнително за 5 често срещани респираторни бактерии. Установени бяха 124 (22.4%) случая на вирус-бактерия ко-инфекции. *S. pneumoniae* бе доказан в 107 (19.3%) проби, *S. pyogenes* – в 18 (3.3%), *M. pneumoniae* – в 2 (0.4%), *C. pneumoniae* – в 1 (0.2%) проба. *H. influenzae* не бе идентифициран в нито една проба. Сред вирусите най-чест участник в ко-инфекции с бактерии беше RSV (n = 29), следван от RV (n = 28), грипен вирус А(H3N2) (n = 25), BoV (n = 14), AdV (n = 8), HMPV (n = 7), SARS-CoV-2 (n = 5), A(H1N1)pdm09 (n = 4), и PIV 1/3 (n = 4). Сред ко-инфектираните пациенти с вирус и бактерия най-голям брой – 92 (74,2%) бяха деца на възраст 0-4 год. Честотата на ко-инфекциите между вирус и бактерия бе 32% (9/28) при случаи на бронхит, 57% (27/47) при случаи на бронхиолит и 30% (7/23) при случаи на пневмония.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: *S. pneumoniae* бе най-чест участник в ко-инфекции с респираторни вируси. При децата на възраст 0-4 год. бе установена най-висока честота на ко-инфекции между вирус и бактерия. Диагностичните изследвания на хоспитализирани пациенти за често срещани вирусни и бактериални причинители на ОРЗ биха улеснили терапията и прогнозата на заболяванията. Проучването бе финансирано от ФНИ (проект КП-06-Н73/7 от 05.12.2023 г.).

КЛЮЧОВИ ДУМИ: остро респираторно заболяване, вирус-бактерия ко-инфекция, респираторен вирус

COINFECTIONS WITH RESPIRATORY VIRUSES AND BACTERIA IN HOSPITALIZED PATIENTS: CO-PATHOGENS, AGE, AND CLINICAL CHARACTERISTICS

N. Rukmanski¹, D. Pavlova¹, I. Trifonova¹, N. Korsun¹, V. Levterova², M. Ivanova², I. Ivanov³, T. Valkov³, D. Ivanov³, S. Voleva³, P. Velikov³, Y. Uzunova⁴, I. Christova^{1,2}

AIM: The study aimed to analyze the etiology, epidemiological, and clinical characteristics of respiratory virus-bacterial co-infections in hospitalized patients during the period October 2025 - June 2026.

MATERIALS AND METHODS: Nasopharyngeal samples from patients hospitalized with acute respiratory illness (ARI) at two hospitals in Sofia were examined. Multiplex Real-time PCR was performed to detect 5 common respiratory bacteria and 13 respiratory viruses: SARS-CoV-2, influenza viruses A/B, respiratory syncytial virus (RSV), human metapneumovirus (HMPV), parainfluenza viruses (PIV) 1/2/3, rhinoviruses (RV), adenoviruses (AdV), and bocaviruses (BoV).

RESULTS: Specimens from 1,087 patients were tested for 13 respiratory viruses. A total of 553 specimens with detected respiratory viruses were additionally tested for 5 common respiratory bacteria. Virus-bacteria co-infections were identified in 124 (22.4%) cases. *S. pneumoniae* was detected in 107 (19.3%) samples, *S. pyogenes* in 18 (3.3%), *M. pneumoniae* in 2 (0.4%), and *C. pneumoniae* in 1 (0.2%) sample. *H. influenzae* was not identified in any sample. Among viruses, the most frequent participant in co-infections with bacteria was RSV (n = 29), followed by RV (n = 28), influenza A(H3N2) (n = 25), BoV (n = 14), AdV (n = 8), HMPV (n = 7), SARS-CoV-2 (n = 5), A(H1N1)pdm09 (n = 4), and PIV 1/3 (n = 4). Among the patients co-infected with a virus and bacteria, the largest number, 92 (74.2%), were children aged 0-4 years. The incidence of viral and bacterial co-infections was 32% (9/28) in bronchitis, 57% (27/47) in bronchiolitis, and 30% (7/23) in pneumonia.

CONCLUSION: *S. pneumoniae* was the most common participant in co-infections with respiratory viruses. In children aged 0-4 years, the highest frequency of co-infections between viruses and bacteria was found. Diagnostic testing of hospitalized patients for common viral and bacterial causes of ARI would facilitate management and prognosis of the diseases. The study was funded by the Bulgarian National Science Fund (project KP-06-N73/7, dated 05.12.2023).

KEYWORDS: : acute respiratory illness, virus–bacteria co-infection, respiratory virus

СХОДЕН В- И Т-КЛЕТЪЧЕН ИМУНЕН ОТГОВОР СЛЕД ДВЕ РАЗЛИЧНИ COVID-19 ИРНК ВАКСИНИ ПРИ ОГРАНИЧЕН ВА.2.86-СПЕЦИФИЧЕН ОТГОВОР НА В-КЛЕТКИТЕ НА ПАМЕТТА

Я. Хараламбиева¹, Р. Кенеди¹

¹Мейо Клиник, Рочестър Минесота, САЩ

ЦЕЛ: Представяме проучване на В- и Т-клетъчния имунен отговор към две различни 2023 COVID-19 иРНК ваксини. В- и Т-клетъчният имунен отговор бе проследен във времето спрямо: SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1, подвариантите на Omicron BA.4/BA.5 и XBB.1.5, както и спрямо мутиралния вариант BA.2.86 (Pirola), предшественик на вариантите JN.1 и KP.2 (FLiRT), включени във ваксината за сезон 2024–2025 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Участниците в проучването (n=50) бяха имунизирани с бивалентна иРНК ваксина срещу SARS-CoV-2, базирана на оригиналния щам и вариантите BA.4/BA.5 (група А, n=15), или с моновалентна иРНК ваксина базирана на XBB.1.5 (група Б, n=35). Кръвни проби бяха събрани преди ваксинацията и на 1-вия, 6-ия и 12-ия месец след ваксинацията за изследване на В-клетките на паметта (МВС отговор) към различни RBD и S антигени (В-клетъчен ELISpot), както и на CD4+ Т-клетъчния отговор (IL-21/Tfh, IFN γ и IL-2 чрез FluoroSpot). Статистическите анализи бяха извършени с тестове на Уилкоксън (Wilcoxon Rank Sum и Signed Rank Tests).

РЕЗУЛТАТИ: Не установихме значими различия в честотата на антиген-специфичните В-клетки на паметта (МВС) между групи А и Б, с изключение на 6-ия месец, когато в група А се наблюдаваха малко по-високи МВС отговори към всички антигени ($p<0.02$). През целия период на проследяване бяха установени по-високи МВС отговори, специфични за RBD или S протеина на Wuhan-Hu-1, в сравнение с останалите изследвани варианти ($p<0.01$), което е в съответствие с феномена „първичен антигенен грях“/immune imprinting. През целия период на проследяване се наблюдаваше значително по-слаб МВС отговор към възникващия SARS-CoV-2 вариант BA.2.86 (RBD и цял S протеин) в сравнение с останалите изследвани антигени ($p\leq 0.01$). На 1-вия месец BA.2.86 RBD-специфичният МВС отговор беше 3 до 4,8 пъти по-нисък в сравнение с останалите RBD-специфични МВС отговори ($p<2\times 10^{-6}$). Установени бяха минимални различия между вариант-специфичните CD4+ Т-клетъчни отговори.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Иmunният отговор на RBD- и Spike-специфичните В-клетки на паметта (МВС) след две различни иРНК ваксини демонстрира доказателства за „първичен антигенен грях“/immune imprinting. Силно ограниченият BA.2.86-специфичен МВС отговор предполага повишена податливост към възникващите негови подварианти.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: В-клетъчен отговор, Т-клетъчен отговор, COVID-19 ваксина

SIMILAR MEMORY B AND T CELL RESPONSES IN RECIPIENTS OF TWO DIFFERENT 2023 COVID-19 MRNA VACCINE FORMULATIONS WITH A RESTRICTED SARS-COV-2 BA.2.86-SPECIFIC MBC RESPONSE

I. Haralambieva¹, R. Kennedy¹

¹Mayo Clinic, Rochester MN

AIM: We report a vaccine study on memory B/T cell responses after receipt of one of two different 2023 COVID-19 mRNA vaccine formulations. Memory B/T cell responses over time were assessed to the SARS-CoV-2 strain Wuhan-Hu-1, Omicron subvariants BA.4/BA.5, XBB.1.5, and the mutated SARS-CoV-2 BA.2.86/Pirola variant (a predecessor of JN.1 and the KP.2 lineage/FLiRT in the 2024-2025 vaccine).

MATERIALS AND METHODS: The previously primed/immunized study subjects (n=50) received the 2023 bivalent ancestral strain/BA.4/BA.5 mRNA vaccine (Group A, n=15) or the monovalent XBB.1.5 mRNA vaccine (Group B, n=35). Blood was collected at baseline, 1 Month, 6 Months and 12 Months post-vaccination for assessment of memory B cell (MBC) frequencies to different RBD and S antigens (memory B cell Elispot) or CD4+ T cell responses (IL-21/Tfh, IFN γ , IL-2 by Fluorospot). Analyses were performed using the Wilcoxon Rank Sum or Signed Rank Tests.

RESULTS: We found no significant differences in the antigen-specific MBC frequencies between Group A subjects and Group B subjects at any timepoints, except for the results at 6 months (higher MBC responses to all antigens in Group A subjects, $p < 0.02$). We observed higher Wuhan-Hu-1 RBD- or S-specific MBC responses compared to all variant-specific MBC responses at all timepoints ($p < 0.01$), consistent with the “original antigenic sin” experience. Importantly, we observed a largely reduced MBC response to the SARS-CoV-2 BA.2.86 (RBD, whole S protein) compared to all other MBC responses at all study timepoints ($p \leq 0.01$). At Month 1, the BA.2.86 RBD-specific MBC response was 3 to 4.8-fold lower compared to other RBD-specific MBC responses ($p < 2 \times 10^{-6}$). Limited difference between variant-specific CD4+ T cell responses was found.

CONCLUSION: The RBD and Spike-specific MBC responses to two different vaccine formulations demonstrated laboratory evidence of original antigenic sin. The largely restricted BA.2.86-specific MBC response suggested immune evasion and increased susceptibility to its arising subvariants.

KEYWORDS: Memory B cell (MBC) response, T cell response, COVID-19 vaccine

Т-КЛЕТЪЧНИ И РАЗТВОРИМИ БИОМАРКЕРИ, ХАРАКТЕРИЗИРАЩИ ДЪЛЪГ COVID И СИНДРОМ НА ХРОНИЧНАТА УМОРА

Р. Димитрова^{1,4}, Я. Тодорова^{1,4}, Т. Калфова², С. Петров², М. Божкова², М. Ивановска², Д.
Дудова², М. Мурджева³, Х. Тасков¹ и М. Николова^{1,4}

¹Национална референтна лаборатория по имунология, Национален център по заразни и паразитни болести, София, ²Катедра по медицинска микробиология и имунология „проф. д-р Елисей Янев“ и Научноизследователски институт, Медицински университет – Пловдив, ³Катедра микробиология и вирусология, Медицински университет Плевен, ⁴Програма за научни изследвания, иновации и развитие на МУ-Пловдив (ПСНИИР-МУП), Медицински университет Пловдив

ЦЕЛ: Синдромът на хронична умора (CFS) и дългият COVID-19 са пост-инфекциозни синдроми, засягащи значително качеството на живот. Независимо от сходната психо-соматична симптоматика, имунопатогенезата им не е изяснена. Изследван е широк набор от клетъчни и серумни биомаркери с цел идентифициране на Т-лимфоцитни субпопулации, разграничаващи двата синдрома и корелиращи с тежестта на имунометаболитните промени и клиничната симптоматика.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изолирани периферни мононуклеарни клетки (ПМНК) и серуми от донори със синдром на хронична умора (CFS, n=87) и дълъг COVID-19 (LC, n=50) са сравнени със здрави контроли (HC, n=38). Чрез многопараметърна флоуцитометрия (FACSAria III, софтуер FACSDiva v9.0.1 и FloJo v10.10.0) са определени 60 ефекторни и регулаторни Т-клетъчни субпопулации. Чрез ELISA са изследвани 12 серумни биомаркера, свързани с оксидативен, нитрозативен стрес и повишена чревна пропускливост. Психосоматичните симптоми са оценени по скалите HAM-A, HAM-D, FF. Статистическият анализ (ANOVA, ANCOVA, Spearman's correlation) е извършен с SPSS v.26. За идентифициране на биомаркери с диагностична и предиктивна значимост са използвани Random Forest класификация и логистична регресия.

РЕЗУЛТАТИ: Синдромните групи се отличават от здравите контроли по значимо намалени Th17 ефектори ($p<0.001$), нарастване на дискордантно активирани CD38–HLA-DR+T ($p<0.05$) и на регулаторните субпопулации CD15s+CD161–eTreg ($p<0.001$) и CD73+nTreg ($p<0.05$). Имунологичните маркери корелират силно помежду си, с някои биохимични маркери (CD38–HLA-DR+T/NOS3, $p<0.001$, $r=0.34$; GARP+Treg / GTX1; $p<0.001$, $r=-0.27$), но не и с тежестта на симптомите. Комбинацията MDA, IgG-LPS, CD38–HLA-DR+T, CD73+nTreg, CD15s+CD161–eTreg и Th17 разграничава трите групи с умерена достоверност. CFS групата се отделя отлично от HC, докато LC е по-хетерогенна и частично се припокрива с другите две. Серумният малондиалдехид (MDA), маркер на оксидативен дистрес, е единственият независим предиктор, разграничаващ CFS от LC.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Увеличената чревна пропускливост, хроничната Т-клетъчна активация, свързаните промени в регулаторния Т-клетъчен пул, Th17/Treg дисбаланс, оксидативен и нитрозативен стрес са основна имунопатогенетична ос при двата синдрома. CFS се отличава с по-изразени промени на Т-клетъчните маркери и по-напреднали имунометаболитни нарушения.

Благодарности:

Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ 2021 – 2027 г. Договор BG16RFPR002-1.014-0017 „Център за компетентност „Фундаментални, транслиращи и клинични изследвания в областта на инфекциите и инфекциозната имунология“, „Програма за стратегически изследвания и иновации за развитие на МУ – Пловдив (ПСНИИР-МУП)“, Договор № BG-RRP-2.004-0007-C01, по Националния план за възстановяване и устойчивост, финансиран от Европейския съюз.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: пост-инфекциозни синдроми, многопараметърна флоуцитометрия

T-CELL AND SOLUBLE BIOMARKERS CHARACTERIZING LONG COVID AND CHRONIC FATIGUE SYNDROME

R. Dimitrova^{1,4}, Y. Todorova^{1,4}, T. Kalfova², S. Petrov², M. Bozhkova², M. Ivanovska², D. Dudova², M. Murdjeva³, H. Taskov⁴, and M. Nikolova^{1,4}

¹National Reference Laboratory of Immunology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, ²Department of Medical Microbiology and Immunology “Prof. Dr. Elissay Yanev”, Medical University of Plovdiv, ³Department of Microbiology and Virology, Medical University of Pleven, ⁴Research and Innovation Program for the Development of MU-PLOVDIV (SRIPD-MUP), Medical University of Plovdiv;

AIM: Chronic Fatigue Syndrome (CFS) and Long COVID-19 are post-infectious syndromes that significantly affect quality of life. Despite similar psychosomatic symptoms, their immunopathogenesis remains unclear. A wide range of cellular and serum biomarkers was investigated to identify T-lymphocyte subpopulations that distinguish between the two syndromes and correlate with the severity of immunometabolic changes and clinical symptoms.

MATERIALS AND METHODS: Isolated peripheral mononuclear cells (PMNs) and sera from donors with chronic fatigue syndrome (CFS, n=87) and long COVID-19 (LC, n=50) were compared with healthy controls (HC, n=38). Sixty effector and regulatory T-cell subpopulations were determined by multiparameter flow cytometry (FACS Aria III, FACSDiva v9.0.1 and FloJo v10.10.0 software). Twelve serum biomarkers associated with oxidative, nitrosative stress and increased intestinal permeability were examined by ELISA. Psychosomatic symptoms were assessed using the HAMA, HAMD, FF scales. Statistical analysis (ANOVA, ANCOVA, Spearman’s correlation) was performed with SPSS v.26. Random Forest classification and logistic regression were used to identify biomarkers with diagnostic and predictive significance.

RESULTS: Syndrome groups differed from healthy controls by significantly reduced Th17 effectors ($p<0.001$), increased discordance activated CD38–HLA-DR+T ($p<0.05$) and regulatory subsets CD15s+CD161–eTreg ($p<0.001$) and CD73+nTreg ($p<0.05$). Immunological markers correlated strongly with each other, as well as with some biochemical markers (CD38–HLA-DR+T/NOS3, $p<0.001$, $r=0.34$; GARP+Treg / GTX1; $p<0.001$, $r=-0.27$), but not with symptom severity. The combination of MDA, IgG-LPS, CD38–HLA-DR+, CD73+nTreg, CD15s+CD161–eTreg and Th17 differentiated the three groups with moderate reliability. The CFS group is well separated from HC, while LC is more heterogeneous and partially overlaps with the other two. Serum malondialdehyde (MDA), a marker of oxidative distress, was the only independent predictor distinguishing CFS from LC.

CONCLUSION: Increased intestinal permeability, chronic T-cell activation and associated changes in the regulatory T-cell pool, Th17/Treg imbalance, oxidative and nitrosative stress emerge as the main immunopathogenetic axis in both syndromes. CFS is distinguished by more pronounced changes in T-cell markers and advanced immunometabolic damage.

Acknowledgments

Programme „Research, Innovation and Digitalization for Smart Transformation 2021 – 2027“Contract BG16RFPR002-1.014-0017 „Center of Competence ImmunoPathogen“. “Strategic Research and Innovation Programme for the Development of the Medical University–Plovdiv (SRIPD-MUP)” Contract No BG-RRP-2.004-0007-C01”.

KEYWORDS: post-infectious syndromes, multiparameter flow cytometry

ТУБЕРКУЛОЗА В БЪЛГАРИЯ – МИКРОБИОЛОГИЧНИ И ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ

Ю. Атанасова¹, А. Янева², С. Йорданова¹, С. Йорданов¹, А. Байкова¹

¹НРЛ по ТБ, НЦЗПБ, ²Дирекция „Обществено здраве“, МЗ

ЦЕЛ: Да се анализират микробиологичните и епидемиологичните аспекти на ТБ в България, с акцент върху ролята на микробиологичната диагностика.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Проведен е ретроспективен анализ на епидемиологичните данни, лекарствената резистентност и методите за микробиологична диагностика на ТБ в България през 2024 г.

РЕЗУЛТАТИ: Отчетената заболяемост за 2024 г. за страната е 14,2/100000 (n=913), което е значително по-високо от средното ниво за страните от ЕС. Лабораторно микробиологичното потвърждаване на случаите в страната е 49,7% (n=454), при таргерт за държавите от ЕС от >80%. Тестове за лекарствена чувствителност са проведени при 66,5% (n=302) от доказаните случаи на ТБ, от тях 3% (n=9) са с MDR TB. Нисък е и процента на използваните бързи молекулярно-генетични тестове за доказване на ТБ. Децата до 15 г. лекувани от ТБ са 3,4% (n=31). Чужди граждани с ТБ са 0,2% (n=2) от докладваните. Тествани за ХИВ са 72,4% (n=661) от пациентите с ТБ, като сред тях има един случай на коинфекция.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Получените резултати показват, че заболяемостта от ТБ в България остава по-висока в сравнение със средните стойности за страните от ЕС. Недостатъчният дял на лабораторно микробиологично потвърдените случаи, ограниченият обхват на тестовете за лекарствена чувствителност и ниското приложение на бързите молекулярно-генетични методи очертават необходимост от подобряване на диагностичния капацитет и ранното откриване на заболяването. Наличието на случаи на MDR-TB подчертава значението на своевременната диагностика и контрол на лекарствената резистентност.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: туберкулоза, микробиологични тестове, заболяемост

БЛАГОДАРНОСТИ: НП за превенция на туберкулоза в Р България 2026-2031; Проект № BG16RFPR002-1.014-0017-I01 Център по компетентност „Фундаментални, транслационни и клинични изследвания на инфекциите и имунитета“ на програмата за „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ 2021-2027 и ФНИ КП-06-Н93/5/09.12.2025 г.

TUBERCULOSIS IN BULGARIA – MICROBIOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS

Y. Atanasova¹, A. Yaneva², S. Yordanova¹, S. Yordanov¹, A. Baykova¹

¹NRL TB, NCIPD, ²Public Health Directorate, Ministry of Health

AIM: To analyze the microbiological and epidemiological aspects of TB in Bulgaria, with emphasis on the role of microbiological diagnostics.

MATERIALS AND METHODS: A retrospective analysis of epidemiological data, drug resistance and methods for microbiological diagnosis of TB in Bulgaria was conducted for 2024

RESULTS: In 2024, the reported TB incidence in Bulgaria was 14.2 per 100,000 population (n=913), significantly higher than the EU average. Laboratory microbiological confirmation was achieved in 49.7% (n=454) of cases, compared to the EU of >80%. Drug susceptibility testing was performed in 66.5% (n=302) of confirmed TB cases, with 3% (n=9) identified as MDR TB. The use of rapid molecular diagnostic tests used remained limited. Children

under 15 years accounted for 3.4% (n=31) of TB cases, while foreign citizens represented 0.2% (n=2). HIV testing was performed in 72.4% (n=661) of TB patients, with one reported case of TB/HIV co-infection.

CONCLUSION: The results show that the incidence of TB in Bulgaria remains higher than the EU average. The low proportion of laboratory-confirmed cases, limited drug susceptibility testing, and insufficient use of rapid molecular diagnostic methods highlight the need to improve diagnostic capacity and early disease detection. The presence of MDR-TB cases highlights the importance of timely diagnosis and control of drug resistance. The presence of MDR-TB cases further emphasizes the importance of timely diagnosis and effective control.

KEYWORDS: tuberculosis, microbiological tests, incidence

ACKNOWLEDGMENTS: The study was funded by National Program for Tuberculosis Prevention in the Republic of Bulgaria 2026-2031; Project No BG16RFPR002-1.014-0017-I01 Center of Competence "Fundamental, translational and clinical investigations on infections and immunity", under the "Scientific research, innovation, and digitalization for intelligent transformation 2021-2027" programme and Bulgarian National Science Fund КП-06-H93/5/09.12.2025.

ТЕНДЕНЦИИ ПРИ *MYCOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX ИНФЕКЦИИТЕ

С. Йорданова¹, А. Байкова¹, С. Йорданов¹, Ю. Атанасова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Целта на настоящото проучване беше да се определи разпространението на MAC сред български пациенти и да се оценят тенденциите през годините.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Проучването представя резултатите, получени през периода 2023–2025 г. Клинични проби от пациенти, суспектни за туберкулоза или други микобактериози, бяха обработени съгласно стандартните процедури, описани в националните и европейските ръководства: деконтаминация, култивиране и видова идентификация (GenoType Mycobacterium CM, AS, NTM-DR, Bruker). За обобщаване на данните беше използван дескриптивен статистически анализ. Получените резултати бяха сравнени с тези от наши предходни проучвания чрез χ^2 -тест за тенденция.

РЕЗУЛТАТИ: През изследвания период общо 234 пациенти бяха с положителни култури за нетуберкулозни микобактерии (NTM). Повечето проби бяха от дихателната система (n = 220). Положителните извънбелодробни проби включваха дуоденални аспирати (n = 2), фекални проби (n = 2), плеврални аспирати (n = 2), раневи секрети (n = 2), хемокултура (n = 1), урина (n = 1) и неизвестни (n = 4). Съотношението мъже:жени беше приблизително 1:1, а медианната възраст – 66,5 години (IQR: 57–73,5 години). Представителите на MAC представляваха 47% (n = 114) от всички изолати на NTM. *M. intracellulare* беше най-често идентифицираният вид (n = 69; 29,5%), следван от *M. avium* (n = 37; 15,8%), *M. chimaera* (n = 4; 1,7%) и други неуточнени видове от комплекса (n = 4; 1,7%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Установена беше статистически значима тенденция към нарастване на изолирането на MAC в България с течение на времето (χ^2 за тенденция = 78,6; p < 0,0001).

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *M. avium* complex

БЛАГОДАРНОСТИ: Проучването е осъществено благодарение на ФНИ КП-06-M91/2/03.12.2025 и Договор № BG16RFPR002-1.014-0017-I01 Център по компетентност „Фундаментални, транслиращи и клинични изследвания на инфекциите и имунитета“ на програмата за „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ 2021-2027.

TRENDS IN MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX (MAC) INFECTIONS

S. Yordanova¹, A. Baykova¹, S. Yordanova¹, Y. Atanasova¹

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: The aim of the present study was to determine the prevalence of MAC among Bulgarian patients and to assess the trends over the years.

MATERIALS AND METHODS: This study presents the results obtained during the period 2023–2025. Clinical samples from patients suspected of having tuberculosis or other mycobacterial diseases were processed according to standard procedures outlined in national and European guidelines: decontamination, culture, and species identification (GenoType Mycobacterium CM, AS, NTM-DR, Bruker). Descriptive statistical analysis was used to summarize the data. The obtained results were compared with those from our previous studies using the chi-square test for trend.

RESULTS: During the study period, a total of 234 patients had positive cultures for nontuberculous mycobacteria (NTM). Most analysed specimens originated from the respiratory tract (n = 220). Positive non-respiratory specimens included duodenal aspirates (n = 2), feces (n = 2), pleural aspirates (n = 2), wound exudates (n = 2), blood cultures (n = 1), urine samples (n = 1), and specimens of unknown origin (n = 4). The male-to-female ratio was approximately 1:1, and the median age was 66.5 years (IQR: 57–73.5 years). MAC species accounted for 47% (n = 114) of all NTM isolates. *M. intracellulare* was the most frequently identified species (n = 69, 29.5%), followed by *M. avium* (n = 37, 15.8%), *M. chimaera* (n = 4, 1.7%), and other unspecified MAC species (n = 4, 1.7%).

CONCLUSION: A significant increasing trend in MAC isolation in Bulgaria was observed over time (χ^2 for trend = 78.6, $p < 0.0001$).

KEYWORDS: *M. avium* complex

ACKNOWLEDGMENTS: The study was funded by Bulgarian National Science Fund, Project КП- 06-M91/2/03.12.2025 and by Project No BG16RFPR002-1.014-0017-I01 Center of Competence "Fundamental, translational and clinical investigations on infections and immunity", under the "Scientific research, innovation, and digitalization for intelligent transformation 2021-2027" programme.

RSV – ТЕЖЕСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕТО ПРИ ДЕЦА

И. Христова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

Респираторно-синцитиалният вирус (RSV) е водещ причинител на инфекции на долните дихателни пътища при кърмачета и малки деца. Клиничната изява варира от леки инфекции на горните дихателни пътища до бронхиолит, пневмония, хипоксемия и апнея, като тежестта на заболяването при отделното кърмаче трудно може да бъде предвидена. Глобалните данни показват значителна заболеваемост и болнична тежест, като RSV е сред основните причини за хоспитализация при кърмачета. Значителна част от хоспитализираните деца са доносени и преди това здрави. Почти всички деца се срещат с RSV през първите две години от живота, а най-висока заболеваемост се наблюдава през първата година. RSV инфекцията е свързана както с остра клинична тежест, така и с последващи усложнения и значително натоварване за извънболничната и болничната

помощ. Сезонният характер на инфекцията допълнително определя периода на риск, като както родените преди, така и по време на RSV сезона кърмачета могат да бъдат хоспитализирани. Данните подчертават значимостта на RSV като медицински проблем в ранната детска възраст и необходимостта от стратегии за защита на новородените и кърмачетата.

RSV – DISEASE BURDEN IN CHILDREN

I. Christova¹

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases

Respiratory syncytial virus (RSV) is a leading cause of lower respiratory tract infections in infants and young children. Clinical presentation ranges from mild upper respiratory tract infections to bronchiolitis, pneumonia, hypoxemia, and apnea, with the severity of the disease in any given infant being difficult to predict. Global data indicate significant morbidity and a substantial burden on hospitals, with RSV being a primary cause of hospitalization among infants. A significant proportion of hospitalized children are full-term and previously healthy. Almost all children are exposed to RSV within the first two years of life, with the highest incidence observed during the first year. RSV infection is associated with both acute clinical severity and subsequent complications, placing a significant burden on outpatient and inpatient care services. The seasonal nature of the infection further defines the period of risk, as infants born both before and during the RSV season may require hospitalization. These data highlight the significance of RSV as a medical issue in early childhood and underscore the need for strategies to protect newborns and infants.

СЕСИЯ IV – СЕКСУАЛНО-ПРЕДАВАНИ ИНФЕКЦИИ

МОЛЕКУЛЯРНО-ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА HIV-1 В БЪЛГАРИЯ

*И. Алексиев¹, А. Парцунева¹, А. Ганчева¹, Р. Димитрова¹, Л. Григорова¹, А. Костадинова¹,
М. Николова¹, Р. Емилова¹, Н. Янчева², Д. Страшимиров², М. Стойчева³, И. Балтаджиев³,
Ц. Дойчинова⁴, П. Парушева⁵, И. Тодорова⁶*

*¹Национален център по заразни и паразитни болести - НЦЗПБ, София, България,
²УМБАЛИПБ "Проф. Иван Киров" ЕАД, София, България, ³Катедра по инфекциозни
болести, паразитология и тропическа медицина, МУ-Пловдив, ⁴Клиника по инфекциозни
болести, УМБАЛ "Д-р Г. Странски", Плевен, ⁵Клиника по инфекциозни болести, УМБАЛ
„Проф. Д-р Ст. Киркович“ АД, Стара Загора, ⁶УМБАЛ "Света Марина" ЕАД, Варна*

Настоящото проучване представя комплексен анализ на молекулярната епидемиология на HIV-1 в България, основан на филогенетични, филодинамични и епидемиологични данни. Установено е значително генетично разнообразие на циркулиращите вирусни варианти, включително множество HIV-1 субтипове, циркулиращи рекомбинантни форми (CRFs) и уникални рекомбинантни форми (URFs), което отразява сложната динамика на вирусното разпространение в страната. Идентифицирани са както широко разпространени в Европа варианти, така и редки генетични линии, вероятно въведени чрез международна миграция, мобилност на населението и трансгранични трансмисионни събития. Филогенетичният и филодинамичният анализ разкриват съществуването на локални трансмисионни клъстери и активни мрежи на предаване, както и множество международни връзки, допринасящи за въвеждането и последващото разпространение на различни вирусни варианти. Установени са асоциации между генетичните характеристики на вируса, демографските фактори и епидемиологичните модели, включително географски и времеви различия. Нарастващото генетично разнообразие на HIV-1 и навлизането на нови субтипове и рекомбинантни форми имат важно значение за общественото здраве. Тези процеси могат да повлияят върху динамиката на епидемията, ефективността на молекулярния надзор, диагностичните алгоритми и мониторинга на антиретровирусната резистентност. Проследяването на генетичната структура на вирусната популация позволява ранно идентифициране на нововъзникващи трансмисионни вериги и подпомага разработването на научно обосновани и таргетирани стратегии за превенция, диагностика и контрол на HIV инфекцията. Получените резултати предоставят ценна информация за оптимизиране на националните политики и укрепване на системите за епидемиологичен надзор в България.

Благодарности:

Това проучване е осъществено с подкрепата на Националната програма за превенция на ХИВ и СПИ 2021 – 2025 и Проект „Център за компетентност „Фундаментални, транслиращи и клинични изследвания в областта на инфекциите и инфекциозната имунология“, финансиран по Програма "Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация 2021-2027", Договор №: BG16RFPR002-1.014-0017-C01

MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HIV-1 IN BULGARIA

I. Alexiev¹, A. Partsuneva¹, A. Gancheva¹, R. Dimitrova¹, L. Grigorova¹, A. Kostadinova¹, M. Nikolova¹, R. Emilova¹, N. Yancheva², D. Strashimirov², M. Stoycheva³, I. Baltadjiev³, T. Doychinova⁴, P. Parusheva⁵, I. Todorova⁶

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, Bulgaria, ²UMHAT of Infectious and Parasitic Diseases "Prof. Ivan Kirov", Sofia, Bulgaria, ³Department of Infectious Diseases, Parasitology and Tropical Medicine, MU-Plovdiv, Plovdiv, Bulgaria, ⁴Clinic of Infectious Diseases, University Hospital "Prof. Dr. G. Stranski", Pleven, Bulgaria, ⁵Clinic of Infectious Diseases, University Hospital "Prof. Dr. St. Kirkovich", Stara Zagora, Bulgaria, ⁶University Hospital "St. Marina", Varna, Bulgaria

This study presents a comprehensive analysis of the molecular epidemiology of HIV-1 in Bulgaria using phylogenetic, phylodynamic, and epidemiological approaches. Considerable genetic diversity was identified among circulating HIV-1 strains, including multiple subtypes, circulating recombinant forms (CRFs), and unique recombinant forms (URFs). The detection of both prevalent European variants and rare genetic lineages indicates multiple introductions of HIV-1 into the country through international mobility and cross-border transmission. Phylogenetic and phylodynamic analyses revealed local transmission clusters, active transmission networks, and international linkages contributing to the dissemination of diverse viral variants. Associations were observed between viral genetic characteristics, demographic factors, and epidemiological patterns, including geographical and temporal differences.

The introduction and establishment of novel HIV-1 subtypes and recombinant forms have important public health implications, potentially affecting epidemic dynamics, molecular surveillance, diagnostic accuracy, and antiretroviral resistance monitoring. Continuous characterization of viral genetic diversity enables the early detection of emerging transmission networks and provides valuable insights into the evolution and spread of HIV-1 in Bulgaria. These findings enhance understanding of HIV transmission dynamics and provide an evidence-based foundation for targeted prevention strategies, optimized surveillance, and effective public health policies aimed at controlling HIV infection in Bulgaria.

Acknowledgements:

This study was carried out with the support of the National Programme for Prevention of HIV and STIs, 2021 – 2025 and Project "CENTER OF COMPETENCE "FUNDAMENTAL, TRANSLATIONAL AND CLINICAL INVESTIGATIONS ON INFECTIONS AND IMMUNITY ", funded by Programme "Scientific Research, Innovation, and Digitalization for Intelligent Transformation 2021-2027" Contract No BG16RFPR002-1.014-0017-C01

РЕЗИСТЕНТНАТА ГОНОРЕЯ: ВСЕ ПО-СЕРИОЗНО ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВО ПРЕД ОБЩЕСТВЕННОТО ЗДРАВЕ В ЕВРОПА

И. Филипова¹, В. Миланова^{1,2}, И. Стойков^{1,2}, Е. Биринджиева³, В. Левтерова^{1,2}

¹Национален център по заразни и паразитни болести, ²Център за компетентност „Имунопатоген“, ³Център за сексуално здраве "CheckPoint Sofia"

ВЪВЕДЕНИЕ: *Neisseria gonorrhoeae* притежава изключителна способност да развива антибиотична резистентност, което все повече ограничава ефективните терапевтични възможности. Появата и разпространението на мултирезистентни (MDR) и екстензивно резистентни (XDR) щамове превръщат гонореята в сериозен проблем за общественото здраве.

ЦЕЛ: Да се обобщят актуалните данни за резистентната гонорея в Европа и да се подчертае значението на

фенотипния и геномния надзор за ранното откриване и ограничаване на резистентните клонове.

ОБЗОР: Данните от европейския надзор показват, че чувствителността към цефтриаксон в повечето страни все още е запазена, но нарастват съобщенията за изолати с намалена чувствителност или резистентност към цефалоспоринови от трета генерация. През 2025–2026 г. редица европейски държави съобщават за цефтриаксон-резистентни MDR/XDR щамове, включително случаи с локална трансмисия. Най-често установяваните молекулярни механизми включват мозаечни *penA* алели при цефалоспоринова резистентност, както и мутации в гените 23S rRNA, *gyrA*, *parC* и *rpsJ*, свързани с резистентност към азитромицин, флуорохинолони и тетрациклини. Към момента в България не са установени фенотипно резистентни към цефтриаксон и цефиксим, нито MDR/XDR щамове по дефиницията на ECDC, въпреки високите нива на резистентност към азитромицин, ципрофлоксацин и тетрациклин и наличието на изолати с намалена чувствителност към цефиксим. Молекулярният анализ на българските изолати разкрива значително генетично разнообразие, идентифицирайки мозаечни *penA* алели при изолатите с намалена чувствителност към цефиксим, както и мутации в гените 23S rRNA, *gyrA*, *parC* и *rpsJ*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Резистентната гонорея се утвърждава като все по-сериозна заплаха за общественото здраве в Европа. Устойчивият фенотипен и геномен надзор, базиран на култивиране на причинителя, определяне на антибиотичната чувствителност и геномно типизиране, както и проследяването на терапевтичните неуспехи и своевременното актуализиране на терапевтичните препоръки, са от съществено значение за запазване ефективността на съществуващите терапевтични възможности.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторите изказват благодарност към всички лаборатории, които изпращат гонококови изолати за националния надзор на антибиотичната резистентност. Целогеномното секвениране е финансирано по процедура BG16RFPR002-1.014 „Устойчиво развитие на центрове за върхови постижения и центрове за компетентност, включително специфични инфраструктури или техни консорциуми от Националната пътна карта за научна инфраструктура“, финансирана от Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ 2021–2027 г., договор BG05M2OP001-1.002-0001-C04.

ANTIMICROBIAL-RESISTANT GONORRHOEA: AN EMERGING PUBLIC HEALTH CHALLENGE IN EUROPE

I. Philipova¹, V. Milanova^{1,2}, I. Stoikov^{1,2}, E. Birindjieva³, V. Levterova^{1,2}

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, ²Center of Competence Immunopathogen, ³Center for Sexual Health CheckPointSofia

INTRODUCTION: *Neisseria gonorrhoeae* has a remarkable capacity to acquire antimicrobial resistance, progressively narrowing effective treatment options. The emergence and spread of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) strains have placed gonorrhoea among infections with a substantial risk of treatment failure.

OBJECTIVE: To review current evidence on antimicrobial-resistant gonorrhoea in Europe and highlight the role of phenotypic and genomic surveillance for the early detection and control of resistant clones.

REVIEW: European surveillance data indicate that ceftriaxone susceptibility remains largely preserved in most countries; however, reports of isolates with decreased susceptibility or resistance to extended-spectrum cephalosporins are increasing. During 2025–2026, several European countries reported ceftriaxone-resistant MDR/XDR strains, including cases with documented local transmission. The most frequently identified molecular mechanisms include mosaic *penA* alleles associated with cephalosporin resistance, together with mutations in the 23S rRNA, *gyrA*, *parC*, and *rpsJ* genes associated with resistance to azithromycin, fluoroquinolones, and tetracyclines. To date, no phenotypically ceftriaxone- or cefixime-resistant isolates, nor MDR/XDR strains according to the ECDC definition, have been identified in Bulgaria, despite high resistance rates to azithromycin, ciprofloxacin, and tetracycline and the presence of isolates with decreased susceptibility to cefixime. Molecular analysis of Bulgarian isolates revealed

substantial genetic diversity, identifying mosaic penA alleles among isolates with decreased cefixime susceptibility, as well as mutations in the 23S rRNA, gyrA, parC, and rpsJ genes.

CONCLUSIONS: Antimicrobial-resistant gonorrhoea represents a dynamic and growing threat in Europe. Sustained culture-based surveillance, antimicrobial susceptibility testing, genomic typing, monitoring of treatment failures and timely updates of treatment guidelines are essential to preserve the effectiveness of remaining therapeutic options.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors are grateful to all laboratories submitting *N. gonorrhoeae* isolates for national antimicrobial resistance surveillance. Whole-genome sequencing was funded by procedure BG16RFPR002-1.014 “Sustainable Development of Centers of Excellence and Centers of Competence, including specific infrastructures or their consortia from the National Roadmap for Research Infrastructure (NRI)” funded by Program “Scientific Research, Innovation and Digitalization for Smart Transformation” 2021-2027 (PNIIDIT) (Grant BG05M2OP001-1.002-0001-C04).

АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧНИ ОКСИДАТИВНИ ПРОФИЛИ НА CD4+ И CD8+ Т-КЛЕТКИ ОТ HIV + ЛИЦА В ЗАВИСИМОСТ ОТ ИМУНОЛОГИЧНОТО ВЪЗСТАНОВЯВАНЕ

Р. Емилова¹, Р. Димитрова², Я. Тодорова¹, И. Алексиев², Л. Григорова², Н. Янчева³, М. Николова¹

¹Национална референтна лаборатория по имунология, НЦЗПБ, София, ²Национална референтна потвърдителна лаборатория по HIV, НЦЗПБ, София, ³СБАЛИПБ „Проф. Иван Киров“, София

ЦЕЛ: Хроничната имунна активация при HIV инфекция е свързана с повишен оксидативен стрес на Т-лимфоцитите. Свободните кислородни видове (ROS) са един от ранните маркери за клетъчна активация в отговор на специфичния антиген. Цел: Да се анализира вътреклетъчното съдържание на ROS в CD4 и CD8 Т-лимфоцити след стимулация с различни HIV антигени и да се сравнят ROS профилите на HIV+ лица на дългосрочна терапия (сART) с пълно и непълно имунологично възстановяване при успешна вирусна супресия.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани са проби от периферна кръв в хода на рутинния имунологичен мониторинг на HIV+ лица, сходни по пол и възраст, придържане и продължителност на сART, и с потиснат вирусен товар: група А, (n=33) с добро имунологично възстановяване и група Б (n=20), с незадоволително имунологично възстановяване. HIV вирусния товар е определен с тест Abbott Real-Time HIV-1 от плазмени проби. Периферни мононуклеарни клетки (ПМНК) от HIV+ лица са стимулирани за 24 ч. в присъствие или отсъствие на gp120, env и p24 HIV антигени или фитохемаглутинин (положителна контрола). Абсолютният брой (AC) на CD4+ и CD8+Т клетките и количеството на ROS са определени посредством флуцитометрия.

РЕЗУЛТАТИ: Групи А и Б се различаваха значимо по CD4AC (890 ± 157 c/y 301 ± 279 , $p < 0.01$) и CD4/CD8 (1.01 ± 0.4 c/y 0.50 ± 0.3 , $p < 0.001$). В нестимулирани CD4+Т MFIROS бе значимо по-ниска при група А (25.9 ± 14.9 c/y 44.7 ± 26.2 , $p < 0.05$). Същата тенденция се наблюдаваше при CD8+Т (26.3 ± 12.0 c/y 43.9 ± 29.6 , $p > 0.05$), но без статистическа значимост. Неспецифичната стимулация повиши значимо MFIROS, без разлики между двете групи. HIVenv повиши MFIROS в CD4 и CD8Т на донорите от група Б, в сравнение с група А (57.6 ± 21.7 c/y 40.4 ± 18.3 , $p < 0.01$ и 53.5 ± 22.5 c/y 37.5 ± 16.0 , $p < 0.05$), докато gp120 и p24 повишиха MFIROS само в CD4 клетки (група Б c/y група А: 61.9 ± 21.7 c/y 29.2 ± 16.6 , $p < 0.05$ и 46.8 ± 55.7 c/y 25.6 ± 13.0 , $p < 0.05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Измерването на ROS може да допринесе за оценка на имунната активация, особено като част от по-широк функционален профил на имунния отговор включващ имунофенотипни маркери за Т-

клетъчна активация/изтощение и биомаркери за митохондриална дисфункция.
Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект КП-06-H73/9 от 14.12.2023г.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: HIV, ROS, cART мониторинг

ANTIGEN-SPECIFIC OXIDATIVE PROFILES OF CD4+ AND CD8+ T-CELLS FROM HIV+ INDIVIDUALS DEPENDING ON IMMUNOLOGICAL RECOVERY

R. Emilova¹, R. Dimitrova², Y. Todorova¹, I. Alexiev², L. Grigorova², N. Yancheva³, M. Nikolova¹

¹National Reference Laboratory of Immunology, NCIPD, Sofia, ²National Reference Confirmatory Laboratory of HIV, NCIPD, Sofia, ³Specialized Hospital for Active Treatment of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

AIM: Chronic immune activation in HIV infection is associated with increased oxidative stress in T lymphocytes. Reactive oxygen species (ROS) are one of the early markers of cellular activation in response to specific antigen. Objective: To analyze the intracellular ROS content in CD4 and CD8 T-lymphocytes after stimulation with different HIV antigens and to compare the ROS profiles of HIV+ individuals on long-term therapy (cART) with complete and incomplete immunological recovery with successful viral suppression.

MATERIALS AND METHODS: Peripheral blood samples were studied during routine immunological monitoring of HIV+ individuals, similar in gender and age, adherence and duration of cART, and with suppressed viral load: group A, (n=33) with good immunological recovery and group B (n=20), immunological non-responders. Peripheral mononuclear cells (PMNCs) from HIV+ individuals were stimulated for 24 h in the presence or absence of gp120, env and p24 HIV antigens or phytohemagglutinin (positive control). Absolute counts (AC) of CD4+ and CD8+ T cells and the amount of ROS were determined by flow cytometry.

RESULTS: Groups A and B differed significantly in CD4AC (890±157 vs. 301±279, p<0.01) and CD4/CD8 (1.01±0.4 vs. 0.50±0.3, p<0.001). In unstimulated CD4+T MFIROS was significantly lower in group A (25.9±14.9 vs. 44.7±26.2, p<0.05). The same trend was observed in CD8+T (26.3±12.0 vs. 43.9±29.6, p>0.05), but without statistical significance. Nonspecific stimulation significantly increased MFIROS, with no differences between the two groups. HIVenv increased MFIROS in CD4 and CD8T of donors from group B, compared to group A (57.6±21.7 vs. 40.4±18.3, p<0.01 and 53.5±22.5 vs. 37.5±16.0, p<0.05), while gp120 and p24 increased significantly MFIROS only in CD4 cells (group B vs. group A: 61.9±21.7 vs. 29.2±16.6, p<0.05 and 46.8±55.7 vs. 25.6±13.0, p<0.05).

CONCLUSION: Measurement of ROS can contribute to the assessment of immune activation, especially as part of a broader functional profile of the immune response including immunophenotypic markers of T-cell activation/exhaustion, Th1/Th2/Th17 cytokines, and biomarkers of mitochondrial dysfunction. Acknowledgements: supported by research grant KP-06-H73/9/14.12.2023, Bulgarian National Science Fund

KEYWORDS: HIV, ROS, cART monitoring

HPV ПОЗИТИВНОСТ И ПОВЕДЕНЧЕСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ЖЕНИ, ПОСЕЩАВАЩИ ГИНЕКОЛОГИЧЕН ПРЕГЛЕД: ПРЕДВАРИТЕЛНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ПИЛОТНО ПРОУЧВАНЕ

Н. Костова^{1,2}, Г. Стойнева¹, М. Христова-Савова¹, И. Христова¹, П. Великов¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести, ²Софийски университет "Св. Климент Охридски"

ЦЕЛ: Персистиращата инфекция с човешки папиломен вирус (HPV) е основен фактор за развитие на цервикални преинвазивни и рак на маточната шийка. Настоящото пилотно проучване изследва дали HPV-позитивните и HPV-негативните жени се различават по поведенчески, репродуктивни и клинични характеристики.

Методи: Анализирани бяха данни от 55 жени. HPV-позитивните и HPV-негативните групи бяха сравнени чрез описателна статистика, тестове на Welch и Mann–Whitney за възраст, точен тест на Fisher за бинарни променливи, оценка на размер на ефекта и логистични модели, коригирани по възраст, където е приложимо. Поради малкия размер на извадката анализите се разглеждат като предварителни.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Анализирани бяха данни от 55 жени. HPV-позитивните и HPV-негативните групи бяха сравнени чрез описателна статистика, тестове на Welch и Mann–Whitney за възраст, точен тест на Fisher за бинарни променливи, оценка на размер на ефекта и логистични модели, коригирани по възраст, където е приложимо. Поради малкия размер на извадката анализите се разглеждат като предварителни.

РЕЗУЛТАТИ: Тринадесет от 55 жени бяха HPV-позитивни, което съответства на HPV позитивност 23,6% с 95% доверителен интервал 14,4%–36,3%. HPV-позитивните жени бяха по-млади от HPV-негативните, но разликата не беше статистически значима: средна възраст 28,2 срещу 30,7 години, Welch $p=0,265$. След корекция за честота на фалшиво откриване не се установи статистически значима разлика между групите. Въпреки това бяха наблюдавани няколко тенденции. Употребата на каквато и да е контрацепция беше по-честа сред HPV-позитивните жени в сравнение с HPV-негативните: 53,8% срещу 23,8%, OR 3,73, 95% CI 1,02–13,72, Fisher $p=0,082$. Барьерната контрацепция също беше по-честа при HPV-позитивните жени: 30,8% срещу 9,5%, OR 4,22, 95% CI 0,88–20,19, $p=0,079$. Тютюнопушене беше съобщено от 53,8% от HPV-позитивните жени в сравнение с 28,6% от HPV-негативните, OR 2,92, 95% CI 0,81–10,49, $p=0,109$. Наличие на ≥ 2 партньори беше по-често сред HPV-позитивните жени, 15,4% срещу 4,8%. Липсата или непостоянната употреба на презерватив беше сходна между двете групи. Сред HPV-позитивните жени с налично типизиране HPV16 и/или HPV18 бяха установени при 6/12, 50,0%, а множествени HPV типове — при 5/12, 41,7%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: В тази пилотна извадка не се установиха статистически достоверни разлики между HPV-позитивните и HPV-негативните жени след корекция за множествени сравнения. Въпреки това големината на наблюдаваните разлики по отношение на контрацепция, барьерна контрацепция, тютюнопушене и брой партньори предполага потенциално значими сигнали, които налагат продължаване на текущото проучване сред българската популация. Резултатите следва да се интерпретират като предварителни.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: HPV; цервикален скрининг; поведенчески рискови фактори

HUMAN PAPILLOMAVIRUS POSITIVITY AND BEHAVIORAL/CLINICAL CHARACTERISTICS AMONG WOMEN ATTENDING GYNECOLOGIC SERVICES: PRELIMINARY PILOT RESULTS

N. Kostova^{1,2}, G. Stoyneva¹, M. Hristova-Savova¹, I. Christova¹, P. Velikov¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, ²Sofia University 'St. Kliment Ohridski'

AIM: Persistent infection with human papillomavirus (HPV) is a key driver of cervical precancer and cancer. This pilot study explored whether HPV-positive and HPV-negative women differed in behavioral, reproductive, and clinical characteristics.

MATERIALS AND METHODS: We analyzed 55 women from the pilot dataset. HPV-positive and HPV-negative groups were compared using descriptive statistics, Welch and Mann–Whitney tests for age, Fisher exact tests for binary variables, effect sizes, and exploratory age-adjusted logistic models where appropriate. Because of the small sample size, analyses were considered preliminary.

RESULTS: Thirteen of 55 women were HPV-positive, giving an HPV positivity of 23.6% with Wilson 95% CI 14.4%–36.3%. HPV-positive women were slightly younger than HPV-negative women, although the difference was not statistically significant: mean age 28.2 vs 30.7 years, Welch $p=0.265$. No comparison remained statistically significant after false-discovery-rate adjustment. However, several exploratory imbalances were observed. Any contraception was more frequent among HPV-positive women than HPV-negative women: 53.8% vs 23.8%, OR 3.73, 95% CI 1.02–13.72, Fisher $p=0.082$. Barrier contraception was also more frequent in HPV-positive women: 30.8% vs 9.5%, OR 4.22, 95% CI 0.88–20.19, $p=0.079$. Smoking was reported by 53.8% of HPV-positive women compared with 28.6% of HPV-negative women, OR 2.92, 95% CI 0.81–10.49, $p=0.109$. Having ≥ 2 partners was more common among HPV-positive women, 15.4% vs 4.8%. No use or inconsistent condom use was similar between groups. Among typed HPV-positive women, HPV16 and/or HPV18 was detected in 6/12, 50.0%, and multiple HPV types were detected in 5/12, 41.7%.

CONCLUSION: In this pilot dataset, there was no statistically evidence of differences between HPV-positive and HPV-negative women after correction for multiple testing. Nonetheless, the magnitude of observed differences for contraception, barrier contraception, smoking, and partner number suggests potentially relevant signals that require continuation of the study further in this Bulgarian cohort. These findings should be interpreted as preliminary.

KEYWORDS: HPV; cervical screening; behavioral risk factors

НН-1 СЕРОПОЗИТИВНИ ХОРА, ИНФЕКТИРАНИ ПРИ УПОТРЕБА НА ИНЖЕКЦИОННИ НАРКОТИЦИ, РЕГИСТРИРАНИ ДО 31.12.2025 Г.

Р. Димитрова¹, А. Парцунева¹, А. Костадинова¹, А. Ганчева¹, Л. Григорова¹, Р. Емилова²,
Я. Тодорова², М. Николова², И. Алексиев¹

¹Национална референтна потвърдителна лаборатория по НН, НЦЗПБ, ²Национална референтна лаборатория по имунология, НЦЗПБ

ЦЕЛ: Целта на проучването е да бъдат установени разпространението и преобладаващите субтипове на НН-1 сред хората, употребяващи инжекционни наркотици (ИУН).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Кръвните проби – серум и/или плазма, са получени в НРПЛ по НН по време на диагностичния процес и последващия вирусологичен мониторинг. Генотипният анализ е извършен чрез секвениране на *pol* гена с TruGene и/или ViroSeq генотипиращи системи. Новогенерационното секвениране е извършено на платформа Illumina Miseq. Анализът на секвенциите е направен със софтуер COMET v2.4.

Данните за имунологичния статус на пациентите са получени от НРЛ Имунология, съгласно изискванията на Наредба 47 от 11.12.2009 г.

РЕЗУЛТАТИ: До края на 2025 г. в България са регистрирани 4866 HIV-1 серопозитивни лица. Съгласно данните попълнени във „Форма за съобщаване на случай с ХИВ/СПИН“ и направените изследвания установихме, че 670 (13,7%) са инфектирани при употреба на инжекционни наркотици. Лицата, които попадат в трансмисионните групи на хората употребяващи инжекционни наркотици и мъже, които правят секс с мъже са 71 (1,5%). Доминиращите субтипове са CRF 01_AG (48,4%), CRF 02_AG (29,2%) и B (12,9%). Приблизително 1/3 от регистрираните са с ≤ 200 CD4+ T лимфоцити/мл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Резултатите показаха трите най-разпространени субтипа на HIV-1 сред ИУН и тяхното неравномерно разпределение между областите на страната, характеризиращо се с няколко отделни локални епидемии, възникнали с помощта на бързото разпространение на HIV-1 сред тази трансмисионна група. Необходимо е наблюдение на епидемиологичните процеси и целенасочени действия по превенция, ранна диагностика и терапия на HIV.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: HIV-1, ИУН, субтипове

БЛАГОДАРНОСТИ: Това проучване е финансирано от: Националния център по заразни и паразитни болести. От Националната програма за превенция и контрол на ХИВ и сексуално предавани инфекции (СПИ) и от Договор BG16RFPR002-1.014-0017 „Център за компетентност „Фундаментални, транслиращи и клинични изследвания в областта на инфекциите и инфекциозната имунология“, процедура BG16RFPR002-1.014 „Устойчиво развитие на Центрове за върхови постижения и Центрове за компетентност, в т.ч. и на конкретни инфраструктури или техни обединения от НПКНИ“, Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ 2021 – 2027 г.

HIV-1 SEROPOSITIVE PEOPLE, INFECTED BY INJECTING DRUGS UNTIL 31.12.2025

R. Dimitrova¹, A. Partsuneva¹, A. Kostadinova¹, A. Gancheva¹, L. Grigorova¹, R. Emilova², Y. Todorova², M. Nikolova², I. Alexiev¹

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

AIM: The study aimed to determine the prevalence and predominant subtypes of HIV-1 among people who inject drugs (PWID).

MATERIALS AND METHODS: The blood samples - serum or plasma, were obtained in the NRCL of HIV during the diagnostic process and the subsequent virological monitoring. The samples were tested using the ELISA, Line-immunoassay (LIA) and Real-time PCR methods to determine HIV-1 RNA quantitatively. Genotyping analysis was performed by sequencing the pol gene with TruGene or ViroSeq genotyping systems. Sequence analysis was performed with COMET v2.4 software. The data on the immunological status of the patients were obtained from the NRL of Immunology, in accordance with the requirements of Regulation 47 of 11.12.2009.

RESULTS: By the end of the year 2025, 4866 HIV-1 seropositive persons were registered in Bulgaria. According to the data filled in the "HIV/AIDS Case Reporting Form" and the results, we found that 670 (13,7%) were infected by injecting drugs. The people included in the transmission group of both PWIDs and men who have sex with men are 71 (1,5%). The dominant subtypes are CRF 01_AG (48,4%), CRF 02_AG (29,2%) и B (12,9%). Approximately 1/3 of those registered have ≤ 200 CD4+ T lymphocytes/ml.

CONCLUSION: The results showed the three most prevalent subtypes of HIV-1 among PWIDs and their uneven distribution among regions of the country, characterized by several distinct local epidemics, due to the rapid spread

of HIV-1 among this transmission group. Monitoring of epidemiological processes and targeted actions on prevention, early diagnosis and therapy of HIV are necessary to prevent and slow down new infections.

KEYWORDS: HIV-1, PWIDs, subtypes

ACKNOWLEDGMENTS: This work was supported by: National Center of Infectious and Parasitic Diseases, National Program for Prevention and Control of HIV and Sexually Transmitted Infections and Contract BG16RFPR002-1.014-0017 „Center of Competence ImmunoPathogen“, procedure BG16RFPR002-1.014 „Sustainable development of Centers of Excellence and Centers of Competence, including specific infrastructures or their associations of the NRRI“, Programme „Research, Innovation and Digitalization for Smart Transformation 2021 – 2027“

АНАЛИЗ НА СЕРОЛОГИЧНИТЕ МАРКЕРИ ЗА ЕКСПОЗИЦИЯ КЪМ ВИРУСА НА ХЕПАТИТ D ПРИ ПАЦИЕНТИ С АКТИВНА ИЛИ ОКУЛТНА ИНФЕКЦИЯ С ХЕПАТИТ В

Ч. Исмаилова¹, В. Йончева¹, Т. Тенев¹, И. Алексиев², Е. Голкочева-Маркова¹

¹НРЛ „Хепатитни вируси“, Национален център по заразни и паразитни болести, София,

²НРПЛ по HIV, Национален център по заразни и паразитни болести, София

ЦЕЛ: Коинфекцията с Хепатит D вируса (HDV) и Хепатит В вируса (HBV) причинява тежки чернодробни заболявания с ускорена прогресия към цироза и хепатоцелуларен карцином. Нейното диагностично отдиференциране изисква доказване на комплексен панел от серологични маркери. Той включва доказване на повърхностния антиген на HBV (HBsAg), чиито нива могат да бъдат подтиснати от HDV; на антитела срещу капсида на HBV (HBcore); и на специфични антитела срещу HDV (HDV Ab). Точната интерпретация на тези маркери е от съществено значение за идентифициране на коинфекцията. Цел на настоящето проучване е да се оцени разпространението на серологични маркери за HDV сред пациенти с активна и атипична/окултна HBV инфекция и анализ на техния клиничен статус.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Анализирани са 180 серумни проби на пациенти със следните диагностични профили по отношение на HBV инфекция: група 1 – HBsAg-положителни пациенти (активна HBV инфекция, n=115) и група 2 – HBsAg-отрицателни и HBcore total-положителни пациенти (отминала HBV инфекция, n=65). Доказването на серологичните маркери - HBsAg, HBcore total и HDV Ab е извършено посредством ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA, DiaPro).

РЕЗУЛТАТИ: От общо изследваните 180 проби, 12% (21/180) показаха наличие на HDV Ab. При група 1 наличие на HDV Ab се доказва при 16% (18/115) от случаите. При група 2 серопозитивност за HDV антитела бе регистрирана при 5% (3/65) от анализиранияте случаи. От всички 21 положителни проби за наличие на антитела срещу HDV, най-голям дял от 38% (8/21) са с доказана HIV инфекция, а останалите пациенти са с клинични диагнози чернодробна цироза, хроничен хепатит В, остър или неуточнен вирусен хепатит.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Проучването демонстрира висока честота на HDV Ab при HBsAg-положителни пациенти (16%), с най-висок дял сред HIV-позитивните лица (38%). Наличието на 5% серопозитивност при атипичен профил (HBsAg-/HBcore total+) доказва, че отрицателният HBsAg не изключва инфекция с HDV.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: HBV инфекция, HDV Ab, HBcore total

ANALYSIS OF SEROLOGICAL MARKERS FOR HEPATITIS D VIRUS EXPOSURE IN PATIENTS WITH ACTIVE OR OCCULT HEPATITIS B INFECTION

Ch. Ismailova¹, V. Yoncheva¹, T. Tenev¹, I. Alexiev² E. Golkocheva-Markova¹

¹NRL “Hepatitis virus”, National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, ²NRCL of HIV, National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

AIM: Coinfection with Hepatitis D virus (HDV) and Hepatitis B virus (HBV) causes severe liver disease with accelerated progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The differential diagnosis requires the verification of a complex panel of serological markers. This includes testing for the HBV surface antigen (HBsAg), the levels of which can be suppressed by HDV; antibodies against the HBV capsid (anti-HBc); and specific antibodies against HDV (HDV Ab). The accurate interpretation of these markers is essential for identifying the coinfection. The aim of this study is to assess the prevalence of serological markers for HDV among patients with active and atypical/occult HBV infection and to analyze their clinical status.

MATERIALS AND METHODS: A total of 180 serum samples from patients with the following diagnostic profiles regarding HBV infection were analyzed: Group 1 – HBsAg-positive patients (active HBV infection, n=115) and Group 2 – HBsAg-negative and HBcore total positive patients (resolved HBV infection, n=65). The detection of the serological markers—HBsAg, total anti-HBc, and anti-HDV—was performed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, DiaPro).

RESULTS: Out of the 180 total samples tested, 12% (21/180) showed the presence of HDV Ab. In Group 1, the presence of HDV Ab was detected in 16% (18/115) of the cases. In Group 2, seropositivity for HDV antibodies was detected in 5% (3/65) of the analyzed cases. Of all 21 samples positive for HDV antibodies, the highest proportion—38% (8/21)—had confirmed HIV infection, while the remaining patients presented with clinical diagnoses of liver cirrhosis, chronic hepatitis B, and acute or unspecified viral hepatitis.

CONCLUSION: The study demonstrates a high prevalence of anti-HDV among HBsAg-positive patients (16%), with the highest proportion found among HIV-positive individuals (38%). The presence of 5% seropositivity in the atypical profile (HBsAg-/HBc total+) demonstrates that a negative HBsAg result does not exclude the possibility of HDV infection

KEYWORDS: HBV infection, HDV, HBcore total

ПИЛОТНО СРАВНИТЕЛНО ПРОУЧВАНЕ С ДВА МЕТОДА PCR НА ВАГИНАЛНИ ПРОБИ С МИКРОСКОПСКА КАРТИНА НА БАКТЕРИАЛНА ВАГИНОЗА

М.Бонева¹, В. Райкова¹, Р. Гергова¹

¹Катедра по Медицинска микробиология, Медицински Факултет, Медицински
Университет-София

ЦЕЛ: Бактериалната вагиноза (BV) е най-честата причина за вагинално течение при жени в репродуктивна възраст. Характеризира се с дисбаланс на вагиналната микробиота, свръхрастеж на анаеробни бактерии и водеща роля на *G.vaginalis*. Целта е да се изследват и сравнят вагинални проби с микроскопска картина на BV чрез real-time PCR Femoflor Screen и конвенционален PCR.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: 20 проби, охарактеризирани микроскопски като умерено и силно изразена BV са изследвани с конвенционален PCR за *G.vaginalis*, real-time PCR Femoflor Screen и културелно аеробно.

РЕЗУЛТАТИ: Изследваните проби са разпределени в две групи: 1. умерено изразена BV (n=4) и 2. изразена BV (n=16). В група 1 Femoflor Screen установява запазена доминация на лактобацили над 68% от общата бактериална маса при всички. Групата *G.vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* е с нисък относителен дял (0.2–2.3% от общата бактериална маса). Конвенционалният PCR за *G. vaginalis* е положителен при 50%. В група 2 микробиологичният профил е значително по-хетерогенен. Делът на лактобацилите е рязко редуциран (0.2–23% от общата бактериална маса) в 68,75% с доминиране на *G.vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas*. Конвенционалният PCR за *G. vaginalis* е положителен при 81,25%. По отношение на *Candida spp.*, се наблюдава съвпадение в 95% от пробите, доказани културелно и с Femoflor Screen. Само една от пробите е без растеж, което може да се обясни с високата чувствителност на молекулярните методи. *U. urealyticum*, *M. genitalium* и *M. hominis* са установени в клинично значими количества при съответно 50%, 10% и 10% от пробите.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Установи се отлична корелация между конвенционалния PCR и Femoflor Screen по отношение на *G.vaginalis*, както и между културелното изследване и Femoflor Screen по отношение на *Candida spp.* Малкият брой проби изисква разширяване на проучването и по отношение броя на пробите и на търсените микроорганизми с потенциална роля в патогенезата на BV. Благодарности: Проучването е финансирано от СМН МУ-София, Договор №Д-186/2026г.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Бактериална вагиноза, *G.vaginalis*, PCR

A PILOT COMPARATIVE STUDY USING TWO PCR METHODS ON VAGINAL SAMPLES WITH MICROSCOPIC DIAGNOSIS OF BACTERIAL VAGINOSIS

M. Boneva¹, V. Raykova¹, R.Gergova¹

¹Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Medical University – Sofia

AIM: Bacterial vaginosis (BV) is the most common cause of vaginal discharge in women of reproductive age. It is characterized by an imbalance of the vaginal microbiota, overgrowth of anaerobic bacteria and a leading role of *G. vaginalis*. The aim of this study is to examine and compare vaginal samples with a microscopic diagnosis of BV using real-time PCR Femoflor Screen and conventional PCR.

MATERIALS AND METHODS: Twenty samples characterized microscopically as moderate and severe BV were examined by conventional PCR for *G. vaginalis*, real-time PCR Femoflor Screen and aerobic culture.

RESULTS: The examined samples were divided into two groups: 1. moderate BV (n=4) and 2. severe BV (n=16). In group 1, Femoflor Screen demonstrated preserved lactobacilli dominance above 68% of the total bacterial mass in all samples. The *G. vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* group had a low relative share (0.2–2.3% of total bacterial mass). Conventional PCR for *G. vaginalis* was positive in 50% of cases. In group 2, the microbiological profile was considerably more heterogeneous. The proportion of lactobacilli was sharply reduced (0.2–23% of total bacterial mass) in 68.75% of samples, with dominance of *G. vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas*. Conventional PCR for *G. vaginalis* was positive in 81.25%. Regarding *Candida spp.*, a 95% concordance was observed between culture and Femoflor Screen results. Only one sample showed no growth, which may be explained by the high sensitivity of molecular methods. *U. urealyticum*, *M. genitalium*, and *M. hominis* were detected in clinically significant quantities in 50%, 10%, and 10% of samples, respectively.

CONCLUSION: Excellent correlation was established between conventional PCR and Femoflor Screen regarding *G. vaginalis*, as well as between culture and Femoflor Screen regarding *Candida spp.* The small number of samples requires expansion of the study regarding both the samples number and the range of microorganisms with a potential role in the pathogenesis of BV studied. Acknowledgements: The study was funded by the Medical Research Center of the Bulgarian Medical University Sofia, Contract No Д-186/2026.

KEYWORDS: Bacterial vaginosis, *G.vaginalis*, PCR

СЕСИЯ V – ВАКСИНО-ПРЕДОТВРАТИМИ ИНФЕКЦИИ

РОТАВИРУСЕН ЕНТЕРИТ ПРИ ВЪЗРАСТНИ – ЕПИДЕМИОЛОГИЯ, КЛИНИЧНИ ПРОЯВИ, УСЛОЖНЕНИЯ, ИЗХОД – СОБСТВЕН ОПИТ

М.Пишмишева-Пелева¹, Ст.Коцев¹, М.Шопова¹, Й.Ненчева¹, Кр.Петева²

*¹Инфекциозно отделение – МБАЛ-Пазарджик, ²Микробиологична лаборатория – МБАЛ –
Пазарджик*

ВЪВЕДЕНИЕ: От 50 години ротавирусите се считат за най-честата причина за инфекциозен гастроентерит при кърмачета и малки деца. За разлика от това, ролята им като патогени при възрастни дълго време е била подценявана. Ротавирусната инфекция при възрастни обикновено се проявява с гадене, общо неразположение, главоболие, коремни спазми, диария и повишена температура. Възможно е инфекцията да протече и безсимптомно. Ротавирусната инфекция при имунокомпрометирани възрастни е възможно да има различен ход – от безсимптомна до тежка инфекция. Често срещани епидемиологични условия за ротавирусна инфекция сред възрастни включват ендемично заболяване, епидемични огнища, инфекции, свързани с пътуване, и заболявания, причинени от предаване от дете на възрастен.

ЦЕЛ: Целта на настоящето съобщение е да се представи клиничното протичане и епидемиологичните условия за възникване на ротавирусна инфекция при възрастни.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: За периода януари – юни 2026 година в МБАЛ Пазарджик са лекувани 235 лица с чревна инфекция и при 58 (25%) от тях е доказана ротавирусна инфекция. Използвани са методите на клинично наблюдение, клинично-лабораторни изследвания, микробиологични и вирусологични изследвания на фекална маса.

РЕЗУЛТАТИ: 15 (26%) от болните с ротавирусен ентерит са на възраст над 18 години – 5 мъже и 10 – жени. Средна възраст на заболялите – 59 години (30 – 88 г.). За повръщане съобщават 93%, за диария – 80%, а за повишена температура – само трима болни. Всички пациенти постъпват в увредено състояние, със силни коремни болки, клинични данни за дехидратация втора степен. Не се установяват съществени отклонения в лабораторните показатели. Като усложнения наблюдаваме – хиповолемичен шок – 1, преходна бъбречна недостатъчност с повишаване на остатъчно-азотните тела – 6, декомпенсация на придружаващо заболяване /диабет, хронична бъбречна недостатъчност – 4/. При един пациент е установена коинфекция – ротавирус – Кампилобактер. За контакт с болни деца с ротавирус съобщават 80% от заболялите – настояща или наскоро преминала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Ротавирусната инфекция остава детска болест, но възрастните не са защитени, особено при обгрижване на болно дете. При тях инфекцията протича средно-тежко и тежко с водещи горно диспептични прояви и усложнения. Предвид по-честите придружаващи заболявания сред възрастни, по-често се наблюдават усложнения и декомпенсация. Медицинските специалисти, полагащи грижи за възрастни с гастроентерит, трябва да включат ротавирусите в диференциалната диагноза.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: ротавируси, гастроентерит, възрастни лица

ROTAVIRUS ENTERITIS IN ADULTS: EPIDEMIOLOGY, CLINICAL MANIFESTATIONS, COMPLICATIONS, OUTCOMES, AND OUR EXPERIENCE

M. Pishmisheva-Peleva¹, St. Kotsev¹, M. Shopova¹, Y. Nencheva¹, Kr. Peteva²

¹Department of Infectious Diseases, Pazardzhik Multiprofile Hospital for Active Treatment,

²Microbiology Laboratory, Pazardzhik Multiprofile Hospital for Active Treatment

INTRODUCTION: For the past 50 years, rotaviruses have been considered the most common cause of infectious gastroenteritis in infants and young children. In contrast, their role as pathogens in adults has long been underestimated. Rotavirus infection in adults usually presents with nausea, general malaise, headache, abdominal cramps, diarrhoea, and fever. The infection may also be asymptomatic. In immunocompromised adults, rotavirus infection may have a variable course, ranging from asymptomatic infection to severe disease. Common epidemiological settings for rotavirus infection in adults include endemic disease, epidemic outbreaks, travel-associated infections, and infections resulting from child-to-adult transmission.

AIM: The aim of this report is to present the clinical course and epidemiological circumstances associated with the occurrence of rotavirus infection in adults.

MATERIALS AND METHODS: From January to June 2026, 235 patients with intestinal infections were treated at Pazardzhik Multiprofile Hospital for Active Treatment, and rotavirus infection was confirmed in 58 of them (25%). The methods used included clinical observation, clinical laboratory investigations, and microbiological and virological examination of stool samples.

RESULTS: Fifteen patients (26%) with rotavirus enteritis were over 18 years of age: 5 men and 10 women. The mean age of the patients was 59 years, with a range of 30–88 years. Vomiting was reported by 93% of the patients, diarrhoea by 80%, and fever by only three patients. All patients were admitted in a compromised general condition, with severe abdominal pain and clinical evidence of second-degree dehydration. No significant abnormalities were found in the laboratory parameters. The observed complications included hypovolemic shock in one patient, transient renal failure with elevated urea and creatinine in six patients, and decompensation of an underlying disease, including diabetes mellitus or chronic renal failure, in four patients. One patient was diagnosed with rotavirus–Campylobacter coinfection. Eighty percent of the patients reported current or recent contact with children affected by rotavirus infection.

CONCLUSION: Rotavirus infection remains predominantly a child disease; however, adults are not protected, particularly when caring for an infected child. In adults, the infection follows a moderate-to-severe or severe clinical course, with predominant upper gastrointestinal symptoms and complications. Given the higher prevalence of comorbidities among adults, complications and decompensation of underlying diseases are observed more frequently. Healthcare professionals caring for adults with gastroenteritis should include rotaviruses in the differential diagnosis.

KEYWORDS: rotaviruses, gastroenteritis, adults

ТУБЕРКУЛОЗЕН МЕНИНГИТ

Ц. Дойчинова¹, П. Павлов², Е. Георгиева²

¹Инфекциозна клиника УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ – Плевен, ²Клиника по детска пневмология и фтизиатрия при УМБАЛ „Св. Ив. Рилски“ - София

Туберкулозата е седмата водеща причина за смърт и увреждане в световен мащаб, а туберкулозният менингит е най-тежката форма на извънбелодробна туберкулоза. Той неизменно държи първото място по причина за леталитет в детската възраст – около 50%. Инфекциите на ЦНС са възпалителни заболявания, предизвикани

от различни бактерии, вируси, рикетсии, протозои, гъбички и др., засягащи различни отдели на ЦНС. Те са разпространени в целия свят и са тежко протичащи заболявания с все още сравнително висок леталитет. Невроинфекциите засягат всички възрастови групи, вкл. новородени и старческа възраст. И при двете групи леталитетът е по-висок. По състава на цереброспиналната течност и патоанатомичните изменения в менингите се различават гнойни и серозни менингити. Болшинството от гнойните менингити се предизвикват от бактерии, а голяма част от серозните – предимно от вируси. Междинно положение заема туберкулозният менингит.

Цел на настоящото научно съобщение е представяне на случай на 2-годишно дете с туберкулозен менингит, лекувано в УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ Плевен – диагностични, логистични и терапевтични проблеми. Заболяването протече тежко и протрахирано, но завърши благоприятно.

Лечението на туберкулозния менингоенцефалит е продължително и успехът от него изключително много зависи от възрастта на болния, ранната етиологична диагноза и правилното му провеждане.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: туберкулоза, ЦНС, менингит

TUBERCULOUS MENINGITIS

Ts. Doychinova¹, P. Pavlov², E. Georgieva²

¹Infectious Diseases Clinic, University Hospital "Dr. G. Stranski" – Pleven, ²Clinic of Pediatric Pneumology and Phthisiology at University Hospital "St. Iv. Rilski" - Sofia

Tuberculosis is the seventh leading cause of death and disability worldwide, and tuberculous meningitis is the most severe form of extrapulmonary tuberculosis. It invariably holds the first place in terms of mortality in childhood - about 50%.

CNS infections are inflammatory diseases caused by various bacteria, viruses, rickettsia, protozoa, fungi, etc., affecting different parts of the CNS. They are widespread throughout the world and are severe diseases with a still relatively high mortality rate. Neuroinfections affect all age groups, including newborns and the elderly. In both groups, the mortality rate is higher. Purulent and serous meningitis are distinguished by the composition of the cerebrospinal fluid and the pathoanatomical changes in the meninges. The majority of purulent meningitis is caused by bacteria, and a large part of serous meningitis is caused mainly by viruses. Tuberculous meningitis occupies an intermediate position.

The purpose of this scientific communication is to present a case of a 2-year-old child with tuberculous meningitis, treated at the University Hospital "Dr. G. Stranski" Pleven - diagnostic, logistical and therapeutic problems. The disease was severe and protracted, but did not end favorably.

The treatment of tuberculous meningoencephalitis is long and its success depends extremely much on the age of the patient, early etiological diagnosis and its correct implementation.

KEYWORDS: tuberculosis, CNS, meningitis

МЕНИНГИТ КАТО ЕДИНСТВЕНА ПРОЯВА НА EBV ИНФЕКЦИЯ. КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ.

Ст. Коцев¹, П. Великов², Е. Василева³, М. Пишмипева-Пелева¹

¹Инфекционно отделение – МБАЛ Пазарджик, ²НРЛаборатория „Херпесни вируси“ – НЦЗПБ – София, ³Първо детско отделение – МБАЛ Пазарджик

ВЪВЕДЕНИЕ: Epstein-Barr вирусната инфекция /EBV/ най-често протича безсимптомно или като инфекциозна мононуклеоза с характерните клинични прояви и типични изменения в кръвната картина. Засягането на нервната система като единствена проява на инфекцията се съобщава в по-малко от 1% от случаите.

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ: Представяме случай на EBV менингит при момиче на 9 години, лекувано в Инфекционно отделение на МБАЛ Пазарджик. При постъпването са установени количествени нарушения на съзнанието /обнубилацио/, груб менинго-радикулен синдром /МРС/, оживени сухожилни рефлекс. Клинични прояви на инфекциозна мононуклеоза не са установени при прегледа и в предишните 4 седмици не е имало такива. Установяват се отклонения в клинично-лабораторните показатели – левкоцитоза с гранулоцитоза, повишени стойности на цитолитичните ензими, а в гръбначно-мозъчната течност мононуклеарна плеоцитоза /85% мононуклеари/, протеинорахия и долногранична гликорахия. Диагнозата е потвърдена с доказване на EBV DNA в ликвор и специфични антитела /вкл. авидитет/. Заболяването протече доброкачествено с пълно възстановяване. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** EBV инфекцията може да има много лица и не винаги типични и представеният случай е такъв.

MENINGITIS AS THE SOLE MANIFESTATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION: A CASE REPORT

St. Kotsev¹, P. Velikov², E. Vasileva³, M. Pishmipeva-Peleva¹

¹Department of Infectious Diseases, Pazardzhik Multiprofile Hospital for Active Treatment, ²National Reference Laboratory for Herpesviruses, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, ³First Department of Pediatrics, Pazardzhik Multiprofile Hospital for Active Treatment

INTRODUCTION: Epstein-Barr virus (EBV) infection most commonly follows an asymptomatic course or presents as infectious mononucleosis, with its characteristic clinical manifestations and typical haematological changes. Neurological involvement as the only clinical manifestation of EBV infection occurs in fewer than 1% of cases. **CASE REPORT:** We present a case of EBV meningitis in a 9-year-old girl treated at the Department of Infectious Diseases of Pazardzhik Multiprofile Hospital for Active Treatment. On admission, the patient presented with quantitative impairment of consciousness (obnubilation), a pronounced meningoradicular syndrome, and brisk tendon reflexes. No clinical manifestations of infectious mononucleosis were identified on examination, nor had they occurred during the preceding four weeks. Clinical laboratory investigations revealed leukocytosis with granulocytosis and elevated levels of cytolytic enzymes. Cerebrospinal fluid examination demonstrated mononuclear pleocytosis, with 85% mononuclear cells, elevated protein levels, and glucose levels at the lower limit of normal. The diagnosis was confirmed by the detection of EBV DNA in the cerebrospinal fluid and specific antibodies, including antibody avidity testing. The disease followed a benign course, with complete recovery.

CONCLUSION: EBV infection may present with a wide variety of clinical manifestations, which are not always typical, as demonstrated by the present case.

СЪВРЕМЕНО СЪСТОЯНИЕ НА МОРБИЛИ В БЪЛГАРИЯ: АНАЛИЗ НА ЕПИДЕМИЧНИЯ ВЗРИВ 2026 Г.

Ст. Крумова¹, Л. Маринова¹, Л. Велева¹, Р. Стефанова¹, Н. Владимирова¹, Ж. Гецова¹,
РЗИ²

¹Национален център по заразни и паразитни болести, ²Регионални здравни инспекции в
страната (РЗИ) в страната

ЦЕЛ: Лабораторен и епидемиологичен анализ на епидемичния процес от морбили в страната през 2026 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Използвани са епидемиологични и лабораторни данни за случаите на морбили от информационната система за събиране и анализиране на данни за заболяемостта от морбили, паротит и рубеола. Лабораторният надзор и потвърждаване на случаите са извършени в НРЛ „Морбили, паротит и рубеола“ чрез използване на серологични (ELISA IgM/IgG) и молекулярно-генетични (real time PCR) методи. Проведено е секвениране на N-450 участък от генома на българските изолати.

РЕЗУЛТАТИ: През 2026 г. заболяемостта от морбили в страната е почти десетократно по-висока, в сравнение с предходния петгодишен период (2021-2025 г.). До 26 юни 2026 г. са докладвани 442 случая, от които 367(83%) са лабораторно потвърдени: 254(69%) потвърдени чрез ELISA-IgM маркер и 189(51%) чрез real-time PCR. Боледуват лица предимно от ромската етническа общност (89%), преобладаващо неваксинирани (60%), от областите Враца, Плевен и Ловеч. Единични случаи са регистрирани в областите: Монтана, Софийска област, София-град, Русе, Перник и Варна. Най-засегнати са децата в кърмаческата (под 1г.) и ранната детска възраст (1-4г.). Увеличен е рискът от разпространение на морбили сред медицинския персонал, поради несигурен имунизационен статус. При изследване на 59 пациента с данни за поставена MMR ваксината, при 27(46%) не се доказва наличие на имунитет срещу останалите два компонента на ваксината (паротит и рубеола).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Лабораторното и епидемиологично проучване на инфекциозните агенти стои в основата на елиминационния процес. Високият относителен дял на неимунизирани заболели потвърждава необходимостта от поддържане на постоянно висок имунизационен обхват (≥95%) с две дози ваксина MMR.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: морбили, ELISA IgM, PCR

CURRENT STATUS OF MEASLES IN BULGARIA: ANALYSIS OF THE OUTBREAK IN 2026

St. Krumova¹, L. Marinova¹, L. Veleva¹, R. Stefanova¹, N. Vladimirova¹, Zh. Getstova¹, RHI²

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, ²Regional Health Inspectorates (RHI) in
the country

AIM: Laboratory and epidemiological analysis of the measles outbreak in the country in 2026.

MATERIALS AND METHODS: Epidemiological and laboratory data on measles cases from the information system for collecting and analyzing data on the incidence of measles, mumps, and rubella were used. Laboratory surveillance and confirmation of cases were performed at the NRL for Measles, Mumps, and Rubella using serological (ELISA IgM/IgG) and molecular genetic (real-time PCR) methods. Sequencing of the N-450 region of the measles genome of the Bulgarian isolates was performed.

RESULTS: In 2026, the incidence of measles in the country was almost ten times higher than in the previous five-year period (2021-2025). By June 26, 2026, 442 cases were reported, of which 367 (83%) were laboratory confirmed:

254 (69%) confirmed by ELISA-IgM marker and 189 (51%) by real-time PCR. The sick are mainly people from the Roma ethnic community (89%), predominantly unvaccinated (60%), from the districts of Vratsa, Pleven, and Lovech. Single cases have been registered in the districts of Montana, Sofia region, Sofia-city, Ruse, Pernik and Varna. The most affected are children in the infant (under 1 year) and early childhood (1-4 years). The risk of measles transmission among healthcare workers is increased due to uncertain immunization status. In a study of 59 patients with MMR vaccine history, 27 (46%) did not demonstrate immunity to the other two vaccine components (mumps and rubella).

CONCLUSION: Laboratory and epidemiological investigation of infectious agents is the basis of the elimination process. The high proportion of unvaccinated cases underscores the need to maintain consistently high immunization coverage ($\geq 95\%$) with two doses of measles-mumps-rubella (MMR) vaccine.

KEYWORDS: measles, ELISA IgM, PCR

НЕПОЛИОМИЕЛИТНИ ЕНТЕРОВИРУСИ, СВЪРЗАНИ С ОСТРИ ВЯЛИ ПАРАЛИЗИ И ЛИЦЕВИ ПАРЕЗИ В РАМКИТЕ НА НАЦИОНАЛНИЯ НАДЗОР НА ОВП (2019–2025 Г.)

Ирина Георгиева¹, Виргиния Петкова¹, Ася Стоянова¹

*¹Национална Референтна Лаборатория „Ентеровируси“, Отдел Вирусология, НЦЗПБ,
София, България*

ЦЕЛ: Да се оценят разпространението, клиничната изява и конкретните серотипове неполиомиелитни ентеровируси (NPEVs), изолирани от пациенти, регистрирани в националната система за надзор на ОВП/ЛП в България за периода 2019–2025 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Обект на проучването са общо 1281 пациента. Клиничните материали са обработени по стандартните протоколи на СЗО за надзор на полиомиелита, включващи вирусологична изолация върху клетъчни култури (RD, L20B). Изолатите с цитопатичен ефект са серотипирани чрез микронеутрализационен тест. Всички ОВП са изследвани чрез real-time RT-PCR за директна детекция от клиничен материал, паралелно с клетъчната изолация.

РЕЗУЛТАТИ: От изследваните 1281 лица, ЛП съставлява по-голямата част от обема на надзорната дейност ($n = 1182$), докато ОВП обхваща 74 случая. Динамиката на вирусна циркулация показва отчетлив спад по време на COVID-19 пандемията, достигайки най-ниски стойности през 2023 г. ($N = 101$), последвано от рязко покачване през 2024 г. ($N = 179$) и 2025 г. ($N = 166$). Всички проби за 7-годишния период са потвърдени като отрицателни за полиовируси. Идентифицирани са E30 и E11 в случаи на ОВП, както и 4 случая, в които има отчитане на ентеровирусна РНК, но не и изолиран жизнеспособен вирус. В 9 случая на ЛП са идентифицирани E11, E13, E6, E25 и NPEVs. След 2024 г честотата на нетипируеми чрез класическите серологични методи NPEVs се увеличава.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Периферната лицева пареза генерира над 90% от реалния обем на надзора на ОВП у нас, служейки като критичен филтър за засичане на невротропни ентеровируси. Еховирусите са доминиращ етиологичен агент при ЕВ-индуцираните невромускулни дефицити. Наличието на културално-негативни, но PCR-позитивни проби, ведно с нарастващия брой нетипируеми изолати през 2025 г., подчертава необходимостта от модернизиране на лабораторния протокол и преминаване от класическа микронеутрализация към молекулярно генотипиране (VP1 секвениране).

КЛЮЧОВИ ДУМИ: ентеровирус, надзор, остра вяла парализа, лицева парализа

NON-POLIO ENTEROVIRUSES ASSOCIATED WITH ACUTE FLACCID PARALYSIS AND FACIAL PALSY WITHIN THE FRAMEWORK OF NATIONAL AFP SURVEILLANCE (2019–2025)

Irina Georgieva¹, Virginia Petkova¹, Asya Stoyanova¹

*¹National Reference Laboratory for Enteroviruses, Department of Virology, National Centre of
Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria*

AIM: To evaluate the prevalence, clinical presentation, and specific non-polio enterovirus (NPEV) serotypes isolated from patients registered within the national AFP/FP surveillance system in Bulgaria from 2019 to 2025.

MATERIALS AND METHODS: A total of 1,281 patients were investigated. Clinical specimens were processed using standard WHO polio surveillance protocols, including viral isolation on cell cultures (RD, L20B). Isolates exhibiting cytopathic effects were serotyped using microneutralization assays. All AFP cases were evaluated via real-time RT-PCR for direct detection from clinical material, parallel to cell culture isolation.

RESULTS: Out of the 1,281 individuals screened, FP accounted for the vast majority of the surveillance workload (n = 1,182), while classic AFP comprised 74 cases. Viral circulation patterns demonstrated a noticeable decline during the COVID-19 pandemic, reaching historic lows in 2023 (N = 101), followed by a sharp resurgence in 2024 (N = 179) and 2025 (N = 166). All specimens tested throughout the 7-year period were confirmed negative for polioviruses. Echovirus 30 (E30) and Echovirus 11 (E11) were identified in AFP cases, alongside 4 cases where enteroviral RNA was detected without the isolation of viable virus. In 9 FP cases, E11, E13, E6, E25, and other NPEVs were identified. After 2024, the frequency of untypable NPEVs by classic serological methods increased.

CONCLUSION: Peripheral facial palsy generates over 90% of the actual AFP surveillance workload in Bulgaria, acting as a critical filter for detecting neurotropic enteroviruses. Echoviruses remain the dominant etiological agents of enterovirus-induced neuromuscular deficits. The presence of culture-negative, PCR-positive samples, combined with the rising cohort of untypable isolates by 2025, underscores the necessity to modernize the laboratory protocol and transition from classic microneutralization to molecular genotyping (VP1 sequencing).

KEYWORDS: enterovirus, surveillance, acute flaccid paralysis, facial palsy

МЕДИЦИНСКИЯ ПЕРСОНАЛ И ПРОТИВОГРИПНАТА ВАКСИНАЦИЯ: ОТ ЛИЧЕН ИЗБОР КЪМ ПРОФЕСИОНАЛНА ОТГОВОРНОСТ

П. Великов¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Да се представи подход за ангажиране на медицинските специалисти в България по темата за противогрипната ваксинация, като локални данни за ваксинално поведение се използват за професионална рефлексия и насърчаване на имунизацията.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Презентацията стъпва върху крос-секционно проучване сред медицински специалисти и студенти по здравни грижи в България, проведено през пролетта на 2024 г., както и върху данни за ваксинално доверие, социално влияние и достъп до имунизация. Оценени са предходна противогрипна ваксинация, готовност за ваксинация чрез кратката 7С скала и самооценено колебание.

РЕЗУЛТАТИ: Общо 1175 участници са включени в анализа на кратката 7С скала. През предходните три години 63,8% от медицинския персонал и студенти не са били ваксинирани срещу грип, 15,5% са получили една доза, но не са напълно ваксинирани, а 20,7% са напълно ваксинирани. Ваксинираните участници показват значително по-висока готовност за ваксинация от неваксинираните. Добавянето на кратката 7С скала към

базов модел съществено подобрява разграничаването на ваксинирани и неваксинирани участници. Тези резултати подкрепят, че решенията на медиците не се определят само от знание за инфекцията, а и от възприеман риск, достъп до ваксини, колебание, доверие в институциите и професионалната среда. Ниското ваксинационно покритие сред медицинските специалисти може да отслаби убедителността на препоръките към пациентите.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Повишаването на противогрипната ваксинация сред медицинските специалисти изисква повече от предоставяне на информация. Необходими са лесен достъп до ваксини на работното място, обучение на целия здравен екип и уважителна комуникация, която свързва личния избор с професионалната отговорност и доверието на пациентите.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: противогрипна ваксинация; медицински специалисти; професионална отговорност

HEALTHCARE WORKERS AND INFLUENZA VACCINATION: FROM PERSONAL CHOICE TO PROFESSIONAL RESPONSIBILITY

P. Velikov¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: To present an approach for engaging healthcare workers in Bulgaria on influenza vaccination by using local evidence on vaccination behavior to stimulate professional reflection and encourage immunization.

MATERIALS AND METHODS: The presentation is based on a cross-sectional survey among healthcare workers and healthcare students in Bulgaria, conducted in spring 2024, together with evidence on vaccine confidence, social influence and access to immunization. Previous influenza vaccination, vaccination readiness using the short 7C scale and self-rated hesitancy were assessed.

RESULTS: A total of 1175 participants were included in the short 7C analysis. During the previous three years, 63.8% of healthcare workers and students reported no influenza vaccination, 15.5% had received one dose but were not fully vaccinated, and 20.7% were fully vaccinated. Vaccinated participants had substantially higher vaccination-readiness scores than unvaccinated participants. Adding the short 7C scale to a base model markedly improved discrimination between vaccinated and unvaccinated participants. These findings confirm that healthcare workers' decisions are shaped not only by knowledge, but also by perceived risk, vaccine access, hesitancy, institutional trust and workplace culture. Low vaccination among healthcare workers may weaken the credibility and force of recommendations given to patients.

CONCLUSION: Increasing influenza vaccination among healthcare workers requires more than information provision. It calls for easy workplace access to vaccines, education of the whole healthcare team and respectful communication that links personal choice with professional responsibility and patient trust.

KEYWORDS: influenza vaccination; healthcare workers; professional responsibility

ДОКАЗВАНЕ НА АНТИТЕЛА СРЕЩУ ХЕПАТИТ А И ХЕПАТИТ Е ВИРУСИ В СБОРНА ПЛАЗМА

И. Анастасова¹, Ч. Исмаилова², В. Йончева², Т. Тенев², Е. Голкочева-Маркова²

*¹СУ „Св. Климент Охридски“, Медицински факултет, Медицина, София, ²НРЛ
„Хепатитни вируси“, отдел Вирусология, НЦЗПБ, София*

ЦЕЛ: Сборната плазма служи за промишлено производство на плазмени деривати, които се използват за кръвопреливания на пациенти, подлагани на: операции; лечения на злокачествени заболявания; по-възрастни пациенти с различни съпътстващи заболявания. Имуноглобулините се използват за осигуряването на интравенозна имуноглобулинова терапия. Цел на настоящето проучване е да се изследват сборни плазми за наличие на общи антитела срещу хепатит А вируса и антитела от клас IgG срещу хепатит Е вируса.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Общо 49 сборни плазми от серумната банка на НРЛ „Хепатитни вируси“ са използвани в проучването като всичките са изследвани за наличие на общи антитела срещу хепатит А вируса (HAV Ab), а 46 за антитела от клас IgG срещу хепатит Е вируса (HEV IgG) чрез метода ELISA. Наличието и на двата типа антитела е определено качествено чрез пресмятане на серологичен индекс (R), съгласно инструкциите на производителя.

РЕЗУЛТАТИ: От всички изследвани сборни плазми при 92% (45/49) се доказва наличие на HAV Ab, а при 13% (6/46) – наличие на HEV IgG. Едновременно и двата типа антитела се установиха при 11% (5/46) от изследваните плазми. Направен е анализ на разпределението на плазмите спрямо стойностите на пресметнатия R като за HAV Ab минималния протективен титър се характеризира с $R \geq 1$, а за HEV IgG стойността е ≥ 2 . По отношение на HAV Ab, 16% от плазмите са с R по-нисък или равен на протективния, а 84% се характеризират с многократно по-високи стойности. За HEV IgG установените проценти са съответно 83% за $R < 2$, и само 17% за R между 2 и 10.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Наличието на протективни антитела срещу инфекциозни агенти в продуктите за кръвопреливане участват в осигуряването на интравенозна имуноглобулинова терапия. Установените високи проценти по отношение на HAV Ab са показателни за адекватната имуноглобулинова защита, която може да се осигури при необходимост срещу HAV. Незадоволителните резултати по отношение на HEV са предпоставка за бъдещи по-задълбочени проучвания.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: хепатит А, хепатит Е, протективни антитела

DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST HEPATITIS A AND HEPATITIS E VIRUSES IN POOLED PLASMA

I. Anastasova¹, Ch. Ismailova², V. Yoncheva², T. Tenev², E. Golkocheva-Markova²

*¹Sofia University “St. Kliment Ohridski”, Faculty of Medicine, Sofia, ²NRL “Hepatitis viruses”,
Department of Virology, NCIPD, Sofia*

AIM: Pooled plasma is utilised in the industrial production of plasma derivatives, which are used in blood transfusions for patients undergoing surgical procedures, treatment for malignant diseases, and elderly patients with various comorbidities. Immunoglobulins are utilised in the provision of intravenous immunoglobulin therapy. The objective of this study is to evaluate the presence of antibodies against the hepatitis A virus and IgG-class antibodies against the hepatitis E virus in pooled plasma.

MATERIALS AND METHODS: A total of 49 pooled plasma samples were used in the study; all were tested for the presence of total antibodies against the HAV (HAV Ab), and 46 were tested for IgG antibodies against the HEV

(HEV IgG) using the ELISA method. The presence of both types of antibodies was determined qualitatively by calculating the serological index (R), in accordance with the manufacturer's instructions.

RESULTS: Of all the pooled plasma samples tested, 92% (45/49) were HAV Ab positive, and 13% (6/46) HEV IgG-positive. Concurrent detection of both types of antibodies was observed in 11% (5/46) of the tested plasma. An analysis was performed of the distribution of plasma samples according to their calculated R values. For HAV Ab, the minimum protective titer is characterised by $R \geq 1$, while for HEV IgG, $R \geq 2$. With regard to HAV Ab, 16% of the plasma samples had an R lower than or equal to the protective threshold, while 84% had values that were many times higher. For HEV IgG, the percentages were 83% for $R < 2$ and only 17% for R between 2 and 10.

CONCLUSION: The presence of protective antibodies against infectious agents in blood transfusion products is a significant factor in the provision of intravenous immunoglobulin therapy. The elevated prevalence rates of HAV Ab suggest that immunoglobulin protection is sufficient. The unsatisfactory results obtained in relation to HEV necessitate the execution of additional in-depth studies in the future.

KEYWORDS: hepatitis A, hepatitis E, protective antibodies

ОЦЕНКА НА НАЛИЧИЕТО НА ПРОТЕКТИВНИ АНТИТЕЛА СРЕЩУ ХЕПАТИТ В ВИРУС СРЕД ПАЦИЕНТИ (РОДЕНИ СЛЕД 1992 ГОДИНА), ИЗСЛЕДВАНИ В НРЛ „ХЕПАТИТНИ ВИРУСИ“ ЗА ПЕРИОДА 2018 – 2026 ГОДИНА

В. Йончева¹, Ч. Исмаилова¹, Т. Тенев¹, Е. Маркова¹

¹НРЛ „Хепатитни вируси“, Отдел „Вирусология“, НЦЗПБ

ЦЕЛ: Целта на настоящето проучване е да се оцени наличието на протективни антитела срещу хепатитния В вирус (anti- HBsAg) в серумни проби на пациенти, изследвани в НРЛ „Хепатитни вируси“, НЦЗПБ.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Проучването обхваща периода от 2018 г. – 29.05.2026 год. Изследвани са 126 серумни проби на лица, родени след 1992, чиито проби са отрицателни за наличие на повърхностен антиген на HBV (HBsAg). Количественото доказване на anti- HBsAg е осъществено чрез ELISA метод. Всички проби са с титър >10 mIU/ml и са отчетени като положителни. Положителните проби за anti- HBsAg са изследвани и за наличие или отсъствие на антитела срещу капсидния антиген на HBV (HBcAb), за да се установи дали протективните антитела са придобити само след проведена имунизация или и след прекарана в миналото HBV- инфекция, завършила с оздравяване.

РЕЗУЛТАТИ: Титрите на протективните антитела срещу HBV варират от 10 mIU/mL до >250 mIU/mL. От 126 изследвани пациента, 28 (22%) са положителни и за HBcAb, което е показателно за прекарана HBV инфекцията. 98 (78%) от изследваните за този маркер проби са отрицателни, което показва, че протективните антитела са образувани само след проведена имунизация.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Данните от нашето проучване показват, че 78% от родените след 1992 г. са със серологичен профил, характерен при наличие на имунизация срещу HBV. При 22% от лицата е установен серологичен профил, който се образува след среща с вируса на хепатит В. Високият процент (22%) на лицата, срещали вируса на хепатит В без да са заболели, показва, че най- сигурното средство за защита от хепатит В е имунизацията.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: HBsAb, HBcAb

ASSESSMENT OF THE PRESENCE OF PROTECTIVE ANTIBODIES AGAINST HEPATITIS B VIRUS AMONG PATIENTS (BORN AFTER 1992), WHICH WERE TESTED IN NRL "HEPATITIS VIRUSES" FOR THE PERIOD 2018 – 2026

V. Yoncheva¹, Ch. Ismailova¹, T. Tenev¹, E. Markova¹

¹NRL "Hepatitis Viruses", Department of Virology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD)

AIM: The aim of this study is to assess the prevalence of protective antibodies against HBV (anti-HBsAg) in serum samples from patients tested at the National Reference Laboratory 'Hepatitis Viruses', NCIPD."

MATERIALS AND METHODS: This study was made for the period 2018– 29.05.2026 . There were tested 126 sera samples from individuals, born after 1992, which samples were negative for the presence of HBV surface antigen of hepatitis B virus (HBsAg). Quantitative detection of antibodies to anti-HBsAg was performed using an indirect ELISA method. All samples were with an anti-HBsAg titer > 10 mIU/ml were reported as positive. Positive samples for anti-HBsAg were also tested for the presence or absence of antibodies against capsid antigen of HBV (HbcAb) in order to determine whether the protective antibodies were acquired only following successful immunization or and after a past HBV infection that ended with recovery.

RESULTS: The titers of protective antibodies against HBc were between 10 mIU/mL - >250 mIU/mL. Of the 126 screened patients, a total of 28 (22%) were positive and for HBcAb, which shows previous HBV-infection. 98 (78%) of the samples tested for this marker were negative, which indicates that the protective antibodies were formed only after immunization.

CONCLUSION: The data from our study shows that 78% of those born after 1992. have serological profile, which is characteristic in the presence of the immunization against HBV. In other 22% was determined a serological profile, which is typical after past HBV- infection. The high prevalence (22%) of people, who met the HBV without getting sick shows that the most effective way of protection against hepatitis B is immunization.

KEYWORDS: HBs antibodies, HBcAb

ПЕРСИСТИРАНЕ НА BCG ВАКСИНАТА В ЛАБОРАТОРНИ ЖИВОТИНИ

Десислава Иванова¹, Цветелина Стефанова¹, Стефан Панайотов²

¹БулБио-НЦЗПБ, ²Отдел „Микробиология“, НЦЗПБ, София

Живата, атенюирана BCG ваксина (Bacillus Calmette-Guérin) е единствената ваксина, използвана за имунизация против туберкулоза от създаването си през 1921г. до днес. Персистирането на BCG бактериите в гостоприемника е от съществено значение за протективните качества на ваксината. Още през 1930 г. Claus Schilling проследява персистирането на BCG бактериите в белите дробове на морски свинчета в продължение на 69 дни, като използва микроскопски препарати. Той наблюдава първоначално намножаване на BCG с образуване на туберкули, подобни на тези при инфекция с *M. tuberculosis* и последваща резорбция. Ninni и сътр. 1932г. успешно култивира персистиращи BCG бактерии от цервикални и белодробни лимфни възли от имунизирани морски свинчета. Griffith и сътр. през 1931г. изолира и култивира BCG от лимфни възли на маймуни 7 месеца след инокулацията, а Birkhaug 1933г. култивира BCG от лимфни възли на морски свинчета след 577 дни. При експерименти със зайци, Lurie 1934 г. наблюдава, че BCG клетки персистират в лимфните възли до 14 месеца след инокулирането. Swensson 1971г. изолира BCG до 12 месеца от бели дробове, далак и лимфни възли след венозно инжектиране на ваксината на плъхове. Продължителността на персистиране определя протективния ефект на ваксината. Цел на нашето проучване е да проследим количественото органно и тъканно персистиране на BCG ваксината в експериментални животни. Ще проведем експеримент с морски свинчета и щам BCG SL 222, за да установим количественото присъствие на BCG в кръв, серум, тъкани и

органи чрез количествен PCR и таргетно секвениране. Ще проведем паралелни имунохистохимични, светлинно- и електронно микроскопски наблюдения, за да проучим механизмите на персистиране и размножаване на клетките в организма с цел по-доброто изучаване на протективния ефект на BCG ваксината. Нашите изследвания ще допринесат да се изясни до каква степен продължителността на персистиране на BCG в макроорганизма влияе на дългосрочната защита срещу заразяване с *Mycobacterium tuberculosis* и качеството на имунния отговор.

PERSISTENCE OF BCG VACCINE IN LABORATORY ANIMALS

Desislava Ivanova¹, Tsvetelina Stefanova¹, Stefan Panaiotov²

¹BulBio-NCIPD, ²Department of Microbiology, NCIPD, Sofia

The live, attenuated BCG vaccine (Bacillus Calmette-Guérin) is the only vaccine used for immunization against tuberculosis since its creation in 1921 until today. The persistence of BCG bacteria in the host is essential for the protective qualities of the vaccine. As early as 1930, Claus Schilling monitored the persistency of BCG bacteria in the lungs of guinea pigs for 69 days, using microscopic preparations. He observed initial multiplication of BCG with the formation of tubercles similar to those in case of infection with *M. tuberculosis* and subsequent resorption. Ninni et al. 1932 successfully cultured persisting BCG bacteria from cervical and pulmonary lymph nodes of immunized guinea pigs. Griffith et al. in 1931 isolated and cultured BCG from lymph nodes of monkeys 7 months after inoculation, and Birkhaug 1933 cultured BCG from lymph nodes of guinea pigs after 577 days. In experiments with rabbits, Lurie in 1934 observed that BCG cells persisted in the lymph nodes for up to 14 months after inoculation. Swensson 1971 isolated BCG for up to 12 months from the lungs, spleen and lymph nodes after intravenous injection of the vaccine into rats. The duration of persistence determines the protective effect of the vaccine. The aim of our study is to examine the quantitative organ and tissue persistence of the BCG vaccine in experimental animals. We will conduct an experiment with guinea pigs and the BCG SL 222 strain to establish the quantitative presence of BCG in blood, serum, tissues and organs by quantitative PCR and targeted sequencing. We will conduct parallel immunohistochemical, light and electron microscopic observations to study the mechanisms of persistence and proliferation of cells in the body in order to explore the protective effect of the BCG vaccine. Our research will contribute to clarifying to what extent the duration of BCG persistence in the macroorganism affects long-term protection against infection with *Mycobacterium tuberculosis* and the quality of the immune response.

ПИЛОТНО ПРОУЧВАНЕ НА АЛТЕРНАТИВЕН МЕТОД ЗА ДОКАЗВАНЕ НА СЪМНИТЕЛНИ СЛУЧАИ НА МОРБИЛИ И РУБЕОЛА В БЪЛГАРИЯ ЧРЕЗ ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПРОБИ ОТ ИЗСУШЕНИ КРЪВНИ ПЕТНА И ОРАЛНА ТЕЧНОСТ

Л. Велева¹, А. Букаса², Р. Стефанова¹, М. Дончева¹, Ц. Дойчинова², Ст. Крумова¹

¹Национална референтна лаборатория „Морбили, паротит, рубеола“, Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София, България, ²Световна здравна организация (СЗО), Регионален офис, България, ³Клиниката по инфекциозни болести, УМБАЛ “Д-р Георги Странски”, Плевен, България

ЦЕЛ: Да се проведе пилотно проучване с използване на изсушени кръвни петна (ИКП) и тампони от орална течност (ОФ) за тестване на предполагаеми случаи на морбили и рубеола в региони от България.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: В проучването са включени 46 клинични материала (23 ИКП и 23 ОФ) от 23 пациента, с треска и макулопапулозен (невезикуларен) обрив, в т.ч. пациенти заболели с морбили по време на взрив в България през 2026 г., хоспитализирани в болници в Плевен и София. От всеки пациент е осигурен

два вида клиничен материал: ИКП (събрани върху карти Whatman 903) и ОФ (събрани чрез комплект Oracol). Всички проби са изследвани в НРЛ „Морбили, паротит, рубеола“, чрез имуноензимни (Anti-Measles Virus NP ELISA (IgM/IgG) Euroimmune и Measles IgM/IgG capture EIA Microimmune) и молекулярно-биологични (real-time PCR) методи.

РЕЗУЛТАТИ: Остра инфекция с морбилен вирус е доказана при 11 ИКП и 11 ОФ чрез ELISA IgM и PCR анализ. Клиничните проби са от 8 пациенти с доказана морбилна инфекция, диагностицирани в Плевен и София. Наличие на защитен имунитет (ELISA IgG) срещу морбили и рубеола е потвърден респективно при 20/23 ИКП и 20/23 ОФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: В сравнение с конвенционалното вземане на венозна кръв ИКП и ОФ предлагат минимално инвазивен подход. Методът опростява съхранението, опаковането и транспортирането на пробите, като същевременно намалява рисковете за биологичната безопасност и нуждата от специализирано оборудване и персонал, което ги прави особено подходящи за сероепидемиологични проучвания. Обогащането на лабораторния диагностичен потенциал с тези алтернативни клинични материали допринася за по-ефективен мониторинг и превенция на морбили и рубеола във фаза на елиминация.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: морбили, изсушени кръвни петна, орална течност

A PILOT STUDY USING ALTERNATIVE METHODS FOR CONFIRMING SUSPECTED CASES OF MEASLES AND RUBELLA IN BULGARIA THROUGH THE ANALYSIS OF DRIED BLOOD SPOTS AND ORAL FLUID

L. Veleva¹, A. Bukasa², R. Stefanova¹, M. Doncheva¹, T. Doichinova³, S. Krumova¹

¹National Reference Laboratory for “Measles, Mumps, and Rubella,” National Center for Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, Bulgaria, ²World Health Organization (WHO), Regional Office, Bulgaria, ³Department of Infectious Diseases, “Dr. Georgi Stranski” University Hospital, Pleven, Bulgaria

AIM: To conduct a pilot study using dried blood spots (DBS) and oral fluid swabs (OF) to test suspected cases of measles and rubella in regions of Bulgaria.

MATERIALS AND METHODS: The study included 46 clinical cases (23 DBS and 23 OFs) from 23 patients with fever and a maculopapular (nonvesicular) rash, including those who contracted measles during a 2026 outbreak in Bulgaria and were hospitalized in the Pleven and Sofia. Two types of clinical specimens were collected from each patient: DBS (on Whatman 903 cards) and OF (using the Oracol kit). All samples were tested at the NRL “Measles, Mumps and Rubella”, using immunoenzymatic (Anti-Measles Virus NP ELISA (IgM/IgG) Euroimmune and Measles IgM/IgG capture EIA Microimmune) and molecular (real-time PCR) methods.

RESULTS: Acute measles virus infection was confirmed in 11 DBS and 11 OFs using IgM ELISA and PCR analysis. The clinical samples were obtained from 8 patients with confirmed measles infection diagnosed in Pleven and Sofia. The presence of protective immunity (IgG ELISA) against measles and rubella was confirmed in 20 of 23 DBS and 20 of 23 OFs, respectively.

CONCLUSION: Compared to conventional venous blood collection, DBS and OF offer a minimally invasive approach. The method simplifies the storage, packaging, and transport of samples, while reducing biosafety risks and the need for specialized equipment and personnel, making them particularly suitable for seroepidemiological studies. Expanding laboratory diagnostic capabilities to include these alternative clinical specimens contributes to more effective monitoring and prevention of measles and rubella during the elimination phase.

KEYWORDS: measles, dried blood spots, oral fluid

ЦИРКУЛИРАЩИ РОТАВИРУСНИ ГЕНОТИПОВЕ В БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2025Г.

Виргиния Петкова¹, Ася Стоянова¹, Ирина Георгиева¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Ротавирусите остават една от водещите причини за тежък гастроентерит при децата под петгодишна възраст в световен мащаб. Поради високата генетична вариабилност на вируса и ежегодната смяна на доминиращите щамове, непрекъснатият надзор е от важно значение. Да идентифицира циркулиращите генотипове в България през 2025 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Материали от пациенти с положителен бърз тест са събирани от различни РЗИ в страната и изпращани за потвърждение и генотипиране в НРЛ „Ентеровируси“. Потвърждаването на положителния резултат е извършено чрез доказване на ротавирусен антиген с антиген-улавящ имуносорбентен метод ELISA. Вирусна нуклеинова киселина е изолирана от показалите положителен резултат, чрез използване на автоматичен метод за екстракция. Генотипирането е извършено чрез мултиплексен семинестед RT-PCR в едностъпкова постановка.

РЕЗУЛТАТИ: За периода 01.01.2025 – 31.12.2025 г. в НРЛ „Ентеровируси“ са получени 313 материала за генотипиране от лица с остър гастроентерит. Успешно генотипирани по гена за G протеин са 263 от пробите. Преобладаващият генотип е G4 – 111/263, 42%. При 56 % от случаите се наблюдава смесена инфекция. По гена, кодиращ P протеин, успешно са генотипирани 277 от доказаните ротавируси. Преобладаващият генотип е P[8], отчетен в 70% от случаите. При 11% от случаите е доказана смесена инфекция с 2 различни P генотипа. От комбинирането на различните G и P варианти най-често се доказва генотип G4P[8], в 40% от случаите. Процентът на смесени инфекции с повече от един генотип е 48%, като преобладаващата комбинация е G4+G9P[8]. Информация за ваксинален статус има за 157 пациента, като само 12 са с поставена ваксина. При ваксинирани пациенти ротавируси има доказани ротавирусни генотипове, които не са включени в приложената ваксина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: През 2025 г. ротавирусната циркулация в България е с изразена доминация на G4P[8]. Данните са в подкрепа на „Националната програма за профилактика на ротавирусните гастроентерити в Република България 2022-2025г.“

КЛЮЧОВИ ДУМИ: ротавирус, генотип, разпространение

CIRCULATING ROTAVIRUS GENOTYPES IN BULGARIA IN 2025.

Virginia Petkova¹, Asya Stoyanova¹, Irina Georgieva¹

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: Rotaviruses are a major cause of severe acute gastroenteritis among children under five years of age worldwide. Given their substantial genetic diversity and the annual shifts in predominant circulating strains, continuous surveillance is crucial for monitoring epidemiological trends. The aim of this study was to determine the rotavirus genotypes circulating in Bulgaria during 2025.

MATERIALS AND METHODS: Clinical specimens from patients with positive rapid rotavirus test results were collected through various Regional Health Inspectorates (RHIs) across Bulgaria and submitted to the National Reference Laboratory “Enteroviruses” for confirmatory testing and genotyping. Confirmation of positive results was performed by detection of rotavirus antigen using an antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Viral nucleic acids were subsequently extracted from ELISA-positive samples using an automated extraction platform. Rotavirus genotyping was carried out by one-step multiplex seminested reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: During the period from 1 January to 31 December 2025, a total of 313 specimens from patients with acute gastroenteritis were received at the National Reference Laboratory “Enteroviruses” for rotavirus genotyping. Successful genotyping of the VP7 (G) gene was achieved for 263 samples. The predominant G genotype was G4, identified in 111/263 (42%) samples. Mixed G-genotype infections were detected in 56% of successfully genotyped cases. For the VP4 (P) gene, successful genotyping was achieved for 277 confirmed rotavirus-positive samples. Genotype P[8] was the most prevalent, accounting for 70% of cases. Mixed infections involving two different P genotypes were detected in 11% of samples. Analysis of combined G and P genotypes revealed G4P[8] as the predominant genotype constellation, identified in 40% of cases. Mixed infections involving more than one genotype constellation were observed in 48% of samples, with G4+G9P[8] being the most frequently detected combination. Information on vaccination status was available for 157 patients, of whom only 12 had been vaccinated against rotavirus. Among vaccinated patients, rotavirus genotypes not included in the administered vaccine were detected.

CONCLUSION: In 2025, rotavirus circulation in Bulgaria is characterized by a pronounced dominance of G4P[8]. The data support the "National Program for the Prevention of Rotavirus Gastroenteritis in the Republic of Bulgaria 2022-2025."

KEYWORDS: rotavirus, genotype, prevalence

СЕСИЯ VI – ИНФЕКЦИИ, ПРИЧИНЯВАНИ ОТ ХРАНИ И ВОДИ

ВИБРИОЗИТЕ В ЕВРОПА: ВИДОВО РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ, ДВИЖЕЩИ СИЛИ НА ОКОЛНАТА СРЕДА, КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ И НУЖДТА ОТ ЗАСИЛЕН НАДЗОР

Х. Монеv¹, Б. Цафарова¹, И. Томова¹, С. Панайотов¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Този литературен обзор цели да изследва и обобщи настоящите епидемиологични данни относно кои са най-често срещаните нехолерни *Vibrio* видове, как климатичните фактори повлияват разпределението им, каква е клиничната значимост на тези бактерии и защо съществува нарастваща нужда от засилен надзор.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Бяха прегледани проучвания, анализиращи водни проби от морски и крайбрежни среди в Европа, епидемиологични данни от ECDC Vibrio Map Viewer, както и статии, отразяващи клинични случаи на пациенти инфектирани с нехолерни вибриони.

РЕЗУЛТАТИ: Най-често срещаните нехолерни *Vibrio* видове, патогенни за хората, в Европа, са *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* и *Vibrio alginolyticus*. Нехолерните вибриони са чести причинители на инфекции вследствие на консумация на сурова или недобре термично обработена морска храна. Инфекциите причинени от *V. parahaemolyticus* водят до остър гастроентерит, като могат да причинят и животозастрашаващи раневи инфекции, и септицемия, особено при индивиди с подлежаща патология. *V. vulnificus* се открива в седимент и черупчести мекотели, а причинените заболявания по-често се срещат при хора, практикуващи водни развлекателни дейности. *V. alginolyticus* също е причинител на раневи инфекции, ушни инфекции, конюнктивит и бактериемия. Честотата на заболявания при хора се е увеличила през последните години, следвайки регионалните климатични изменения. Температурата и солеността на водата изглежда да са основните екологични движещи сили на изобилието от нехолерни *Vibrio* видове. Различни проучвания са открили положителна взаимовръзка между температурата и увеличаващия се брой патогенни вибриони. Докладваните случаи се увеличават, особено тези свързани с водите на Балтийско и Северно море. Има и публикувани случаи от черноморското крайбрежие през последните години. Европейския център по контрол на заболяванията използва модел, изследващ данни относно природните условия за размножаване и разпространение на вирионите, който е калибриран за Балтийския регион. Не съществува, обаче, единна система за надзор на нехолерните вибриози в Европейския съюз, като това не са и задължително докладвани заболявания в повечето от държавите членки. Това може да доведе до сериозни пропуски в диагностиката и доказването на подобни случаи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Този обзор подчертава значимостта на нехолерните вибриози поради потенциалното им отражение върху общественото здраве. Недостатъчният надзор може да засегне и безопасността на храните и водите. За това е от голямо значение да бъде определяно дали инфекциите с домашни или вносни, както и да се унифицира надзорът и докладването на тези заболявания.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Нехолерни вибриози, климатични промени, надзор

VIBRIOSIS IN EUROPE: SPECIES DISTRIBUTION, ENVIRONMENTAL DRIVERS, CLINICAL IMPACT AND THE NEED FOR STRENGTHENED SURVEILLANCE

H. Monev¹, B. Tsafarova¹, I. Tomova¹, S. Panaiotov¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: This literature review aims to examine and summarise the current epidemiological data on which are the most commonly encountered non-cholera *Vibrio* species in Europe, how climate factors impact their distribution, what is the clinical effect of these bacteria and why there is a growing need for strengthened surveillance.

MATERIALS AND METHODS: Studies analyzing data from water samples in marine and coastal environments across Europe, epidemiological data from the ECDC *Vibrio* Map Viewer, and papers presenting the clinical presentation and outcomes of patients infected with non-cholera *Vibrio* species were reviewed.

RESULTS: The most commonly encountered non-cholera vibrio spp., pathogenic to humans, in Europe are *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae*, and *Vibrio alginolyticus*. Non-cholera *Vibrio* species are common causes of foodborne infections in humans, primarily resulting from the consumption of raw or undercooked seafood. Infection with *V. parahaemolyticus* causes acute gastroenteritis and may also result in life-threatening wound infections and septicemia, particularly in individuals with underlying medical conditions. *V. vulnificus* is present in sediment and molluscan shellfish, and infections are more commonly seen in people participating in water recreational activities. *V. alginolyticus* is a causative agent of wound infections, ear infections, conjunctivitis and bacteremia. The incidence of human infections in Europe has increased in recent years, following regional climatic changes. Temperature and salinity seem to be primary ecological drivers of non-cholera *Vibrio* spp. abundance. Several studies have found positive correlation between temperature and the increased numbers of pathogenic *Vibrio* spp. Case reports of infections acquired in the waters of the Baltic Sea and the North Sea have been increasing. There have also been reports of cases around the Black Sea coast from the last few years. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) uses a model that examines data about the environmental conditions for *Vibrio* growth and distribution, which is calibrated to the Baltic Region. However, there is no unified surveillance for non-cholera vibriosis in the European Union and it is not a notifiable disease through most of the member states which may lead to underreporting and underdiagnosis.

CONCLUSION: This review highlights the significance of non-cholera *Vibrio* infections due to their potential impact on public health. Insufficient surveillance may also affect marine environmental health and food safety. This is why it is of high importance to determine whether infections are domestically acquired and to unify the disease reporting and monitoring.

KEYWORDS: Non-cholera vibriosis, climate change, surveillance

ФИЛОГЕНЕТИЧЕН АНАЛИЗ НА ЦЕЛОГЕНОМНО СЕКВЕНИРАНИ ИЗОЛАТИ *VIBRIO VULNIFICUS* ОТ ВОДНИ ПРОБИ ОТ ЧЕРНО МОРЕ И КЛИНИЧЕН ИЗОЛАТ

Б. Цафарова¹, Р. Ненова¹, И. Томова^{1,2}, П. Орозова³, Х. Монеv^{1,2}, В. Толчков^{1,2}, Й.
Добринова^{1,2}, Л. Горянова^{1,2}, В. Стефанова³, С. Панайотов¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести, София, България, ²Център за компетентност Имунопатоген, бул. Янко Сакъзов²⁶, София, България, ³Национален Диагностичен Научноизследователски Ветеринарномедицински Институт "Проф. Д-р Г. Павлов" София, България

ЦЕЛ: Филогенетичен анализ на целогеномно секвенирани изолати на *V. vulnificus* от морска вода и сравнението им с клиничен изолат от пациент с ранева инфекция.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани са 12 изолата на *V. vulnificus* – 11 от проби морска вода, събрани от българското Черноморие в периода 2021–2022 г., и един клиничен изолат от пациент с фатална мекотъканна инфекция (2025 г.). Изолатите са идентифицирани чрез MALDI-TOF MS. Геномната ДНК е секвенирана чрез технологията на Illumina. Геномите са асемблирани чрез платформата Galaxy, а филогенетичният анализ е извършен с REALPHY чрез сравнение на core-genome SNP.

РЕЗУЛТАТИ: Анализът разграничи няколко генетични линии сред изследваните изолати. Клиничният изолат формира клъстер с група екологични изолати от Черно море, като показва най-близко родство с един от тях, което предполага принадлежност към локално циркулираща популация на *V. vulnificus*. Няколко екологични изолата формират отделни, по-дивергентни линии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Целогеномното секвениране позволява надеждно определяне на генетичното сходство между клинични и екологични изолати на *V. vulnificus*. Дава възможност за прогнозиране на патогенен потенциал и резистентност. Регулярният геномен надзор на циркулиращите в крайбрежните води на Черно море щамове *V. vulnificus* и други патогенни вибриони, би бил от значение за прогнозиране на риска от инфекции в условията на променящия се климат. Благодарности: Настоящото изследване е финансирано от Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ по процедура „Устойчиво развитие на Центрове за върхови постижения и Центрове за компетентност“, проект BG16RFPR002-1.014-0017-C01.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *V. vulnificus*, Черно море, Целогеномно секвениране

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF WHOLE-GENOME SEQUENCED *VIBRIO* *VULNIFICUS* ISOLATES FROM THE BLACK SEA WATER AND A CLINICAL ISOLATE

Б. Tsafarova¹, Р. Nenova¹, И. Tomova^{1,2}, П. Orozova³, Х. Monev^{1,2}, В. Tolchkov^{1,2}, Y.
Dobrinova^{1,2}, L. Goryanova^{1,2}, V. Stefanova³, S. Panayotov¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria, ²Center of Competence "ImmunoPathogen", ²⁶ Yanko Sakazov Blvd., Sofia, Bulgaria, ³National Diagnostic Research Veterinary Medical Institute "Prof. Dr. G. Pavlov", Sofia, Bulgaria

AIM: Phylogenetic analysis of whole-genome sequenced *Vibrio vulnificus* isolates from seawater samples and comparing them with a clinical isolate obtained from a patient with a wound infection.

MATERIALS AND METHODS: Twelve *V. vulnificus* isolates were included in the study: eleven environmental isolates recovered from seawater samples collected along the Bulgarian Black Sea coast during 2021–2022 and one clinical isolate obtained from a patient with a fatal soft tissue infection in 2025. All isolates were identified by MALDI-TOF MS. Genomic DNA was sequenced using Illumina technology. Genome assembly was performed using the Galaxy platform, and phylogenetic analysis was carried out with REALPHY based on core-genome single nucleotide polymorphisms (SNPs).

RESULTS: Phylogenetic analysis revealed several distinct genetic lineages among the investigated isolates. The clinical isolate clustered with a group of environmental isolates from the Black Sea and showed the closest genetic relationship to one environmental isolate, suggesting that it belongs to a locally circulating *V. vulnificus* population. Several environmental isolates formed separate, more divergent lineages.

CONCLUSION: Whole-genome sequencing enables reliable assessment of the genetic relatedness between clinical and environmental *V. vulnificus* isolates. It also provides valuable information on the prediction of virulence potential and antimicrobial resistance. Routine genomic surveillance of *V. vulnificus* and other pathogenic *Vibrio* species circulating in the coastal waters of the Black Sea would contribute to improved risk assessment of *Vibrio* infections in the context of climate change. Acknowledgements: This work is supported by BG-175467353-2025-07-0061, the "Center of Competence Immuno-Pathogen", procedure BG16RFPR002-1.014; "Sustainable Development of Centers of Excellence and Centers of Competence, including specific infrastructures or their associations of the NRR1"; and the "Research, Innovation and Digitalization for Smart Transformation 2021-2027" program.

KEYWORDS: *V. vulnificus*, Black Sea, Whole-genome sequencing

ИЗОЛИРАНЕ НА ЧОВЕШКИ АДЕНОВИРУСИ ОТ ОТПАДНИ ВОДИ В КЛЕТЪЧНА КУЛТУРА

Сергей Иванов¹, Стоян Шишков^{1,2}, Антон Хинков^{1,2}, Петя Ангелова², Калина Шишкова²

¹Научна група: Микробиологични рискове в околната среда, проект SUMMIT 3.2.4.,
Биологически факултет, Софийски университет „Св. Кл. Охридски“ София, България,

²Лаборатория Вирусология, Биологически факултет, Софийски университет „Св. Кл.
Охридски“ София, България

ЦЕЛ: Вирусите са широко разпространени в отпадните води, което представлява риск за човешкото здраве. Не всички откриваеми вируси са заразни. Изолирането на потенциално патогенни вируси от отпадни води в клетъчни култури е проблем, тъй като те могат да представляват риск за човешкото здраве и биха могли да бъдат източници на инфекция. В съответствие с гореизложеното, ние си поставихме за цел да определим в колко от пробите от отпадни води, в които е доказано наличието на представители на човешките аденовируси чрез qPCR, могат да бъдат изолирани в клетъчна култура.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: При изследването на инфекциозния потенциал на вирусите в пробата от отпадни води използвахме клетъчна линия Vero E6 (Buffalo Green Monkey бъбречни клетки). Клетките бяха култивирани в матраци (фласки) за клетъчни култури, с обем 25 cm², растежна хранителна среда Dulbecco's Modified Eagle's Medium и инкубирани при 37°C и 5% CO₂. След отстраняване на културалната среда, клетъчният монослой беше инокулиран с пробата от отпадни води. След 2 часа беше добавена поддържаща хранителна среда. Продължителността на култивиране на инокулираната клетъчна линия беше 5 дена. Ако липсваше цитопатичен ефект, клетките бяха замразявани и бяха извършвани още два слепи пасажа.

РЕЗУЛТАТИ: В три от общо четири тествани проби беше изолиран инфекциозен вирус, чиято принадлежност към рода Mastadenovirus беше потвърдена чрез qPCR. След проведените анализи на геномите на изолираните вируси установихме, че те принадлежат към видовете adam1, blackbeardi, caesari, dominans. Набор от близкородствени щамове, сходни с генотип A31, доминираше в столицата София. Геномният анализ

показа, че те са продукт на молекулярна еволюция, основана на рекомбинация на генетични елементи от други аденовируси, открити в различни страни по света.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: В отпадните води се откриват инфекциозни човешки аденовируси. От друга страна, не всяка проба, положителна за вирусната ДНК, съдържа инфекциозни вириони. Нашата работа показва, че замърсяването с отпадни води на питейни такива, както и на храни, е реален път за предаване инфекции от човешки аденовируси. Идентифицирането и генотипирането на човешките аденовируси в отпадните води е метод за епидемиологично проучване на заболяемостта от тях в съответната човешка популация.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: отпадни води, човешки аденовируси, клетъчни култури

RECOVERY OF HUMAN ADENOVIRUSES FROM WASTEWATER SAMPLES IN CELL CULTURE MODEL

Sergei Ivanov¹, Stoyan Shishkov^{1,2}, Anton Hinkov^{1,2}, Petya Angelova², Kalina Shishkova²

¹Scientific group: "Microbiological Risks in the Environment", project SUMMIT 3.2.4., Faculty of Biology, University of Sofia "St. Kl. Ohridski", 1164 Sofia, Bulgaria, ²Laboratory of Virology, Faculty of Biology, University of Sofia "St. Kl. Ohridski", 1164 Sofia, Bulgaria

AIM: Viruses are omnipresent and persistent in wastewater, which poses a risk to human health. Not all detectable viruses are infectious. The recovery in cell culture of potentially pathogenic viruses from wastewater is of concern since it can pose risks to human health and could be the sources of infection in waterborne disease outbreaks. In accordance with the above we set ourselves the goal of determining in how many of the wastewater samples in which the presence of representatives of the genus Mastadenovirus was proven by qPCR could be isolated in cell culture.

MATERIALS AND METHODS: In the study of the infectious potential of viruses in the wastewater sample, we used the Vero E6 cell line. The cells were grown in Cell Culture Flask, Tissue Culture Treated, 25 cm², growth medium Dulbecco's Modified Eagle's Medium and incubated at 37 °C and 5% CO₂. After removing the culture medium, the cell monolayer was inoculated with the wastewater sample. After 2 hours, maintenance medium was added. The duration of cultivation of the inoculated cell line was 5 days. In the absence of cytopathic effect, the cells were frozen and two more blind passages were performed.

RESULTS: In 3 out of a total of 4 samples tested, an infectious virus was isolated and its belonging to the genus Mastadenovirus was confirmed by qPCR. The genotype of the isolated viruses are yet to be determined. Following the analyses conducted on the genomes of the isolated viruses, we established that they belong to the species adami, blackbeardi, caesari, and dominans. A set of closely related strains similar to genotype A31 dominated in the capital Sofia. Genomic analysis showed that they were the product of molecular evolution based on recombination of genetic elements from other adenoviruses found in different countries of the world.

CONCLUSION: Infectious human adenoviruses are found in wastewater. On the other hand, not every sample positive for viral DNA contains infectious virions. Our work shows that wastewater contamination of drinking water, as well as food, is a real route for the transmission of adenovirus infections. Identification and genotyping of human adenoviruses in wastewater is a method for epidemiological study of their morbidity in the relevant human population.

KEYWORDS: wastewater, human adenoviruses, cell cultures

ДОСТИЖЕНИЯТА НА ПРОЕКТ SUMMIT ПРИ ИЗУЧАВАНЕ НА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА ПАТОГЕНИ В ОКОЛНАТА СРЕДА

*Сергей Иванов^{1,2}, Стоян Шишков^{1,3}, Антон Хинков^{1,3}, Золтан Уршев⁴, Йоана Кижева^{1,5},
Михаела Белухова^{1,6}, Силвия Милева¹, Давид Бинев¹, Петър Динев¹, Калин Атанасов¹*

*¹Научна група „Микробиологични рискове в околната среда“, проект SUMMIT 3.2.4.,
Биологически факултет, бул. Драган Цанков ⁸, Софийски университет „Св. Кл.
Охридски“ София, България, ²ЦБХ лаборатория ЕООД, София, България, ³Лаборатория
Вирусология, Биологически факултет, бул. Драган Цанков ⁸, Софийски университет „Св.
Кл. Охридски“ София, България, ⁴Ел Би Булгарикум, ул. Малашевска ¹⁴, София, България,
⁵Катедра по Обща и промишлена микробиология, Биологически факултет, бул. Драган
Цанков ⁸, Софийски университет „Св. Кл. Охридски“ София, България, ⁶Катедра по
Обща и приложна хидробиология, Биологически факултет, бул. Драган Цанков ⁸,
Софийски университет „Св. Кл. Охридски“ София, България;*

Основна цел на Група 3.2.4 по проекта SUMMIT на Софийския университет беше да създаде система за мониторинг на патогени в отпадните води. България е единствената страна в ЕС която нямаше подобни възможности. За период от 3 години беше изградена и оборудвана нова лаборатория, оптимизирана за работа с проби от околната среда. Беше разработен и приложен план за мониторинг на отпадните води на най-големите градове в България. Бяха създадени протоколи за изолиране, пречистване и концентриране на вируси от силно замърсени природни и антропогенни матрици. За период от над 2 години беше осъществен системен ежеседмичен мониторинг на патогенните вируси в отпадните води посредством таргетна молекулярна детекция (qPCR). Част от изолираните вирусни фракции се запазват в течен азот – колекция която съхранява историята на заболяемостта от инфекциозни причинители. За първи път в България бяха направени успешни директни култивации върху клетъчни линии на вируси от отпадните води. От тях досега са изолирани над 10 щама вируси. Новите вирусни изолати са идентифицирани като представители на Ентеровируси, Аденовируси, както и няколко вида бактериофаги. Техните геноми са секвенирани напълно, сглобени, анотирани и депозиран в геномната банка (NCBI). Част от бактериофагите са характеризирани и е доказана способност за терапевтично приложение срещу патогенни бактерии. Метагеномният анализ беше допълнителен инструмент за анализ на таксономичният спектър на патогенните в отпадните води. Приложено през втората година на проекта метагеномното профилиране доведе до откриване на редица нови патогенни вируси. Обобщавайки, работата по този проект демонстрира приложимостта на епидемиологията на отпадните води за контрол, превенция и изучаване на инфекциозните причинители циркулиращи сред хората, което е и част от концепцията „One Health“ на Световната Здравна Организация.

ACHIEVEMENTS OF THE SUMMIT PROJECT IN STUDYING THE SPREAD OF PATHOGENS IN THE ENVIRONMENT

Sergei Ivanov^{1,2}, Stoyan Shishkov^{1,3}, Anton Hinkov^{1,3}, Zoltan Urshev⁴, Yoana Kizheva^{1,5}, Mihaela Belouhova^{1,6}, Silvia Mileva¹, David Binev¹, Peter Dinev¹, Kalin Atanasov¹

¹Scientific group: "Microbiological Risks in the Environment", project SUMMIT 3.2.4., Faculty of Biology, ⁸ Dragan Tsankov Blvd, University of Sofia "St. Kl. Ohridski", Sofia, Bulgaria, ²CFB laboratory Ltd., Sofia, Bulgaria, ³Laboratory of Virology, Faculty of Biology, ⁸ Dragan Tsankov Blvd, University of Sofia "St. Kl. Ohridski", Sofia, Bulgaria, ⁴LB Bulgaricum PLC, R&D Department, ¹⁴ Malashevska Str., Sofia, Bulgaria, ⁵Department of General and Industrial Microbiology, Faculty of Biology, ⁸ Dragan Tsankov Blvd, University of Sofia "St. Kl. Ohridski", Sofia, Bulgaria, ⁶Department of General and Applied Hydrobiology, Faculty of Biology, ⁸ Dragan Tsankov Blvd, University of Sofia "St. Kl. Ohridski", Sofia, Bulgaria;

The main goal of Group 3.2.4 under the SUMMIT project of Sofia University was to create a system for monitoring pathogens in wastewater. Bulgaria is the only country in the EU that did not have such capabilities. Over a period of 3 years, a new laboratory was built and equipped, optimized for working with environmental samples. A plan for monitoring wastewater of the largest cities in Bulgaria was developed and implemented. Protocols for isolating, purifying and concentrating viruses from highly contaminated natural and anthropogenic matrices were created. For a period of over 2 years, systematic weekly monitoring of pathogenic viruses in wastewater was carried out using targeted molecular detection (qPCR). Part of the isolated virus fractions are preserved in liquid nitrogen - a collection that preserves the history of morbidity from infectious agents. For the first time in Bulgaria, successful direct cultivations of viruses on cell lines from wastewater were made. Over 10 virus strains have been isolated from them so far. The new viral isolates were identified as representatives of Enteroviruses, Adenoviruses, as well as several types of bacteriophages. Their genomes have been completely sequenced, assembled, annotated and deposited in the genome bank (NCBI). Some of the bacteriophages have been characterized and their ability for therapeutic application against pathogenic bacteria has been proven. Metagenomic analysis was an additional tool for analyzing the taxonomic spectrum of pathogens in wastewater. Applied in the second year of the project, metagenomic profiling led to the discovery of a number of new pathogenic viruses. In summary, the work on this project demonstrates the applicability of wastewater epidemiology for the control, prevention and study of infectious agents circulating among humans, which is also part of the "One Health" concept of the World Health Organization.

ГЕНЕТИЧНО РАЗНООБРАЗИЕ НА ЧОВЕШКИ ИЗОЛАТИ ОТ BLASTOCYSTIS SPP. В БЪЛГАРИЯ

Н. Цветкова¹, З. Трайкова¹, Е. Кънева¹, А. Иванова¹, М. Виденова¹, В. Якимова¹

¹НЦЗПБ, НРЛ „Диагностика на паразитозите“

ЦЕЛ: Да се определи генетичното разнообразие сред изолатите на *Blastocystis* при хората в България.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Проучени са 26 изолата на *Blastocystis* от 2 асимптомни лица и 24 пациенти с клинична изява на инфекцията: със симптоми от страна на стомашно-чревния тракт - хроничен ентероколит/колит (n=5), диария (n=8), синдром на раздразненото черво (IBS) (n=7), долен диспептичен синдром (n=1) и други симптоми като алергия (n=2) и внезапна загуба на тегло (n=1). Изолатите са генотипизирани чрез PCR, като са използвани четири диагностични двойки праймери (sequence-tagged site, STS), които позволяват идентифицирането и класифицирането на субтипове от 1 до 4.

РЕЗУЛТАТИ: В настоящото проучване 22 изолата са класифицирани като принадлежащи към два от 4-те (ST1–ST4) субтипа – ST1 (9/26, 34,62%) и ST3 (10/26, 38,46%). Смесени инфекции с два различни генотипа (ST1 и ST3) бяха установени при три изолата (11,54%), докато четири изолата останаха неклассифицирани, тъй като дадоха отрицателен резултат при тестване с четирите двойки STS праймери. Нито един от изолатите не принадлежи към генотипове ST2 и ST4.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Въз основа на генетичните анализи е установено значително биологично разнообразие в рамките на рода *Blastocystis* spp. В световен мащаб субтип ST3 е най-широко разпространен, следван от ST1 и ST2. В настоящото проучване са открити два различни генотипа – субтипове 1 и 3 – с почти еднаква честота сред изследваните изолата на *Blastocystis* spp. Не беше установена връзка между клиничните прояви на инфекцията с *Blastocystis* и конкретния субтип на изолатите от изследваните случаи.

Настоящото проучване е финансирано от: Проект № BG16RFPR002-1.014-0017 „Център за компетентност „Фундаментални, транслиращи и клинични изследвания в областта на инфекциите и инфекциозната имунология“, финансиран по Програма "Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация" 2021-2027 г.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Blastocystis* spp., PCR, генотипиране

GENETIC DIVERSITY OF HUMAN *BLASTOCYSTIS* SPP. ISOLATES IN BULGARIA

N. Tsvetkova¹, Z. Traykova¹, E. Kaneva¹, A. Ivanova¹, M. Videnova¹, V. Yakimova¹

¹National Centre for Infectious and Parasitic Diseases, National Reference Laboratory
“Diagnosis of Parasitic Diseases”

AIM: To determine the genetic variability of *Blastocystis* isolates from humans in Bulgaria.

MATERIALS AND METHODS: Twenty-six *Blastocystis* isolates were obtained from 2 asymptomatic infected individuals and 24 patients with clinical signs of the infection: with gastrointestinal symptoms - chronic enterocolitis/colitis (n=5), diarrhoea (n=8), irritable bowel syndrome (IBS) (n=7), lower dyspeptic syndrome (n=1), and other symptoms such as allergy (n=2) and sudden weight loss (n=1). The isolates were genotyped by PCR using four diagnostic primer pairs (sequence-tagged site, STS) that enable the identification and classification of subtypes 1 to 4.

RESULTS: In the present study, 22 isolates were classified into two of the four subtypes (ST1–ST4) - ST1 (9/26, 34.62%) and ST3 (10/26, 38.46%). Mixed infections involving two different genotypes (ST1 and ST3) were detected in three isolates (11.54%), while four isolates remained unclassified because they tested negative with all four pairs of STS primers. None of the isolates belonged to genotypes ST2 and ST4. In the present study, genotypes 1 and 3 were detected with nearly equal frequency among the *Blastocystis* spp. isolates examined.

CONCLUSION: Significant diversity within *Blastocystis* spp. has been identified based on genetic analyses. Globally, ST3 subtype exhibits the highest distribution, followed by ST1 and ST2. In the present study, two distinct genotypes, subtypes 1 and 3, were detected with nearly equal frequency among the *Blastocystis* spp. isolates examined. No association was found between the clinical manifestations of *Blastocystis* spp. infection and the specific subtype of the isolates from the cases studied.

This research was funded by: Project No BG16RFPR002-1.014-0017, Centre of Competence “Fundamental, translational and clinical investigations on infections and immunity”, funded by “Research, Innovation and Digitalisation for Smart Transformation 2021–2027” Program.

KEYWORDS: *Blastocystis* spp., PCR, genotyping

МОЛЕКУЛЯРНА ДЕТЕКЦИЯ НА МИКРОСПОРИДИИ В ЧОВЕШКИ И ЖИВОТИНСКИ ФЕКАЛНИ ПРОБИ

А. Иванова¹, Н. Цветкова¹, М. Виденова¹, И. Георгиева², А. Стоянова², В. Джорова-
Петкова², З. Киркова³, Т. Тодорова³, Б. Славчева³

¹НЦЗПБ, НРЛ „Диагностика на паразитозите“, ²НЦЗПБ, НРЛ „Ентеровируси“,
³Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет, секция „Паразитология и
инвазионни болести“

ЦЕЛ: Цел на настоящото проучване е да се определи разпространението на микроспоридии в човешки и животински фекални проби чрез използване на конвенционален PCR за доказване на ДНК на *Microsporidia* spp.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: В НРЛ „Диагностика на паразитозите“ са изследвани 46 човешки и 22 животински (5 кучета и 17 заека) фекални проби. НРЛ „Ентеровируси“ предостави пробите на пациенти със стомашно-чревни оплаквания, а тези от животни са от екип от Тракийския университет – секция „Паразитология и инвазионни болести“. Пробите са изследвани с конвенционален PCR за намножаване на продукт с големина 250-280 bp, част от консервативен регион на SSU-rRNA за *Microsporidia* spp..

РЕЗУЛТАТИ: От изследваните 22 животински проби в две (9,1%) се открива ДНК на *Microsporidia* spp., пробите са от кучета от град Стара Загора. От проучените 46 човешки проби, позитивен резултат получихме в проба от фецес на дете на една годинка със стомашно-чревни оплаквания (2,2%). И при трите положителни проби се наблюдава очакваният амплификационен продукт с големина 250-280 bp.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Микроспоридиите са спорообразуващи гъбички, които причиняват зоонозни инфекции. Заразяват всички животински групи. Най-често са стомашно-чревни патогени, но са наблюдавани и в множество тъкани и органи. Предаването се осъществява предимно по фекално-орален път чрез поглъщане на силно резистентни спори, открити в замърсена храна, вода или повърхности. Молекулярните методи за откриване на микроспоридии са по-чувствителни, специфични и зависят по-малко от субективността на микроскопацията, отколкото традиционните микроскопски методи.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Microsporidia* spp., PCR, фецес

MOLECULAR DETECTION OF MICROSPORIDIA IN HUMAN AND ANIMAL FECAL SAMPLES

A. Ivanova¹, N. Tsvetkova¹, M. Videnova¹, I. Georgieva², A. Stoyanova², V. Petkova², Z.
Kirkova³, T. Todorova³, B. Slavcheva³

¹National Center for Infectious and Parasitic Diseases, National Reference Laboratory
“Diagnosis of Parasitic Diseases”, ²National Center for Infectious and Parasitic Diseases,
National Reference Laboratory “Enteroviruses”, ³Trakia University, Faculty of Veterinary
Medicine, Department of Parasitology and Invasive Diseases

AIM: The aim of this study is to determine the prevalence of microsporidia in human and animal fecal samples using conventional PCR to detect of *Microsporidia* spp. DNA.

MATERIALS AND METHODS: At the National Reference Laboratory for “Diagnosis of Parasitic Diseases” 46 human and 22 animal (5 dogs and 17 rabbits) fecal samples were examined. The National Reference Laboratory for “Enteroviruses” provided the samples from patients with gastrointestinal symptoms, while the animal samples were

provided by a team from Trakia University—the “Parasitology and Invasive Diseases” section. The samples were tested using conventional PCR to amplify a 250–280 bp fragment, part of a conserved region of SSU rRNA for *Microsporidia* spp..

RESULTS: Of the 22 animal samples tested, DNA from *Microsporidia* spp. was detected in two (9.1%); the samples were from dogs in the city of Stara Zagora. Of the 46 human samples examined, a positive result was obtained from a fecal sample from a one-year-old child with gastrointestinal symptoms (2.2%). In all three positive samples, the expected amplification product, ranging in size from 250 to 280 bp, was observed.

CONCLUSION: *Microsporidia* are spore-forming fungi that cause zoonotic infections. They infect all animal groups. They are most commonly gastrointestinal pathogens, but have also been observed in numerous tissues and organs. Transmission occurs primarily via the fecal-oral route through the ingestion of highly resistant spores found in contaminated food, water, or surfaces. Molecular methods for detecting microsporidia are more sensitive, more specific, and less dependent on the subjectivity of the microscopist than traditional microscopic methods.

KEYWORDS: *Microsporidia* spp., PCR, feces

СЛУЧАЙ НА *HETEROPHYES HETEROPHYES* В БЪЛГАРИЯ

М. Виденова¹, Н. Цветкова¹, Р. Борисова¹, З. Трайкова¹, А. Иванова¹, В. Якимова¹, О. Миков¹, С. Ханджиев², А. Чавушан², И. Петров², М. Писарска²

¹Отдел „Паразитология и тропическа медицина“, Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София, ²Отделение „Гастроентерология и хепатология“, „Аджибадем Сити Клиник“ Младост, София

ЦЕЛ: *Heterophyes heterophyes* (*H. heterophyes*) е малък чревен метил, който паразитира при хора и животни. Заразяването се извършва предимно чрез консумация на сурова или недопечена, заразена сладководна риба в региони като Близкия изток, Азия и части от Северна Африка. Представяне на клиничен случай от 2026 година на пациент, мъж на 26 години от гр. София, с анамнеза за консумация на сурова риба. При назначена долна ендоскопия (фиброколоноскопия), поради оплакване от болки в корема и профузна диария, се визуализират дребни капсулирани плоски червеи, прикрепени към лигавицата на тънкото черво.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: В Националната референтна лаборатория „Диагностика на паразитозите“ са извършени макро- и микроскопски анализи на възрастните форми и откритите яйца.

РЕЗУЛТАТИ: Наблюдаваните паразити бяха с типична листовидна форма и малки размери, а яйцата – овални и с капаче (оперкулум), съответстващи по морфологични белези и морфометрични характеристики на вида *H. heterophyes*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Настоящият случай представя рядко наблюдение на *H. heterophyes*, диагностициран чрез директна ендоскопска визуализация и последващо паразитологично потвърждение. Подобни изследвания подчертават необходимостта от включване на паразитните инфекции в диференциално-диагностичния план при пациенти с персистираща диария и абдоминална болка, особено при наличие на епидемиологични данни за възможна експозиция.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Heterophyes heterophyes*, фиброколоноскопия, плосък червей

БЛАГОДАРНОСТИ: Проучването е извършено с подкрепата на проект BG16RFPR002-1.014-0017 „Център за компетентност „Имунопатоген“ към Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ 2021–2027 г.

A CASE OF *HETEROPHYES HETEROPHYES* IN BULGARIA

M. Videnova¹, N. Tsvetkova¹, R. Borisova¹, Z. Traykova¹, A. Ivanova¹, V. Yakimova¹, O. Mikov¹,
S. Handzhiev², A. Chavushan², I. Petrov², M. Pisarska²

¹Department of Parasitology and Tropical Medicine, National Centre for Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, ²Department of Gastroenterology and Hepatology, Acibadem City Clinic Mladost, Sofia

AIM: *Heterophyes heterophyes* (*H. heterophyes*) is a small intestinal fluke that parasitizes humans and animals. Infection occurs primarily through the consumption of raw or undercooked, infected freshwater fish in regions such as the Middle East, Asia, and parts of North Africa. To present a clinical case from 2026 involving a 26-year-old male patient from Sofia with a history of consuming raw fish. During a lower endoscopy (fibrocolonoscopy) performed due to complaints of abdominal pain and profuse diarrhea, small, encapsulated flatworms attached to the mucosa of the small intestine were visualized.

MATERIALS AND METHODS: Macro- and microscopic analyses of the adult forms and the eggs detected were conducted at the National Reference Laboratory “Diagnosis of Parasitic Diseases”.

RESULTS: The parasites observed had a typical leaf-like shape and were small in size, while the eggs were oval and operculated, corresponding in morphological features and morphometric characteristics to the species *H. heterophyes*.

CONCLUSION: The present case represents a rare observation of *H. heterophyes*, diagnosed through direct endoscopic visualization and subsequent parasitological confirmation. Such studies underscore the need to include parasitic infections in the differential diagnosis of patients with persistent diarrhea and abdominal pain, especially in the presence of epidemiological data suggesting possible exposure.

KEYWORDS: *Heterophyes heterophyes*, fiberoptic colonoscopy, flatworm

ACKNOWLEDGEMENTS: This work is supported by Project BG16RFPR002-1.014-0017, “Immunopathogen Competence Center,” under the “Scientific Research, Innovation, and Digitalization for Smart Transformation” Program, 2021–2027.

СЕСИЯ VII – ВЕКТОРНО-ПРЕДАВАНИ И ДРУГИ ИНФЕКЦИИ

СРАВНЕНИЕ НА ДВЕ СЕРОЛОГИЧНИ ПЛАТФОРМИ ПРИ ИЗСЛЕДВАНЕ НА СПЕЦИФИЧНИ АНТИТЕЛА СРЕЩУ ПРИЧИНИТЕЛЯ НА ЛАЙМСКАТА БОРЕЛИОЗА

И. Трифонова¹, Т. Гладнишка¹, К. Нгок¹, И. Владимирова¹, Е. Панайотова¹, Е. Тасева¹, В.
Маринова-Йорданова¹, И. Христова¹

¹НЦЗПБ, София, НРЛ Векторно-преносими инфекции

ЦЕЛ: Да се сравнят резултатите от серологично изследване за лаймска борелиоза чрез ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA) и хемилуминесцентен имуноанализ (CLIA) за откриване на специфични IgG и IgM антитела и да се направи оценка на съответствието им спрямо имуноблот изследване и наличните клинични данни.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани бяха серумни проби от пациенти с клинични данни за лаймска борелиоза, анамнеза за ухапване от кърлеж или проследяване след предходно заболяване. IgG антителата бяха изследвани чрез Mikrogen recomWell Borrelia IgG ELISA и DiaSorin LIAISON Borrelia IgG CLIA, а IgM антителата – чрез Euroimmun Anti-Borrelia ELISA IgM и DiaSorin LIAISON Borrelia IgM CLIA. При част от пробите беше проведено потвърдително изследване чрез Mikrogen recomLine Borrelia IgG/IgM. Анализирани бяха съответствието между методите, количествената корелация и връзката с имуноблота.

РЕЗУЛТАТИ: За наличие на специфични IgG антитела бяха изследвани 41 проби, като съответствието между ELISA и CLIA беше 70,7% (29/41), при добра количествена корелация ($r=0,76$). При наличните проби с проведен имуноблот ELISA демонстрира по-високо съответствие с потвърдителния метод (84,6%) в сравнение с CLIA (53,8%), което вероятно е повлияно от използването на сходни рекомбинантни антигени в двете тестови системи. За IgM бяха анализирани 47 проби, като съответствието между ELISA и CLIA беше 63,8% (30/47), при добра количествена корелация ($r=0,84$). Различията между двата метода се установиха предимно при слабопозитивни и гранични резултати.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: ELISA и CLIA показаха добро количествено съответствие при определянето на специфични IgG и IgM антитела срещу *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Наблюдаваните различия вероятно се дължат както на различния принцип на детекция, така и на различията в антигенния състав на използваните тестови системи. Получените резултати показват, че двата метода са взаимно допълващи се и следва да бъдат интерпретирани в контекста на клиничната картина и, при необходимост, потвърдени чрез имуноблот. Благодарности: Проучването е осъществено с помощта на научен проект КП -06-H73/4 от 05.12.2023 и PRIDST 2021-2027, BG16RFPR002-1.014

КЛЮЧОВИ ДУМИ: ELISA, CLIA, Лаймска борелиоза

COMPARISON OF TWO SEROLOGICAL PLATFORMS FOR THE DETECTION OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST THE CAUSATIVE AGENT OF LYME DISEASE

I. Trifonova¹, T. Gladnishka¹, K. Ngoc¹, I. Vladimirova¹, E. Panayotova¹, E. Taseva¹, V. Marinova-Yordanova¹, I. Christova¹

¹NCIPD, Sofia, National Reference Laboratory for Vector-Borne Infections

AIM: To compare the results of serological testing for Lyme borreliosis using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and chemiluminescent immunoassay (CLIA) for the detection of specific IgG and IgM antibodies, and to evaluate their agreement with immunoblot testing and available clinical data.

MATERIALS AND METHODS: Serum samples were analyzed from patients with clinical findings suggestive of Lyme disease, a history of a tick bite, or follow-up after a previous illness. IgG antibodies were tested using the Mikrogen recomWell Borrelia IgG ELISA and the DiaSorin LIAISON Borrelia IgG CLIA, while IgM antibodies were tested using the Euroimmun Anti-Borrelia ELISA IgM and the DiaSorin LIAISON Borrelia IgM CLIA. A confirmatory test was performed on a subset of the samples using the Mikrogen recomLine Borrelia IgG/IgM assay. The agreement between the methods, quantitative correlation, and the relationship with immunoblotting were analyzed.

RESULTS: Forty-one samples were tested for the presence of specific IgG antibodies; the agreement between ELISA and CLIA was 70.7% (29/41), with good quantitative correlation ($r = 0.76$). Among the available samples, ELISA showed a higher agreement rate with the confirmatory method (84.6%) compared to CLIA (53.8%), which is likely due to the use of similar recombinant antigens in both test systems. For IgM, 47 samples were analyzed, and the agreement between ELISA and CLIA was 63.8% (30/47), with a good quantitative correlation ($r = 0.84$). Differences between the two methods were observed primarily in weakly positive and borderline results.

CONCLUSION: Conclusion: ELISA and CLIA demonstrated good quantitative agreement in the detection of specific IgG and IgM antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato. The observed differences are likely due to both the different detection principles and differences in the antigenic composition of the test systems used. The results indicate that the two methods are complementary and should be interpreted in the context of the clinical picture and, if necessary, confirmed by immunoblot.

Acknowledgments: This study was supported by KP-06-N73/4 from 05.12.2023 and PRIDST 2021-2027, BG16RFPR002-1.014

KEYWORDS: ELISA, CLIA, Lyme borreliosis

В31 И OSPC MIX-ЗАВИСИМИ ЦИТОКИНОВИ ОТГОВОРИ ПРИ СЕРОПОЗИТИВНИ ЗА BORRELIA BURGDORFERI ПАЦИЕНТИ

T. Гладнишка¹, P. Емилова², И. Трифонова¹, К. Нгок¹, И. Христова¹

¹НЦЗПБ, Микробиология, София, ²НЦЗПБ, Имунология, София

ЦЕЛ: Целта беше да се изследва и оцени връзката между В31 и OspC mix-зависимите цитокинови отговори и серологичния статус при серопозитивни за Bbsl пациенти.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Бяха анализирани кръвни и серумни проби от 39 пациенти. Периферни лимфоцити бяха изолирани и стимулирани с два Bbsl-специфични антигени, отрицателна и положителна контроли и беше определена продукцията на IFN γ . Общо 25 цитокини бяха измерени в супернатантите.

Серумните IgM и IgG антитела бяха оценени чрез ELISA и потвърдени чрез имуноблот. Статистическият анализ беше извършен с Python, чрез Ман-Уитни U тест на и δ -тест на Клиф.

РЕЗУЛТАТИ: Установихме 13 пациенти (33.3%) с положителни IgM и 4 (10.3%) с положителни IgG антитела. Сравнението между антиген-стимулираните цитокинови отговори при пациенти със и без специфични IgG антитела показва статистическа значимост ($p < 0.05$) при два цитокина. При шест цитокина установихме голям размер на ефекта (Cliff's $\delta > 0.474$), което показва биологическа значимост на наблюдаваните разлики при IgG-позитивните индивиди. IgM серологичният статус не показва значима връзка с антиген-индуцираната цитокина активация.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Реактивността на цитокините като цяло беше по-висока при IgG-позитивните индивиди. Резултатите предполагат по-силни прояви на: Еритема мигранс, невроборелиоза, лайм артрит както и имунни отговори след предходно излагане на Bbsl, които са: вродени възпалителни, регулаторни, паметови, остри или хронични възпалителни, свързани с дефицити на цитокини. Благодарности: Това проучване е извършено с подкрепата на: КП-06-N73/4 от 05.12.2023г. ПНИИДИТ 2021-2027, BG16RFPR002-1.014 „Устойчиво развитие на Центрове за върхови постижения и Центрове за компетентност, в т.ч. и на конкретни инфраструктури или техни обединения от Националната пътна карта за научноизследователска инфраструктура (НПКНИ)“, финансиран от Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Лаймска болест, цитокини, антитела

B31 AND OSPC MIX-DRIVEN CYTOKINE RESPONSES IN *BORRELIA BURGDORFERI*-SEROPOSITIVE PATIENTS

T. Gladnishka¹, R.Emilova², I. Trifonova¹, K. Ngoc¹, I. Christova¹

¹NCIPD, Microbiology, Sofia, ²NCIPD, Immunology, Sofia

AIM: The aim was to investigate and assess relationship between B31 and OspC mix-driven cytokine responses and serological status in Bbsl -seropositive patients.

MATERIALS AND METHODS: Blood and serum samples from 39 patients were analysed. Peripheral blood lymphocytes were isolated and stimulated with two Bbsl - specific antigens, negative and positive controls, and IFN γ production was determined. 25 cytokines in supernatants were measured. Serum IgM and IgG antibodies were assessed by ELISA and confirmed by immunoblot. Statistical analysis was performed in Python, Mann-Whitney U tests and Cliff's delta.

RESULTS: 13 patients (33.3%) had positive IgM and 4 (10.3%) had positive IgG antibodies. Comparison between antigen-driven cytokine responses in patients with and without Bbsl specific IgG antibodies showed statistical significance ($p < 0.05$) in 2 cases. Six cytokines showed large effect sizes (Cliff's $\delta > 0.474$), indicating biologically meaningful differences in IgG-positive individuals. IgM serostatus showed no meaningful association with antigen-induced cytokine activation.

CONCLUSION: Cytokine reactivity was overall greater in IgG-positive individuals. The results suggest stronger manifestations of: Erythema migrans, neuroborreliosis, lyme arthritis as well as immune responses after previous exposure to Bbsl, which are: innate inflammatory, regulatory, memory, acute or chronic inflammatory, associated with cytokine deficiencies.

Acknowledgements: This study was conducted with the support of: KP-06-N73/4 from 05.12.2023

PRIDST 2021-2027, BG16RFPR002-1.014 “Sustainable Development of Centers of Excellence and Centers of Competence, including specific infrastructures or their consortia from the National Roadmap for Research Infrastructure (NRRI)“ funded by Programme “Research, Innovation and Digitalisation for Smart Transformation“

KEYWORDS: Lyme disease, cytokines, antibodies

АТИПИЧНО ПРОТИЧАНЕ НА ТРОПИЧЕСКА МАЛАРИЯ: ПРЕДСТАВЯНЕ НА КЛИНИЧНИ СЛУЧАИ НА ДВАМА ПАЦИЕНТИ

Р.Борисова¹, Р.Харизанов¹, Н.Цветкова¹, А.Иванова¹, М.Виденова¹, В.Якимова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Целта на проучването е да се представят случаи на малария с атипично протичане при двама пациенти, завърнали се от Нигерия през 2026 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Използвани са резултати от микроскопско изследване на кръвни капки и натривки оцветени по Романовски-Гимза, ИХТ, PCR, анамнестични, клинични и параклинични данни.

РЕЗУЛТАТИ: Касае се за двамата пилоти, при които след пребиваване в Нигерия през март 2026 г., се развива симптоматика суспектна за малария. След консултация и изследване в НРЛ „Диагностика на паразитозите“ НЦЗПБ е поставена диагноза *Malaria tropica*, с причинител *P. falciparum*. При изследването на кръвни капки и натривки с оцветяване по Романовски-Гимза се откриха млади трофозоити (пръстени) на *P. falciparum*. Паразитемията при П1 – 21240 1μl/кръв, при П2 - 24896 μl/кръв. Назначено е лечение с (Artemether/Lumefantrine) в стандартни дози и схема. След приключването на лечението не се установи наличие на маларийни плазмодии в три поредни изследвания. Два дни след това и двамата пациенти отново са с фебрилитет. Кръвните тестове бяха с данни за паразитемия, макар и много по-ниска от първоначалната. При П1 – 944 /1μl кръв, а при П2 - 1364/1μl кръв. При двамата бе назначен повторен прием на антималярийни препарати - Artemether/Lumefantrine при П1 и парентерален Artesunate при П2, с добър терапевтичен ефект и липса на паразитемия

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: На база данните за рецидив на тропическа малария, може да се направи обосновано предположение, че се касае за частична резистентност на паразита към прилаганите медикаменти. Това налага допълнителни изследвания за наличие на мутации в k13 (kelch13) гена на паразита.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: малария ; лечение; лекарствена резистентност

ATYPICAL COURSE OF TROPICAL MALARIA PRESENTATION OF CLINICAL CASES OF TWO PATIENTS

R.Borisova¹, R. Harizanov¹, N.Tsvetkova¹, A.Ivanova¹, Videnova¹, V.Yakimova¹

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: The objective of the present study is to present cases of malaria with atypical manifestations in two patients who returned from Nigeria in 2026.

MATERIALS AND METHODS: The results of the microscopic examination of blood drops and smears stained with Romanowski-Giemsa, IHT and PCR, as well as the anamnestic, clinical and paraclinical data, were used.

RESULTS: This case concerns two pilots who developed symptoms suggestive of malaria following a stay in Nigeria in March 2026. Following consultation and testing at the National Reference Laboratory for the Diagnosis of Parasitic Diseases at the National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, they were diagnosed with malaria tropica caused by *P. falciparum*. Examination of blood smears stained with Romanowski-Giemsa revealed young trophozoites (rings) of *P. falciparum*. The parasitemia count was 21,240 per μl of blood for patient 1 (P1) and 24,896 per μl of blood for

patient 2 (P2). They were prescribed treatment with artemether/lumefantrine at standard doses and according to the standard regimen.

Following the completion of treatment, no malaria parasites were detected in three consecutive tests. However, two days later, both patients developed a fever again. Blood tests showed evidence of parasitemia, albeit at a much lower level than initially observed. The count was 944 per 1 µl of blood for P1 and 1,364 per 1 µl of blood for P2. Both patients were prescribed a repeat course of antimalarial drugs — artemether/lumefantrine for P1 and parenteral Artesunate for P2 — which resulted in a good therapeutic response and the absence of parasitemia.

CONCLUSION: Based on the data regarding tropical malaria relapse, it is reasonable to assume that the parasite has developed a partial resistance to the current medications. Further testing is required to detect mutations in the parasite's k13 (kelch13) gene

KEYWORDS: malaria; treatment; drug resistance

ДВА СЛУЧАЯ НА КЪРЛЕЖОВ ЕНЦЕФАЛИТ БЕЗ ЕПИДЕМИОЛОГИЧНА ВРЪЗКА - ПОТВЪРДЕНИ В ДВЕ ОБЛАСТИ НА БЪЛГАРИЯ (М. МАЙ 2026 Г.)

*Е. Тасева¹, Е. Панайотова¹, И. Трифонова¹, В. Маринова-Йорданова¹, Т. Гладнишка¹, Ким
Нзок¹, В. Иванова¹, И. Владимирова¹, И. Христова¹*

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Да се опишат лабораторно потвърдените случаи на Кърлежов енцефалит в България през м. май 2026 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследвани са клинични проби серум и ликвор. За детекция на специфични ИгМ и ИгГ антитела е използван ELISA метод с търговски кит Virion/Serion (FSME/TBE Virus IgM/IgG).

РЕЗУЛТАТИ: В България средната годишна заболяемост от ТБЕ за периода 2017-2025 г. беше 0.01/100 00 души. През месец май 2026 г. бяха диагностицирани два случая. Първият пациент (мъж, 57 г.) от област Ямбол, отглежда кози, консумирал е непастеризирано сурово мляко. Развива токсинфекциозен синдром (ТИС) и астенодинамичен синдром (ААД). От неврологичния статус - без синдром на менингоградикулярно дразнене (СМРД), при КТ (компютърна томография) – няма огнищни лезии. От лабораторните показатели - умерена левкоцитоза, повишен брой незрели гранулоцити и наличие на лимфопения. Изследван серум – наличие на специфични ИгГ и ИгМ антитела срещу ТБЕV. Втори случай (мъж, 46 г.) от област Перник, отглежда кози, има ухапване от кърлеж. Изразен ТИС, персистиращо главоболие, повишена температура с двувълнов характер. Няма данни за СМРД, след ЯМР-данни за нормална находка на мозъчния паренхим и частично нарушена пневматизация на мастоидните клетки в ляво. Изследван серум и ликвор – наличие на специфични ИгГ и ИгМ антитела. Ликворът - с данни за протеинракия и плейоцитоза. Заболяването и при двамата имаше благоприятен изход.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Описаните случаи показват, че въпреки, че рядко се диагностицира, кърлежовият енцефалит се среща в нашата страна. Рискът от тази инфекция не бива да се подценява, особено в сезона на пиковата активност на кърлежите. Енцефалитът е животозастрашаващо заболяване, често протича тежко и се налага своевременно разпознаване, диагностициране и лечение. Около 1% до 2-3% от случаите протичат тежко и могат да завършат фатално. При налични доказателства за предаване на вируса ТБЕV е необходимо да се прилагат потенциални мерки за безопасност. Необходимо е вземане на лични предпазни мерки, особено след пребиваване в ендемични региони. Глобалните климатични и екологични промени, както и появата на нови огнища на заразени кърлежи, изисква повишено внимание от страна на специалистите към възникването на нови огнища на инфекцията.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Кърлежов енцефалит, активност на кърлежите, СМДР

TWO CASES OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS WITHOUT EPIDEMIOLOGY CONNECTION - CONFIRMED IN TWO REGIONS OF BULGARIA (MAY 2026)

E. Taseva¹, E. Panayotova¹, I. Trifonova¹, V. Marinova-Jordanova¹, T. Gladnishka¹, Kim Ngoc¹, V. Ivanova¹, I. Vladimirova¹, I. Christova¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: To describe laboratory-confirmed cases of tick-borne encephalitis in Bulgaria in May 2026.

MATERIALS AND METHODS: Clinical serum and cerebrospinal fluid samples were tested. For the detection of specific IgM and IgG antibodies, an ELISA method with a commercial kit Virion/Serion (FSME/TBE Virus IgM/IgG) was used.

RESULTS: In Bulgaria, the average annual incidence of TBE for the period 2017-2025 was 0.01/100,000 people. In May 2026, two cases were diagnosed. The first patient (male, 57 years old) from Yambol district, raises goats, he has consumed unpasteurized raw milk. He develops toxicoinfectious syndrome (TIS) and asthenodynamic syndrome (AAD). From the neurological status, there is no meningoradicular irritation syndrome (MRDS), on CT (computed tomography) - no focal lesions. Laboratory findings include moderate leukocytosis, increased number of immature granulocytes and lymphopenia. Serum was tested for the presence of specific IgG and IgM antibodies against TBEV. Second case (male, 46 years old) from Pernik region, raises goats, had a tick bite. Pronounced TIS, persistent headache, fever with a two-wave character. No evidence of MRDS, after NMR data for normal findings of the brain parenchyma and partially impaired pneumatization of the mastoid cells on the left. Serum and cerebrospinal fluid (CSF) were examined – presence of specific IgG and IgM antibodies. CSF showed proteinuria and pleocytosis. The disease had a favorable outcome in both patients.

CONCLUSION: The described cases show that, although rarely diagnosed, tick-borne encephalitis occurs in our country. The risk of this infection should not be underestimated, especially during the peak tick activity. Encephalitis is a life-threatening disease, often severe and requires timely recognition, diagnosis and treatment. About 1% to 2-3% of cases are severe and can be fatal. If there is evidence of TBEV transmission, potential safety measures should be implemented. Personal precautions are necessary, especially after staying in endemic regions. Global climate and environmental changes, as well as the emergence of new outbreaks of infected ticks, are increasing the attention of specialists to the emergence of new outbreaks of infection.

KEYWORDS: Tick-borne encephalitis, tick activity, MRDS

ВНОСНИ СЛУЧАИ НА ДЕНГА В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА ЯНУАРИ 2025-ЮНИ 2026 Г.

Е. Панайотова¹, Е. Тасева¹, В. Маринова-Йорданова¹, К. Нгок¹, И. Владимирова¹, В. Иванова¹, Т. Гладнишка¹, И. Трифонова¹, И. Христова¹

¹Национален Център по Заразни и Паразитни Болести

ЦЕЛ: Да се анализират потвърдените вносни случаи на Денга в България за 18-месечен период.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: За периода януари 2025 – юни 2026 г. са изследвани общо 62 клинични проби от пациенти със съмнение за Денга (37 през 2025 г. и 25 до юни 2026 г.). Диагностиката включва серологични изследвания (доказване на NS1 антиген и специфични IgM антитела) и молекулярно-генетичен метод (qRT-PCR) за откриване на вирусна РНК.

РЕЗУЛТАТИ: Доказани са общо 9 вносни случая (6 мъже и 3 жени, на възраст 12–51 години). Основната дестинация на заразяване са Малдивите (6 случая), следвани от Бали, Индонезия (2) и комбинирано пътуване във Филипините, Тайланд и Малайзия (1). Лабораторно инфекцията е потвърдена чрез qRT-PCR при 7 от пациентите, а при 2 случая – чрез положителен NS1 антиген. Всички проби, подходящи за типичане (4 броя със Ct < 30), бяха идентифицирани като Денга вирус серотип 3 (DENV-3). Клиничната картина се доминира от висока температура, регистрирана при всички пациенти (9/9), макулопапулозен обрив (5/9) и мускулно-ставни болки (5/9). Единични случаи съобщават за главоболие, ретроорбитална болка и кашлица.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Регистрираните случаи показват, че вирус Денга трябва да се има предвид при пациенти с температура след пътуване, особено до популярни туристически дестинации като Малдивите и Бали. Наличието на комари от род *Aedes* в България допълнително подчертава нуждата от своевременно разпознаване на вносните случаи и поддържане на лабораторна готовност за диагностика.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: qRT-PCR, Денга, вносни случаи

IMPORTED DENGUE CASES IN BULGARIA, JANUARY 2025–JUNE 2026

E. Panayotova¹, E. Taseva¹, V. Marinova-Yordanova¹, K. Ngoc¹, I. Vladimirova¹, V. Ivanova¹, T. Gladnishka¹, I. Trifonova¹, I. Christova¹

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: To analyze confirmed imported Dengue cases in Bulgaria over an 18-month period.

MATERIALS AND METHODS: Between January 2025 and June 2026, a total of 62 clinical samples from patients with suspected Dengue were tested: 37 in 2025 and 25 up to June 2026. Laboratory diagnosis included serological testing for NS1 antigen and specific IgM antibodies, as well as a molecular method, qRT-PCR, for detection of viral RNA.

RESULTS: A total of 9 imported cases were confirmed: 6 males and 3 females, aged 12–51 years. The main destination associated with infection was the Maldives (6 cases), followed by Bali, Indonesia (2), and combined travel to the Philippines, Thailand and Malaysia (1). Laboratory confirmation was achieved by qRT-PCR in 7 patients and by positive NS1 antigen in 2 cases. All samples suitable for typing (4 samples with Ct < 30) were identified as Dengue virus serotype 3 (DENV-3). The clinical presentation was dominated by fever, reported in all patients (9/9), maculopapular rash (5/9), and myalgia/arthritis (5/9). Isolated cases reported headache, retro-orbital pain and cough.

CONCLUSION: The registered cases show that Dengue virus should be considered in patients with fever after travel, especially to popular tourist destinations such as the Maldives and Bali. The presence of *Aedes* mosquitoes in Bulgaria further highlights the need for timely recognition of imported cases and maintaining laboratory preparedness for diagnosis.

KEYWORDS: qRT-PCR, Dengue, imported cases

ПЪРВИ ЛАБОРАТОРНО ПОТВЪРДЕНИ ВНОСНИ СЛУЧАИ НА ЧИКУНГУНЯ ВИРУС В БЪЛГАРИЯ

*В. Маринова-Йорданова¹, Е. Панайотова¹, Е. Тасева¹, И. Трифонова¹, Т. Гладнишка¹, К.
Нгок¹, В. Иванова¹, И. Владимирова¹, И. Христова¹*

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Да се представят първите лабораторно потвърдени вносни случаи на инфекция с вируса Chikungunya в България и тяхното значение за общественото здраве.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Извършен е ретроспективен анализ на пациенти, изследвани със съмнение за инфекция с вируса Chikungunya (CHIKV) в Националната референтна лаборатория по векторно-преносими инфекции към Националния център по заразни и паразитни болести в периода януари–юни 2026 г. Анализирани са клиничните, епидемиологичните и лабораторните данни. Лабораторната диагностика включва доказване на вирусната РНК чрез real-time RT-PCR в острата фаза на инфекцията и серологично изследване за специфични IgM антитела чрез бърз имунохроматографски тест в по-късните стадии на заболяването.

РЕЗУЛТАТИ: През изследвания период са изследвани 13 пациенти със съмнение за CHIKV инфекция, като при петима диагнозата е потвърдена чрез real-time RT-PCR, а впоследствие при всички са установени специфични IgM антитела чрез бърз имунохроматографски тест. Потвърдените случаи включват три жени и двама мъже; четирима пациенти са пребивавали на Сейшелските острови, а един – в Сингапур. Първият лабораторно потвърден вносен случай в България е установен при 27-годишен мъж, завърнал се от Сейшелските острови, представящ се с фебрилитет, макулопапулозен обрив и силно изразена артралгия. Острата инфекция е доказана чрез real-time RT-PCR (Ct = 27), а серологичното изследване е положително на деветия ден от началото на симптомите.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Настоящото проучване представя първите лабораторно потвърдени вносни случаи на чикунгуния в България. Установяването на пет свързани с пътуване случая в рамките на шест месеца подчертава необходимостта инфекцията с вируса Chikungunya да бъде включвана в диференциалната диагноза при пациенти с фебрилитет след завръщане от ендемични райони и потвърждава значението на комбинирания молекулярен и серологичен подход за своевременна диагностика и ефективен епидемиологичен надзор.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Вирус Chikungunya; вносни случаи; инфекции, свързани с пътуване

FIRST LABORATORY-CONFIRMED IMPORTED CHIKUNGUNYA VIRUS CASES IN BULGARIA

*V. Marinova-Yordanova¹, E. Panayotova¹, E. Taseva¹, I. Trifonova¹, T. Gladnishka¹, K. Ngoc¹,
V. Ivanova, I. Vladimirova¹, I. Christova¹*

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: To present the first laboratory-confirmed imported cases of Chikungunya virus infection in Bulgaria and to highlight the importance of early laboratory diagnosis for epidemiological surveillance.

MATERIALS AND METHODS: A retrospective analysis was performed on patients investigated for suspected CHIKV infection at the National Reference Laboratory for Vector-Borne Infections, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Bulgaria, between January and June 2026. Clinical, epidemiological and laboratory data were

reviewed. Laboratory testing included qRT-PCR for detection of CHIKV RNA during the acute phase. In later stages of infection, CHIKV-specific IgM antibodies were detected using rapid immunochromatographic tests.

RESULTS: A total of thirteen patients were investigated for suspected CHIKV infection during the study period. Five cases were confirmed by qRT-PCR. The confirmed patients comprised three females and two males; four had recently travelled to the Seychelles and one to South-East Asia. The first laboratory-confirmed imported case in Bulgaria was diagnosed in a 27-year-old male returning from the Seychelles who presented with fever, maculopapular rash and severe arthralgia. Acute infection was confirmed by real-time RT-PCR (Ct=27), followed by a positive serology on day nine.

CONCLUSION: This study describes the first laboratory-confirmed imported CHIKV cases identified in Bulgaria. The detection of five travel-associated infections within a six months-period highlights the importance of considering CHIKV infection in the differential diagnosis of febrile travellers returning from endemic regions and underscores the value of combined molecular and serological diagnostics together with strengthened epidemiological surveillance.

KEYWORDS: Chikungunya virus; Imported case; Travel-associated infection

ТЕКУЩИ ДАННИ ЗА РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО И ВИДОВАТА ДОМИНАНТНОСТ НА ИКСОДОВИТЕ КЪРЛЕЖИ В БЪЛГАРИЯ

Н. Миткова¹, О. Миков¹, С. Бонева-Буковска¹, Д. Духалов², Г. Каменов¹, П. Генова-Калу¹

*¹Национален център по заразни и паразитни болести, ²Изследовател на свободна
практика*

ЦЕЛ: Да се представят данните от текущ проект върху пространственото разпространение и видовото доминиране на иксовите кърлежи в България.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Кърлежите бяха събрани с памучен флаг от растителността през март и май 2026 г., от всички 28 области на страната (общо 153 места). Всички теренни и метеорологични данни бяха записани в съответствие с протокол на ECDC. Събраните кърлежи бяха съхранени в пластмасови епруветки и транспортирани до лаборатория за видово определяне. За визуализиране на пространственото разпределение на кърлежите беше използван QGIS софтуер.

РЕЗУЛТАТИ: Събрани бяха общо 280 (n = 233 възрастни и 47 нимфи) кърлежи от 59 (39%) места, в 25 области. Местата с открити кърлежи, в градските и крайградски райони, бяха 31/77 (40%), в селските райони – 22/61 (36%), в природните – 5/11 (45%) и в земеделските – 1/4 (25%), съответно със 153, 71, 55 и 1 броя събрани кърлежи. Видовият състав включваше *Ixodes ricinus* (n = 200), *Rhipicephalus sanguineus* (n = 35), *Dermacentor marginatus* (n = 16), *D. reticulatus* (n = 8), *Haemaphysalis punctata* (n = 20) и *Haem. inermis* (n = 1). Селските и природните райони имаха по-голямо видово разнообразие (пет вида). Доминиращият вид в сбора, *I. ricinus* (71,42%), беше намерен в 20 области, следван от *R. sanguineus* (12,5%), намерен в 8 области, *Haem. punctata* (7,14%) – 8 области, *D. marginatus* (5,7%) – 7 области, *D. reticulatus* (2,9%) – 4 области и *Haem. inermis* (0,4%) – 1 област. *Ixodes ricinus* беше по-често откриван в градовете и около тях (90%), и в природните райони (78%). В сборовете от март и май месец, относителният дял на *I. ricinus* беше съответно 64% и 77%, на *R. sanguineus* – 0,9% и 21%, на *Haem. punctata* – 15% и 1,2%, на *D. marginatus* – 13% и 0,7%, на *D. reticulatus* – 6% и 0,7%, а на *Haem. inermis* – 0,9% и 0%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Повече от 50% от кърлежите бяха открити в градски и крайградски райони. *Ixodes ricinus* беше доминиращият вид кърлеж, открит в най-много области на страната, със сравнително постоянно наличие през двата пролетни месеца.

Благодарности: Това проучване е финансирано от ФНИ по проект с договор № КП-06-Н 91/1 от 03.12.2025 г.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: кърлежи, разпространение, доминантност

CURRENT DATA ON THE DISTRIBUTION AND ABUNDANCE OF HARD TICKS IN BULGARIA

N. Mitkova¹, O. Mikov¹, S. Boneva-Bukovska¹, D. Duhalov², G. Kamenov¹, P. Genova-Kalou¹

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Bulgaria, ²Freelance researcher, Bulgaria

AIM: To present data from an ongoing project on the spatial spread and relative abundance of the ticks at the national level.

MATERIALS AND METHODS: Tick collection was performed in March and May 2026 within all 28 districts (153 locations) of Bulgaria. Different types of habitats in urban and rural areas were investigated. The ticks were collected by the flagging method. During sampling, all data were recorded in accordance with the ECDC protocol. Collected ticks were stored in plastic test tubes and transported to the laboratory. The identification was based on external morphological features. For the spatial distribution of ticks, QGIS software was used.

RESULTS: A total of 280 (n = 233 adults; 47 nymphs) ticks were collected at 59 (39%) locations in 25 districts. The positive locations in urban and suburban areas were 31/77 (40%), in rural areas 22/61 (36%), in natural areas 5/11 (45%) and in agricultural areas 1/4 (25%), with 153, 71, 55, and 1 ticks, respectively. Species composition was represented by *Ixodes ricinus* (n = 200), *Rhipicephalus sanguineus* (n = 35), *Dermacentor marginatus* (n = 16), *D. reticulatus* (n = 8), *Haemaphysalis punctata* (n = 20), and *Hae. inermis* (n = 1). The rural and natural areas had higher species diversity (five species). The most abundant species, *I. ricinus* (71.42%), was found in 20 districts, followed by *R. sanguineus* (12.5%), *Hae. punctata* (7.14%), *D. marginatus* (5.7%), *D. reticulatus* (2.9%) and *Hae. inermis* (0.4%) found in 8, 8, 7, 4 and 1 districts, respectively. The distribution of *I. ricinus* was the highest in urban and suburban (90%) and natural (78%) areas. The ratio of abundance of *I. ricinus* was 64% and 77%, of *R. sanguineus* 0.9% and 21%, of *Hae. punctata* 15% and 1.2%, of *D. marginatus* 13% and 0.7%, of *D. reticulatus* 6% and 0.7%, and of *Hae. inermis* 0.9% and 0% in March and May, respectively.

CONCLUSION: More than 50% of the ticks were found in urban and suburban areas. *Ixodes ricinus* was the most widespread tick species in the country, with a relatively constant presence during the two spring months.

Acknowledgements: The study was supported by the Bulgarian Scientific Research Fund, Project contract No. KP-06-N 91/1 from 03.12.2025.

KEYWORDS: ticks, distribution, abundance

КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ КОЛИЧЕСТВОТО ВАЛЕЖИ И СЛУЧАИТЕ НА ЛЕПТОСПИРОЗА В НЯКОИ ОБЛАСТИ НА БЪЛГАРИЯ ЗА 5 ГОДИШЕН ПЕРИОД (2021-2025 Г.)

Е. Тасева¹, И. Трифонова¹, Е. Панайотова¹, Т. Гладнишка¹, Ким Нзок¹, В. Иванова¹, И. Владимирова¹, В. Маринова-Йорданова¹, И. Христова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Целта на проучването е да се проследи заболяемостта от лептоспироза за периода 2021-2025 г. и да се отчете има ли корелация между разпространението на случаите на лептоспироза и количеството валежи в мм.на кв.м.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: За периода 2021-2025 г. бяха изследвани общо 496 серуми от пациенти със съмнение лептоспироза. От тях 17 серуми бяха с доказани антилептоспирни антитела чрез

микроаглутинационен тест (МАТ) срещу циркулиращите серогрупи лептоспири в България. Бяха използвани данни за средномесечното разпределение на количеството на валежите, предоставени от Националния институт по метеорология и хидрология към БАН (НИМХ). Метеорологичната информация е изчислена по данни от климатични и валежомерни станции с надморска височина до 800 м.

РЕЗУЛТАТИ: Средната годишна заболяемост от лептоспироза през този период беше 0.054/100 000. За изследвания период всички случаи на лептоспироза принадлежаха към серогрупа *Icterohaemorrhagiae*. Случаите бяха регистрирани в 10 области на страната: в областите София, София град и Бургас – по 3 случая; в област Пазарджик – 2 случая, а в останалите по 1 случай. Най-голям брой заболяели бяха отчетени през 2022 г. 6/17 (35.29%), докато през 2025 г. беше регистриран 1 случай на лептоспироза. Това най-вероятно се дължи на горещите периоди през лятото и есента на 2025 г. Най-голям брой случаи са доказани през м. юни и октомври по 4/17 (23,5%), което корелира с по-високото общо количество валежи за тези месеци (м. юни- 339 мм/кв.м. и м. октомври -300 мм/кв.м.). В областите: Бургас, Пазарджик и Ямбол се наблюдава положителна корелация между количеството валежи за м. октомври и случаите на лептоспироза, както и в областите София-област и Враца за м. юни. Ранговата корелация на Спийрман показва положителна връзка между валежите и честотата на лептоспирозата ($r = 0,372$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Валежите се идентифицират като рисков фактор, влияещ върху честотата на случаите на лептоспироза в даден ендемичен регион. Наблюдава се с умерена сила на корелация. Дъждът води до повишена влажност на почвата и оптимално условие за оцеляване на лептоспирите в почвата в продължение на няколко седмици. Препоръчително е да се засилва надзора на заболяването, особено след обилни валежи и наводнения в ендемичните региони.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: лептоспироза, количество валежи, ендемични региони

CORRELATION BETWEEN RAINFALL AMOUNT AND LEPTOSPIROSIS CASES IN SOME AREAS OF BULGARIA FOR A 5-YEAR PERIOD (2021-2025)

E. Taseva¹, I. Trifonova¹, E. Panayotova¹, T. Gladnishka¹, Kim Ngok¹, V. Ivanova¹, I. Vladimirova¹, V. Marinova-Yordanova¹, I. Christova¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: This study is to track the incidence of leptospirosis for the period 2021-2025 and to determine whether there is a correlation between the prevalence of leptospirosis cases and the amount of precipitation in mm per sq.m.

MATERIALS AND METHODS: For the period 2021-2025, a total of 496 sera from patients suspected of leptospirosis were examined. Of these, 17 sera had proven anti-leptospira antibodies by microagglutination test (MAT) against the circulating leptospira serogroups in Bulgaria. Data on the average monthly distribution of precipitation, provided by the National Institute of Meteorology and Hydrology at the Bulgarian Academy of Sciences (NIMH), were used. Meteorological information was calculated based on data from climate and precipitation stations with an altitude of up to 800 m.

RESULTS: The average annual incidence of leptospirosis during this period was 0.054/100,000. For the studied period, all cases of leptospirosis belonged to the serogroup *Icterohaemorrhagiae*. The cases were registered in 10 districts of the country: in the districts of Sofia, Sofia City and Burgas - 3 cases each; in the district of Pazardzhik - 2 cases, and in the rest 1 case each. The largest number of cases was reported in 2022 - 6/17 (35.29%), while in 2025, 1 case of leptospirosis was registered. This is most likely due to the hot periods in the summer and autumn of 2025. Droughts that affected many regions of the country reached extreme levels, putting farmers and local ecosystems to the test. The largest number of cases was proven in June and October by 4/17 (23.5%), which correlates with the higher total amount of precipitation for these months (June - 339 mm/sq.m. and October -300 mm/sq.m.). In the districts of Burgas, Pazardzhik and Yambol, a positive correlation was observed between the amount of precipitation

for October and cases of leptospirosis, as well as in the districts of Sofia-region and Vratsa for June. Spearman's rank correlation shows a positive relationship between precipitation and the incidence of leptospirosis ($r = 0.372$).

CONCLUSION: Precipitation is identified as a risk factor influencing the frequency of leptospirosis cases in a given endemic region. It is observed with a moderate correlation strength. Rain leads to increased soil moisture and optimal conditions for the survival of leptospires in the soil for several weeks. It is advisable to strengthen surveillance of the relevant, especially after heavy rainfall and flooding in endemic regions.

KEYWORDS: leptospirosis, amount of rainfall, endemic regions

СЕСИЯ VIII – ИНФЕКЦИИ, СВЪРЗАНИ С МЕДИЦИНСКОТО ОБСЛУЖВАНЕ И ИНФЕКЦИИ ПРИ ИМУНОДЕФИЦИТНИ СЪСТОЯНИЯ И ЗАБОЛЯВАНИЯ

ПРИЛАГАНЕ НА ПОДХОДА ПРОМЯНА В ПОВЕДЕНИЕТО ПРИ ВНЕДРЯВАНЕ РЪКОВОДСТВАТА ЗА ПКИ/AMS, COM-B МОДЕЛ.

Р. Вачева-Добревска¹

¹УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“, София

Социалните и поведенческите науки помагат за превенцията и контрол на инфекциите, като анализират как хората възприемат риска, вземат решения относно здравето си и взаимодействат със здравната система. Това позволява разработването на интервенции, които оптимизират придържането към ръководства за добри практики. Моделът COM-B е рамка за промяна на поведението, която предлага три необходими компонента за възникване на всяко поведение (В). Чрез оценка на способностите (С), възможностите (О) и мотивацията (М), лидери, учени могат да разберат защо се случва определено поведение и да създадат целенасочени интервенции за ефективна промяна.

Направен е обширен литературен обзор в областта COM-B модел и рамка за промяна на поведението BCW при ПКИ/AMS. Етапи на BCW при внедряването на насоките за IPC/AMS: 1. Определете целевите поведения, напр. спазване на хигиената на ръцете. 2. Диагностициране на бариерите/факторите, улесняващи поведението. Използване на модел COM-B за категоризиране на бариерите и фасилитаторите. 3. Разработване на стратегии и интервенции за повлияване на поведението при IPC/AMS, произтичащо от стъпка 2. Използвайте BCW за избор интервенции за промяна на поведението, изградени около модела COM-B. 4: Прилагане на поведенчески информирани интервенции в IPC/AMS. Комбиниране различни подходи: мултимодални стратегии на СЗО за подобряване на прилагането на IPC. 5. Оценка на интервенциите: пилотни проучвания и сравнителен анализ на преди и след интервенцията за измерване на промените в поведението на AMS/IPC, напр. проценти на придържане към хигиената на ръцете. Социалните и поведенчески науки помогнат да разберем възприятията, нагласите, страховете, капацитета, способностите и очакванията на общността по отношение на здравето и здравните заплахи. Прилагането на COM-B модела и рамката за промяна на поведението на медицинските специалисти подобрява утвърждаване на добрите практики и ръководства в IPC/AMS.

APPLYING THE BEHAVIOR CHANGE APPROACH TO IMPLEMENTING THE IPC/AMS GUIDELINES, COM-B MODEL

R. Vatcheva-Dobrevska¹,

¹University Hospital “Queen Joanna”, Sofia

Social and behavioral sciences help prevent and control infections by analyzing how people perceive risk, make decisions about their health, and interact with the health care system. This allows for the development of interventions that optimize adherence to good practice guidelines. The COM-B model is a behavior change framework that proposes three necessary components for the occurrence of any behavior (B). By assessing capabilities (C), opportunities (O), and motivation (M), leaders and researchers can understand why a particular behavior occurs and design targeted interventions for effective change. An extensive literature review has been conducted on the COM-B model and BCW behavior change framework for IPC/AMS. BCW steps in implementing IPC/AMS guidelines: 1. Identify target behaviors, e.g., hand hygiene. 2. Identify barriers/facilitators. Use the COM-B model to categorize barriers and

facilitators. 3. Develop strategies and interventions to influence IPC/AMS behavior, resulting from step 2. Use BCW to select behavior change interventions built around the COM-B model. 4: Implement behaviorally informed interventions in IPC/AMS. Combine different approaches: WHO multimodal strategies to improve IPC implementation. 5. Evaluate interventions: pilot studies and comparative analysis of pre- and post-intervention to measure changes in AMS/IPC behavior, e.g. hand hygiene adherence rates. Social and behavioral sciences help to understand community perceptions, attitudes, fears, capacities, abilities and expectations regarding health and health threats. Applying the COM-B model and the behavior change framework to health professionals improves the implementation and validation of good practices and guidelines in IPC/AMS.

КАК ЕВРОПЕЙСКИ ПРОЕКТ EU JAMRAI 2 ПОДПОМАГА СИСТЕМИТЕ ЗА ПКИ И АМС НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ СТРАНИ

Р. Вачева-Добревска¹

¹УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“, София

Европейският проект EU-JAMRAI 2 със своето направление WP 7.1. Improve the Infection Prevention and Control (IPC) actions with a One Health approach- Подобряване на действията за превенция и контрол на инфекциите с подход „Едно здраве“ и WP6.1 Human Stewardship-Управление на употребата на антимикробни средства в хуманната медицина, има изключително значение за укрепване ПКИ в хуманната медицина в здравните системи в цяла Европа, като ключов компонент в борбата срещу АМР и ИСМО. Дейностите по РП 7.1 и РП 6.1. на проекта, в които България участва са следните.:1. Обучение по превенция и контрол на инфекциите (ПКИ): програми за P2P –peer-to-peer обмен, менторшип /наставничество, наблюдение, уебинари и др 2. Създаване на средства и рамка за самооценка на дейностите по ПКИ, както и дигитални платформи).3. Ще се работи върху концептуализиране и детайлизиране на пилотните проекти за оперативни инструменти за прилагане на ПКИ. 4. Диагностично управление на изследването на хемокултури-България участва в преглед на литературата, мета-анализ и изработване на документа 5. Препоръка за промени в техническия документ на ECDC от 2013 г. относно основните компетенции по IPC 6. Общата система за самооценка (SAS) на основни компетенции по IPC за специалистите по контрол на инфекциите.7. - IPC Core Components in Europe – Insights from Point Prevalence Surveys-Основни компоненти на IPC в Европа – включване в EU PPS.8. – INSIGHT Self-Assessment Tool and Platform Demon- инструмента за самооценка и платформа. В заключение: проектът ще развива сътрудничеството, споделянето на знания и практическото прилагане на стратегиите за ПКИ и управление на антибиотичната употреба в цяла Европа.

HOW THE EUROPEAN PROJECT EU JAMRAI 2 SUPPORTS IPC AND AMS SYSTEMS OF EU COUNTRIES

R. Vatcheva-Dobrevska¹

¹University Hospital “Queen Joanna”, Sofia

The European project EU-JAMRAI 2 with its WP 7.1. Improve the Infection Prevention and Control (IPC) actions with a One Health approach and WP6.1 Human Stewardship is of utmost importance for strengthening IPC in human medicine in health systems across Europe, as a key component in the fight against AMR and IMR. The activities under WP 7.1 and WP 6.1.of the project, in which Bulgaria participates, are as follows:1. Training in infection prevention and control (IPC): programs for P2P - peer-to-peer exchange, mentorship / mentoring, monitoring, webinars, etc. 2. Creation of tools and a framework for self-assessment of IPC activities, as well as digital platforms).3. Work will be done on conceptualizing and detailing pilot projects for operational tools for the implementation of IPC. 4. Diagnostic management of blood culture testing - Bulgaria participated in the literature review, meta-analysis and development of the document 5. Recommendation for changes to the 2013 ECDC technical

document on IPC core competencies 6. The Common Self-Assessment System (SAS) of IPC core competencies for infection control professionals. 7. - IPC Core Components in Europe – Insights from Point Prevalence Surveys - Core components of IPC in Europe - inclusion in the EU PPS. 8. - INSIGHT Self-Assessment Tool and Platform Demon - the self-assessment tool and platform. In conclusion: the project will develop collaboration, knowledge sharing and practical implementation of IPC and antibiotic stewardship strategies across Europe.

ИМА ЛИ ВЪТРЕБОЛНИЧНА ЛЕГИОНЕРСКА БОЛЕСТ В БЪЛГАРИЯ?

И. Томова^{1,2}, К. Иванова³, Б. Цафарова¹, Й. Добринова^{1,2}

¹НРЛ ООБИ, НЦЗПБ, ²Център за компетентност Имунпатоген, бул. Янко Сакъзов 26, София, ³СМДЛ Микробиолаб - София

ЦЕЛ: Представяне на данни за първите 3 случая на вътреболнична Легионерска болест (ВБЛБ) засечени у нас и данни за *Legionella* контаминация във води от Лечебни/Здравни заведения (Л/ЗЗ).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Микробиологично и епидемиологично проучване на клинични случаи и бактериологично изследване на водни проби за *Legionella* (ISO 11731).

РЕЗУЛТАТИ: Микробиологично са потвърдени 3 случая на заболяване, които отговарят на дефиницията за ВБЛБ. Всички пациенти са приети за лекуване по повод основно имunosupresиращо заболяване. В хода на хоспитализацията те развиват остра атипична пневмония с прием в клиника за интензивно лечение. Един от случаите е с доказан източник на инфекция (вкл. МАб типирание и секвениране). Другите два оформят клъстер от първоначално лекувани в една клиника в рамките на един и същ месец пациенти. Трите случая завършват с летален изход. За легионелна контаминация са изследвани води от 30 Л/ЗЗ в 9 области. Положителни са 57% от обектите в концентрации 101 - ≥ 104 cfu/L. Изолатите са идентифицирани като *L. pneumophila* Sg1 и Sg2-14, а в единични случаи – като други патогенни за човека легионели (*L. feeleii*, *L. micdadei*).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Обикновено Легионерската болест (в обществото; при пътуване) е с висок леталитет 10-20%. При ВБЛБ този процент нараства значително до $\geq 40\%$. Нашите резултати сочат, че ВБЛБ съществува у нас и е повече от вероятно, че тя е недоклаждана и/или недиагностицирана. Случаите на ВБЛБ трябва да се докладват и проучват задълбочено от различни специалисти. Обезпокоителни са данните от изследване на легионелната контаминация в Л/ЗЗ. Необходимо е разширяване и детайлизиране на проучванията. Важно е изолати от РЗИ и частни лаборатории да се изпращат в НРЛ ООБИ, за окончателна идентификация и типирание за нуждите на персонализираната оценка на риска. Не на последно място, трябва да се обучат медицински и немедицински (инженери, нозологично фокусирани групи) специалисти относно спецификите на легионелните бактерии, съставяне и прилагане на адекватни превантивни програми.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Легионерска болест, вътреболнична инфекция, легионелна контаминация

IS THERE HOSPITAL ACQUIRED LEGIONNAIRES' DISEASE IN BULGARIA?

I. Tomova^{1,2}, K. Ivanova³, B. Tsafarova¹, Y. Dobrinova^{1,2}

¹NRL Special Bacterial Pathogens (SBP), NCIPD, ²Immunopathogen Competence Center, 26 Yanko Sakazov Blvd., Sofia, ³IMDL Microbiolab – Sofia

AIM: To present data on the first 3 cases of Hospital Acquired Legionnaires' Disease (HALD) detected in our country and data on *Legionella* contamination in waters from Hospitals/Healthcare Facilities (H/HFs).

MATERIALS AND METHODS: Microbiological and epidemiological investigation of clinical cases and bacteriological examination of water samples for *Legionella* (ISO 11731).

RESULTS: Microbiological and epidemiological investigation of clinical cases and bacteriological examination of water samples for *Legionella* (ISO 11731). Results: Three cases that cover the case definition of HALD were microbiologically confirmed. All patients were initially admitted for treatment of immunosuppressive diseases. During their hospitalization they developed acute atypical pneumonia and were transferred to intensive care units. One of the cases had a microbiologically proven source of infection (incl. MAb typing and sequencing). The other two cases form a cluster of patients initially hospitalized in one clinic within one and the same month. All three cases were with a fatal outcome. Water samples from 30 H/HFs in 9 Bulgarian districts were tested for *Legionella* contamination. *Legionellae* were found in 57% of the sites in concentrations of 101- ≥ 104 cfu/L. The isolates were identified as *L. pneumophila* Sg1 and Sg2-14, and in some cases - as other human pathogenic legionellae (*L. feeleii*, *L. micdadei*).

CONCLUSION: Generally, cases of Legionnaires' disease (community or travel associated) have a high mortality rate of 10-20%. In the case of HALD, this rate increases significantly to $\geq 40\%$. Our results indicate that HALD exists in our country and it is most probable that they are underreported and/or underdiagnosed. Such cases should be reported and investigated in depth by various specialists. The data for legionella contamination in H/HFs are disturbing and such studies need to be expanded and more detailed. It is important that RHI and private labs send their *Legionella* water isolates to the NRL SBP for final identification and typing for the needs of personalized risk assessment. Last but not least, medical and non-medical (engineers, nosologically focused groups) specialists should be trained on the specifics of *Legionella* bacteria, and on the development and implementation of adequate preventive programs.

KEYWORDS: Legionnaires' disease, hospital acquired infection, *Legionella* contamination

МИКРОБИОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА НЕ-ЛЕГИОНЕЛНИ ИЗОЛАТИ ПРИ ДВА ПОТВЪРДЕНИ СЛУЧАЯ НА ЛЕГИОНЕРСКА БОЛЕСТ

Е. Добрева¹, И. Томова¹, И. Н. Иванов¹

¹Национален Център по Заразни и Пазразитни Болести (НЦЗПБ), гр. София

ЦЕЛ: Идентификация и резистотипиране на не-легионелни изолати от бронхоалвеоларни лаважи (БАЛ) при два културелно доказани случая на Легионерска болест (ЛБ).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: През 2025 г. са проведени културелни изследвания на БАЛ за *Legionella* spp. и не-легионелни изолати при пациенти с атипична пневмония от КАИЛ. Всички получени изолати са идентифицирани чрез MALDI-TOF-MS-автоматизирана система за спектрофотометричен анализ (Bruker, USA). Отчитането на антибиотичната чувствителност е извършено чрез Biomic V3, 96-well Microfilter&Clinical Microbiology System, USA, и определена с EUCAST v.15 (2025). Приложени са бързи имунохроматографски тестове (ИХТ) за доказване продукция на карбапенемази (CORIS, BioConcept, Belgium).

РЕЗУЛТАТИ: При пациент А (болница I) и пациент В (болница II) се изолира *L. pneumophila* Sg 2-14, като причинител на атипична пневмония. При първия клиничен случай се изолира и *Pseudomonas aeruginosa*, който бе чувствителен на всички изследвани антимикробни средства. При втория клиничен случай се изолират: *Achromobacter xylosoxidans*, *Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae*. *A. xylosoxidans* бе чувствителен на всички изследвани антибиотици, докато *A. baumannii* бе чувствителен само на colistin и продуцент на OXA-23, а *K. pneumoniae* на colistin и cefiderocol, и NDM- продуцент.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: В БАЛ при двата клинични случая на *L. pneumophila* Sg 2-14 се доказаха и други бактерии с патогенен потенциал, и вероятна коинфекция/контаминация при ЛБ. Запазената антибиотична чувствителност на *P. aeruginosa* при първия случай сочи, че вероятно не се касае за вътреболничен

причинител. При втория случай *A. xylosoxidans* бе със запазена чувствителност, но другите два изолата: *A. baumannii* и *K. pneumoniae* показаха множествена резистентност, и вероятно са асоциирани с медицинското обслужване. В подобни случаи е необходимо провеждане на допълнителни изследвания на проби от болнична среда и ефективни мерки за превенция и контрол на инфекциите. Прилагането на colistin при пациент В бе терапевтичното решение за преодоляване сериозността на състоянието, породено от съпътстващото наслагване на ЛБ с два множествено резистентни микроорганизма.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Легионерска болест (ЛБ), коинфекция/колонизация; множествена резистентност

MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION OF NON-LEGIONELLA ISOLATES IN TWO CULTURE-CONFIRMED CASES OF LEGIONNAIRES' DISEASE

E. Dobрева¹, I. Tomova¹, I. N. Ivanov¹

¹*National Centre of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, Bulgaria*

AIM: To identify and determine the antimicrobial resistance profiles of non-*Legionella* isolates recovered from bronchoalveolar lavage (BAL) samples in two culture-confirmed cases of Legionnaires' disease (LD).

MATERIALS AND METHODS: In 2025, BAL samples obtained from ICU patients with atypical pneumonia were cultured for the detection of *Legionella* spp. and other bacterial isolates. All recovered isolates were identified using a MALDI-TOF MS automated identification system (Bruker, USA). Antimicrobial susceptibility testing was performed using the Bionic V3 96-well Microfilter Clinical Microbiology System (USA), and results were interpreted according to EUCAST v.15 (2025). Rapid immunochromatographic tests (ICTs) were used to detect carbapenemase production (CORIS BioConcept, Belgium).

RESULTS: *L. pneumophila* serogroups 2–14 were isolated from both Patient A (Hospital I) and Patient B (Hospital II) and were identified as the causative agent of atypical pneumonia. In the first clinical case, *Pseudomonas aeruginosa* was additionally isolated and was susceptible to all tested antimicrobial agents. In the second clinical case, *Achromobacter xylosoxidans*, *Acinetobacter baumannii*, and *Klebsiella pneumoniae* were isolated. *A. xylosoxidans* was susceptible to all tested antibiotics, whereas *A. baumannii* was susceptible only to colistin and was identified as an OXA-23 producer. *K. pneumoniae* was susceptible only to colistin and cefiderocol and was identified as an NDM producer.

CONCLUSION: In BAL samples from both clinical cases of *L. pneumophila* serogroups 2–14 infection, additional bacterial species with pathogenic potential were detected, suggesting possible coinfection or colonisation. The preserved susceptibility of *P. aeruginosa* in the first case suggests that it was unlikely to be a nosocomial pathogen. In the second case, *A. xylosoxidans* remained fully susceptible, whereas *A. baumannii* and *K. pneumoniae* exhibited multidrug-resistant phenotypes and were likely associated with healthcare settings. In such cases, additional investigation of the hospital environment and implementation of effective infection prevention and control measures are warranted. Administration of colistin to Patient B was considered an appropriate therapeutic approach given the severity of the clinical condition and the concomitant presence of two multidrug-resistant pathogens.

KEYWORDS: Legionnaires' disease (LD), coinfection/colonisation, multidrug resistance

**ГЕНОТИПНА И ФЕНОТИПНА ХАРАКТЕРИСТИКА НА АДХЕЗИВНИЯ
КАПАЦИТЕТ И ПРОФИЛА НА АНТИМИКРОБНА УСТОЙЧИВОСТ ПРИ
КЛИНИЧНИ ИЗОЛАТИ НА STAPHYLOCOCCUS AUREUS И PSEUDOMONAS
AERUGINOSA**

*М. Баес-Христова¹, Р. Димитрова-Беневска², И. Главчева², Е.Кьолян³, Дениз Хамидов³,
Г. Тодоров³, Ахмед Бут¹, С. Димитров², В. Вълчева^{1,2}*

*¹Бургаски Държавен Университет „Проф. Д-Р Асен Златаров“, Медицински факултет,
Катедра „Химия, Биогимия, Биология и микробиология“, ²Институт по микробиология
„Стефан Ангелов“, Департамент “Инфекциозна микробиология”, Българска Академия
на Науките, ³Университетска болница „Лозенец“, София, Лаборатория по Клинична
микробиология и вирусология*

ЦЕЛ: Целта на това изследване е да се извърши генотипна и фенотипна характеристика на адхезивния капацитет и профила на антимикробна устойчивост при клинични изолати на *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, като се анализират и механизмите на действие на антибиотиците спрямо техните структурни особености.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: : Изследвани са общо 46 клинични изолати на *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* (по 23 от двата вида), взети предимно от рани, урина, храчки и носен секрет. Антимикробната чувствителност е определена чрез дисково-дифузионен метод и Е-тест по критериите на EUCAST. Образуването на биофилм е измерено чрез кристалвиолетов метод в плаки, протеазната активност – чрез зона на хидролиза, а присъствието на регулаторните гени *lasR* и *rhlR* е доказано с PCR анализ.

РЕЗУЛТАТИ: Резултатите показват, че бета-лактамите, макролидите и сулфаниламидите демонстрират добра активност срещу *S. aureus*, докато ефективността им при *P. aeruginosa* е ограничена от външната мембрана, бета-лактамазите и ефлукс помпите. Аминогликозидите показват сходен механизъм на действие и при двата микроорганизма. Установена е значителна способност за силно биофилмообразуване, особено при щамове на *P. aeruginosa* както и хетерогенност в протеазната активност (до 6 мм зона на хидролиза). Чрез PCR успешно е доказано присъствието на кворум сенсинг гените *lasR* и *rhlR* при щамове на *P. aeruginosa*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: В заключение, структурните и метаболитни различия между *S. aureus* и *P. aeruginosa* определят техните профили на чувствителност и механизми на действие. Високата резистентност, съчетана със силните биофилм-образуващи и протеолитични свойства на изолатите, подчертават значимостта на биофилмите и вирулентните фактори в патогенезата и дават важна основа за рационалния избор на антимикробна терапия.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, биофилм

**GENOTYPIC AND PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF ADHESIVE
CAPACITY AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE IN CLINICAL
ISOLATES OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

*M. Baes-Hristova¹, R. Dimitrova-Benevska², I. Glavcheva², E. Keuleyan³, Deniz Hamidov³, G.
Todorov³, Ahmed Butt¹, S. Dimitrov², V. Valcheva^{1,2}*

*¹Burgas State University “Prof. Dr. Asen Zlatarov”, Medical Faculty, Department of Chemistry,
Biochemistry, Biology, and Microbiology, ²Stephan Angeloff Institute of Microbiology,
Department of Infectious Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences, ³Lozenets University
Hospital - Sofia, Laboratory of Clinical Microbiology and Virology*

AIM: This study aims to perform a genotypic and phenotypic characterization of the adhesive capacity and antimicrobial resistance profiles of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, and to elucidate the mechanism of action of antibiotics in relation to their structural features.

MATERIALS AND METHODS: This study analyzed 46 clinical strains, divided equally between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* (23 per species), originating predominantly from wound, urine, sputum, and nasal specimens. Antimicrobial susceptibility testing was performed using the disk diffusion method and E-test in accordance with EUCAST criteria. Biofilm formation was measured using the crystal violet assay in microtiter plates, protease activity was determined via the zone of hydrolysis and the presence of the regulatory genes *lasR* and *rhlR* was confirmed by PCR analysis.

RESULTS: The results show that beta-lactams, macrolides, and sulfonamides demonstrate higher activity against *S. aureus*, whereas their efficacy against *P. aeruginosa* is limited by the outer membrane, beta-lactamases, and efflux pumps. Aminoglycosides show a comparable mechanism of action in both microorganisms. A significant capacity for robust biofilm formation was established, particularly in *P. aeruginosa* strains, alongside heterogeneity in protease activity (up to a 6-mm zone of hydrolysis). The presence of the quorum-sensing genes *lasR* and *rhlR* in *P. aeruginosa* strains was successfully validated by PCR.

CONCLUSION: The structural and metabolic differences between *S. aureus* and *P. aeruginosa* dictate their susceptibility profiles and the mechanisms of antibiotic action. The high resistance rates, combined with the strong biofilm-forming and proteolytic properties of the isolates, underscore the critical role of biofilms and virulence factors in pathogenesis while providing a foundation for the rational selection of antimicrobial therapy.

KEYWORDS: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, biofilm

ГЕНОТИПНИ И ФЕНОТИПНИ ПРОФИЛИ НА РЕЗИСТЕНТНОСТ ПРИ ИНВАЗИВНИ ИЗОЛАТИ НА *A. baumannii* ОТ УНИВЕРСИТЕТСКА БОЛНИЦА В БЪЛГАРИЯ

Т. Маринова-Българанова¹, П. Христова¹, П. Мариновска¹, В. Нанков², С. Пейков^{3,4}, Н.
Българанов⁵, Х. Хиткова¹

¹Медицински университет - Плевен, факултет „Фармация“, Катедра „Микробиология и вирусология“, ²Медицински университет - Плевен, факултет „Медицина“, Катедра „Анатомия, хистология, цитология и обща биология“, ³Медицински университет - София, Медицински факултет, Катедра по медицинска микробиология, ⁴Софийски университет „Св. Климент Охридски“, Биологически факултет, Катедра „Генетика“, ⁵Медицински университет - Плевен, факултет „Медицина“, Катедра „Детски болести“

ЦЕЛ: Целта на проучване бе да се изследва връзката между генотипните и фенотипните профили на антибиотична резистентност при 36 неповтарящи се инвазивни изолата *A. baumannii*, събрани в университетска болница в България в периода 2019–2024 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Идентификацията бе извършена чрез MALDI-TOF MS и PCR-методи с откриване на blaOXA-51-like и gyrB гени. Антимикробната чувствителност към десет антибиотика бе определена чрез методи на градиентна дифузия и бульонно микроразреждане. Подбрани гени за резистентност бяха открити чрез конвенционална PCR. Целогеномно секвениране бе извършено върху 16 представителни изолата с последващ резистомен анализ и MLST, които потвърдиха установените асоциации между генотипа и фенотипа на резистентност.

РЕЗУЛТАТИ: Карбапенемна резистентност бе установена при 94,4% от изолатите, медирана от blaOXA-23-like и blaOXA-72. Генът atmA, кодиращ високостепенна резистентност към аминогликозиди, бе открит изключително сред blaOXA-23-like-позитивните изолати и бе асоцииран и с повишени стойности на MIC за миноциклин ≥ 12 mg/L. При липса на atmA се установи значително понижение на MIC за гентамицин и тобрамицин, но не и за амикацин, а MIC за миноциклин се отчете в интермедиерния диапазон. Генът sul1 бе асоцииран с високостепенна резистентност към триметоприм/сулфаметоксазол. Въз основа на тези зависимости между гените и MIC бяха дефинирани седем генотипно-фенотипни профила. Резистомният анализът потвърди наблюдаваните взаимовръзки, а MLST класифицира изолатите като ST2 и ST636.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Демонстрирани бяха ясни връзки между изследваните гени за резистентност и стойностите на MIC. Получените генотипно-фенотипни профили могат да послужат като практичен инструмент за клиничен и епидемиологичен надзор.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *A. baumannii*, генотип на резистентност, фенотип на резистентност

GENOTYPIC AND PHENOTYPIC RESISTANCE PROFILES IN INVASIVE ISOLATES *A. BAUMANNII* FROM A TERTIARY HOSPITAL IN BULGARIA

T. Marinova-Balgaranova¹, P. Hristova¹, P. Marinovska¹, V. Nankov², S. Peykov^{3,4}, N. Balgaranov⁵, H. Hitkova¹

¹Medical University of Pleven, Faculty of Pharmacy, Department of Microbiology and Virology,
²Medical University of Pleven, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Histology,
Cytology and Biology, ³Medical University of Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical
Microbiology, ⁴Sofia University "St. Kliment Ohridski", Faculty of Biology, Department of
Genetics, ⁵Medical University of Pleven, Faculty of Medicine, Department of Children's
Diseases

AIM: This study aimed to investigate the relationship between genotypic and phenotypic antimicrobial resistance profiles among 36 non-duplicate invasive *A. baumannii* isolates collected at a university hospital in Bulgaria between 2019 and 2024.

MATERIALS AND METHODS: Identification was performed using MALDI-TOF MS and PCR-based detection of blaOXA-51-like and gyrB. Antimicrobial susceptibility testing to ten agents was performed by gradient diffusion and broth microdilution. Selected resistance genes were detected by conventional PCR. Whole-genome sequencing was performed on 16 representative isolates, followed by resistome analysis and MLST, which confirmed the observed associations between resistance genotype and phenotype.

RESULTS: Carbapenem resistance was detected in 94.4% of isolates and was mediated by blaOXA-23-like or blaOXA-72. The armA gene, encoding high-level aminoglycoside resistance, was found exclusively in blaOXA-23-like-positive isolates and was also associated with elevated minocycline MICs (≥ 12 mg/L). In the absence of armA, gentamicin and tobramycin MICs decreased markedly, whereas amikacin MICs remained unchanged and minocycline MICs fell within the intermediate range. The sul1 gene was associated with high-level trimethoprim/sulfamethoxazole resistance. Based on these gene–MIC associations, seven distinct genotypic–phenotypic profiles were defined. Resistome analysis confirmed the observed relationships, and MLST classified the isolates into sequence types ST2 and ST636.

CONCLUSION: Clear associations between the investigated resistance genes and MIC values were demonstrated. The resulting genotypic–phenotypic profiles may serve as a practical tool for clinical and epidemiological surveillance.

KEYWORDS: *A. baumannii*, resistance genotype, resistance phenotype

ОЦЕНКА НА РИСКА ОТ РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА *CLOSTRIDIODES DIFFICILE* ПРИ БЕЗСИМПТОМНИ ПЕДИАТРИЧНИ ПАЦИЕНТИ

В. Толчков¹, Р. Стоянова¹, Й. Калчев², В. Велев³, Ал. Калъчева⁴, Т. Томов⁵, А. Кръстева⁵, Й. Иванова⁵, Н. Габровска⁶, Н. Хан⁶, Й. Трифонов⁶, М. Попов⁷, М. Павлова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести, ²УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, Медицински университет-Пловдив, Катедра по микробиология, ³Медицински университет -София, Катедра по Епидемиология, ⁴ УМБАЛ Аджи бадем, Токуда, София, МДЛ Цибалаб, София, ⁵ УМБАЛПБ „Проф. Ив. Киров“, София, ⁶ МБАЛ „Вита“, София, ⁷ МБАЛ „Св. Ив. Рилски“, Дупница

ЦЕЛ: *Clostridioides (Clostridium) difficile* е водеща причина за инфекции, свързани със здравни грижи и е основа причина за антибиотик-свързана диария в световен мащаб. Според литературата до около 70% от здравите кърмачета са колонизирани от чревния патоген и могат да представляват резервоар за щамове, причиняващи инфекции при възрастни. Целта на това проучване е да се оцени разпространението на *C. difficile* сред българските кърмачета и да се оцени риска от разпространение на инфекция.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: От 4 болници в страната са събрани 592 фекални проби от деца до 3 годишна възраст и изследвани за носителство на *C.difficile* (210 хоспитализирани и 382 амбулаторни пациенти).

РЕЗУЛТАТИ: От всички 592 проби, 14% (84/592) бяха положителни за *C. difficile*, от които 4,8% (29/592) токсинни cdtA+/B+. Колонизирането с токсигенни щамове на *C. difficile* е най-често при бебета на възраст 1 - 18 месеца, като морфологията на фекалната проба е характерна за нормална фекална маса, без признаци за диария.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Разпространението на *C. difficile* сред здрави /без диария/ педиатрични пациенти (0–3 год.) носи минимален риск за разпространението на инфекцията сред обществото, поради-сравнително ниския си процент на разпространение и превалирането на нетоксигенни щамове, които биха могли да бъдат оценени като транзиторна микрофлора при липса на диаричен синдром. По проект КП-06-Н93/3 от 09/12/25 към ФНИ.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *C. difficile*, кърмачета, носителство.

ASYMPTOMATIC CARRIAGE OF TOXIGENIC *CLOSTRIDIODES DIFFICILE* STRAINS AMONG BULGARIAN PEDIATRIC PATIENTS

V. Tolchkov¹, R. Stoyanova¹, Y. Kalchev², V. Velev³, Al. Kalacheva⁴, T. Tomov⁵, A. Krasteva⁵, Y. Ivanova⁵, N. Gabrovska⁶, N. Khan⁶, Y. Trifonov⁶, M. Popov⁷, M. Pavlova¹

¹National Center for Infectious and Parasitic Diseases, ²St. George University Hospital, Plovdiv, Medical University of Plovdiv, ³Medical University of Sofia, Department of Epidemiology, ⁴AciBadem Tokuda University Hospital, Sofia, Cibalab Medical Laboratory, Sofia, ⁵“Prof. Iv. Kirov” University Hospital, Sofia, ⁶“Vita” General Hospital, Sofia, ⁷“St. Iv. Rilski” General Hospital, Dupnitsa

AIM: *Clostridioides (Clostridium) difficile* is a leading cause of healthcare-associated infections and the underlying cause of antibiotic-associated diarrhoea worldwide. As evidenced by extant literature, up to 70% of healthy infants are colonised by the intestinal pathogen *C. difficile*. The aim of this study is to assess the prevalence of *C. difficile* among Bulgarian infants and to evaluate the risk of infection transmission.

MATERIALS AND METHODS: A total of 592 stool samples were collected from children up to three years of age at four hospitals across the country and tested for *C. difficile* carriage (210 hospitalised and 382 outpatients).

RESULTS: Of all samples, 14% (84/592) were positive for *C. difficile*, of which 4.8% (29/592) were toxin-producing cdtA+/B+. Colonisation with toxigenic strains of *C. difficile* is most common in infants aged 1–18 months, with stool morphology characteristic of normal faeces/no diarrhoea.

CONCLUSION: The dissemination of *C. difficile* among healthy (non-diarrhoeal) paediatric patients poses a minimal risk of transmission to the general population, due to the relatively low prevalence of the infection and the predominance of non-toxigenic strains, which could be considered transient microflora in the absence of diarrhoea. Under Project KP-06-N93/3 dated 12/09/25, funded by the National Science Fund.

KEYWORDS: *C. difficile*, infants, carriage.

РЕШЕНИЯ, КОИТО ПРЕДЛАГА ИЗКУСТВЕНИЯ ИНТЕЛЕКТ, ЗА СТАНДАРТИЗИРАНЕ И ОПТИМИЗИРАНЕ НА ДЕЙНОСТИТЕ, СВЪРЗАНИ С ХИГИЕННИ ГРИЖИ ЗА ТЕЖКОБОЛНИ ПАЦИЕНТИ

М. Николова¹, Св. Йорданова¹, Г. Гетова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ВЪВЕДЕНИЕ: Поддържането на лична хигиена на пациентите, нуждаещи се от напълно компенсиращи здравни грижи, изцяло зависи от медицинския персонал и изисква извършване в леглото на частични и специални тоалети, къпане, измиване на глава и тяло. Правилното прилагане на избрания метод за хигиенна грижа и честота на изпълнение е необходима стъпка към предоставянето на качествени и безопасни здравни грижи. В началото на 2026 г., с публикуването на НАРЕДБА № Н-4, в нашата страна, влязоха в сила конкретни изисквания към извършването на качествени пациентски хигиенни грижи, без които самият пациент може да се превърне в източник и резервоар на болнични патогени. Целта на посочените мерки е определяне на отговорни лица, обучение и стандартизиране на процедурите в лечебните заведения, както и техния контрол от страна на РЗИ.

ЦЕЛ: Стандартизиране и оптимизиране на дейностите, свързани с хигиенните грижи за тежкоболни пациенти чрез решения, които предлагат изкуствения интелект.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Материали и методи: Изработен е промпт (инструкция) за търсене в реално време на информация за оптимизиране и систематизиране на дейностите, свързани с хигиенните грижи за тежкоболни пациенти. Използвани са различни модели изкуствен интелект - ChatGPT и Gemini.

РЕЗУЛТАТИ: Резултати: Решенията за оптимизиране на хигиенните грижи, генерирани от изкуствен интелект, включват стандартизирани протоколи за хигиенни грижи, необходимата документация, образователни материали, подходи за мотивация на персонала и препоръки за вътрешен контрол на тези дейности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Заключение: Изкуственият интелект има потенциала да предложи решения за стандартизиране на процедурите за хигиенни грижи на тежкоболни пациенти, включително обучението на персонала и като цяло подобряване качеството на здравните грижи в лечебните заведения.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: изкуствен интелект, хигиенни грижи, тежкоболни пациенти

ARTIFICIAL INTELLIGENCE SOLUTIONS FOR IMPROVING AND STANDARDIZING HYGIENE CARE FOR CRITICALLY ILL PATIENTS

M. Nikolova¹, S. Yordanova¹, G. Getova¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

BACKGROUND: Personal hygiene care for patients requiring fully compensatory nursing care depends entirely on healthcare personnel and includes partial and complete bed bathing, as well as hair and body washing. Appropriate selection and timely implementation of hygiene care procedures are essential for ensuring high-quality and safe patient care. Following the adoption of Ordinance No. H-4 in early 2026, specific requirements for the provision of quality patient hygiene care came into force in Bulgaria. Inadequate patient hygiene may contribute to colonization and increase the risk of transmission of healthcare-associated pathogens. The measures introduced by the ordinance aim to designate responsible personnel, provide staff training, standardize procedures in healthcare facilities, and ensure their monitoring by the Regional Health Inspectorates.

AIM: To improve and standardize hygiene care activities for critically ill patients through the application of artificial intelligence-based solutions.

MATERIALS AND METHODS: Materials and Methods: Structured prompts were developed to retrieve and analyze information in real time for the optimization and systematization of hygiene care activities for critically ill patients. Several generative artificial intelligence models, including ChatGPT and Gemini, were used.

RESULTS: Results: AI-generated solutions for improving hygiene care for critically ill patients included standardized hygiene care protocols, documentation templates, educational materials for healthcare personnel, strategies for staff motivation, and recommendations for internal quality control.

CONCLUSION: Conclusion: Artificial intelligence has the potential to support the standardization of hygiene care procedures for critically ill patients by facilitating staff training, improving documentation, and enhancing the overall quality of care in healthcare facilities.

KEYWORDS: artificial intelligence; hygiene care; critically ill patients

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ХРОНИЧЕН МАКСИЛАРЕН СИНУИТ С ГЪБИЧНА ЕТИОЛОГИЯ

Л. Боянова¹, Р. Вачева², З. Иванова¹, М. Цекова², П. Стефанова², В. Дичева²

¹Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, гр. София, ²УМБАЛ Царица
Йоанна, ИСУЛ

ЦЕЛ: Целта на настоящото изследване е да покаже нарастващия брой случаи на гъбични синусити през последните години, особено постоперативно и затова трябва да се вземат предвид, най-вече при имунокомпрометирани пациенти, поради възможността за инвазия на гъбичките и последващи тежки усложнения и висока смъртност.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Нашият клиничен случай е свързан с 50-годишен пациент, който постъпва в Клиника по УНГ в края на 2025г по повод стичане на миризлив секрет от носа. След образно и хистологично изследване се поставя диагноза хроничен максиларен синусит с последващо оперативно лечение. Постоперативно се прави микробиологично изследване на синусов аспират, от който се изолира плесенна гъбичка.

РЕЗУЛТАТИ: Изолира се *Aspergillus flavus*, която се идентифицира микроскопски и апаратно с MALDI TOFF. Направена е антимикограма с помощта на E-test към следните антимикотици: Voriconazole, Itraconazole, Anidulafungin, Miconazole, Posaconazole

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Етиологията на гъбичният синусит не е добре проучена. През последните години се съобщават все повече случаи, вероятно поради нарастващата употреба на имunosупресори, антибиотици, хронични заболявания, които подтискат имунната система. Ето защо е необходимо да се обърне внимание на периперативната и постоперативната антимикотична профилактика срещу причинителите на гъбични синусити, предвид повсеместното им разпространение.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: гъбичен синусит, *Aspergillus flavus*, антимикотици

CLINICAL CASE OF CHRONIC MAXILLARY SINUSITIS WITH FUNGAL ETIOLOGY

L. Boyanova¹, R. Vacheva², Z. Ivanova¹, M. Tsekova², P. Stefanova², V. Dicheva²

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, ²Queen Joanna Hospital, ISUL

AIM: The aim of the present study is to show the increasing number of cases of fungal sinusitis in recent years, especially postoperatively, and therefore they should be taken into account, especially in immunocompromised patients, due to the possibility of fungal invasion and subsequent severe complications and high mortality.

MATERIALS AND METHODS: Our clinical case is related to a 50-year-old patient who was admitted to the Otorhinolaryngology clinic at the end of 2025 due to a runny nose. After imaging and histological examination, a diagnosis of chronic maxillary sinusitis was made with subsequent surgical treatment. Postoperatively, a microbiological examination of a sinus aspirate was performed, from which a mold fungus was isolated.

RESULTS: *Aspergillus flavus* was isolated, which was identified microscopically and instrumentally with MALDI TOFF. An antimycogram was made using the E-test to the following antifungals: Voriconazole, Itraconazole, Anidulafungin, Miconazole, Posaconazole

CONCLUSION: The etiology of fungal sinusitis is not well understood. In recent years, more and more cases have been reported, probably due to the increasing use of immunosuppressants, antibiotics, and chronic diseases that suppress the immune system. Therefore, it is necessary to pay attention to peri- and postoperative antifungal prophylaxis against the causative agents of fungal sinusitis, given their widespread distribution.

KEYWORDS: fungal sinusitis, *Aspergillus flavus*, antifungals

СЕСИЯ IX – РАЗНИ

АНАЛИЗ НА СЪСТОЯНИЕТО НА ПАРАЗИТНАТА ЗАБОЛЯЕМОСТ В БЪЛГАРИЯ

*Р. Харизанов¹, Н. Цветкова¹, Р. Борисова¹, Е. Кънева¹, М. Виденова¹, А. Иванова¹, В.
Якимова¹, З. Трайкова¹, О. Миков¹*

*¹Национален център по заразни и паразитни болести, Отдел „Паразитология и
тропическа медицина, София, България*

ЦЕЛ: Цел на настоящото проучване е да се извърши анализ на разпространението на заболяванията с паразитна етиология в страната и да се установи ефективността на съществуващите мерки за надзор и контрол на тази патология.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: За целта на анализа са определени епидемиологичните показатели: заболяемост на 100 000 население за нозологичните единици, които протичат с клинична симптоматика и превалентност (относителен дял на опаразитените от общия брой изследвани) в проценти, за паразитните инфекции, които протичат в повечето случаи асимптомно.

РЕЗУЛТАТИ: За периода януари-декември 2025 г. с паразитологични изследвания е обхванат контингент от 641 034 лица, като при 15614 (2.44%) са диагностицирани различни видове протозои и хелминти. С най-голямо медико-социално значение са зоонозите ехинококоза и трихинелоза. Годишната заболяемост от ехинококоза за страната е 1.77‰, а от трихинелоза 0.19‰. При геохелминтозите с местно разпространение се установява тенденция към намаляване на броя на регистрираните случаи, както на аскаридоза (374 за 2025, при 497 за 2024 г.), така и на трихоцефалоза (61 случая за 2025, при 106 за 2024 г.). При ентеробиозата се установява лек спад в превалентността, както общо за страната (1.92%), така и в организирани детски колективи (1.43%). През 2025 г. се установи значително нарастване на случаите на висцерална лайшманиоза на територията на страната. Съобщени са общо 22 случая в следните области: Благоевград – 1, Пазарджик – 2, Кърджали – 1, Пловдив – 8, Стара Загора – 5 и Хасково – 5. Четири от случаите са с летален изход. През 2025 г. са регистрирани 7 случая на внесена малария, всички са с причинител *P. falciparum*, като 3 от заболяелите са български граждани и 4 са чужденци. В един от случаите (български гражданин) заболяването е с летален изход.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Структурата на паразитната патология с местно разпространение не е претърпяла промени, въпреки тенденцията за увеличаване на миграционния натиск към страната на човешки потоци от високо ендемични за паразитни заболявания региони. Това е показател че системата за обществено здраве реагира адекватно и дейностите по надзор и контрол на паразитните заболявания при хората в страната са добре регламентирани, но съществуват и някои проблеми, но които би трябвало да се обърне внимание.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: паразитни болести, заболяемост, превалентност

БЛАГОДАРНОСТИ: Настоящото изследване е финансирано от Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“ по процедура „Устойчиво развитие на Центрове за върхови постижения и Центрове за компетентност“, проект BG16RFPR002-1.014-0017-C01.

THE STATUS OF PARASITIC INFECTIONS IN BULGARIA: AN ANNUAL ANALYSIS FOR 2025

*R. Harizanov¹, N. Tsvetkova¹, R. Borisova¹, E. Kaneva¹, M. Videnova¹, A. Ivanova¹, V.
Yakimova¹, Z. Traykova¹, O. Mikov¹*

*¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Department of Parasitology and Tropical
Medicine, Sofia, Bulgaria*

AIM: This study aims to analyse the prevalence of parasitic infections in the country and establish the effectiveness of existing surveillance and control measures.

MATERIALS AND METHODS: For the purposes of the analysis, the following epidemiological indicators were determined: (i) Incidence per 100,000 people for nosological units that manifest with clinical symptoms, and (ii) Prevalence (the proportion of infected individuals out of the total number of individuals examined) expressed as a percentage for parasitic infections, which most often occur asymptotically.

RESULTS: Between January and December 2025, 641,034 people underwent parasitological examinations, of whom 15,614 (2.44%) were diagnosed with various types of protozoa and helminths. The zoonoses echinococcosis and trichinosis are of the greatest medical and social importance. The annual incidence rates in the country are 1.77 per 100,000 for echinococcosis and 0.19 per 100,000 for trichinosis. In soil-transmitted helminthiasis with local distribution, there was a downward trend in the number of registered cases of ascariasis (374 in 2025 compared to 497 in 2024) and trichuriasis (61 cases in 2025 compared to 106 in 2024). There was a slight decrease in the prevalence of enterobiasis, both in the country as a whole (1.92%) and in organised children's groups (1.43%). A significant increase in cases of visceral leishmaniasis was observed in the country in 2025. A total of 22 cases were reported in the following districts: Blagoevgrad (1), Pazardzhik (2), Kardzhali (1), Plovdiv (8), Stara Zagora (5) and Haskovo (5). Four of the cases were fatal. In 2025, seven cases of imported malaria were recorded, all caused by *P. falciparum*. Three of the patients were Bulgarian citizens and four were foreigners. In one of the cases (a Bulgarian citizen), the disease proved fatal.

CONCLUSION: Despite the increasing migratory pressure of human flows from regions highly endemic for parasitic infections, the structure of parasitic pathology with local distribution has not changed. This indicates that the public health system is responding adequately, and that activities for the surveillance and control of parasitic diseases in humans in the country are well regulated. However, there are also some issues that need to be addressed.

KEYWORDS: parasitic infections, incidence, prevalence

ACKNOWLEDGEMENTS: This study was funded by the Research, Innovation and Digitalization for Smart Transformation Program under the procedure "Sustainable Development of Centers of Excellence and Centers of Competence", project BG16RFPR002-1.014-0017-C01.

ШЕСТГОДИШНО РЕТРОСПЕКТИВНО ПРОУЧВАНЕ НА ВИРУСНА ДЕТЕКЦИЯ В ЛИКВОР В БЪЛГАРИЯ, 2020–2025 Г.

Г. Стойнева¹, И. Христова¹, М. Савова-Христова¹, С. Крумова¹, И. Трифонова¹, Н.
Корсун, И. Георгиева¹, П. Генова-Калу¹, Ж. Гецова¹, Р. Стефанова¹, Л. Велева¹, А.
Минкова¹, П. Великов¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Да се опише спектърът, честотата и клиничната диагноза при детекция на вирус в ликворни проби, изпратени за вирусологично изследване до Отдел по вирусология към Националния център по заразни и паразитни болести в България през периода 2020- 2025 г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Проведено е ретроспективно наблюдателно проучване на ликворни проби от хоспитализирани пациенти, изпратени по преценка на лекуващия лекар за вирусологично изследване в периода 2020-2025 г. В анализа са включени 1 292 проби от болнични лечебни заведения в 21 града в България. Основната разгледана променлива е наличие на поне един вирусен патоген. Положителността е изчислявана поотделно за всеки вирус като брой положителни проби спрямо броя изследвани за съответния вирус. Оценени са година на вземане на пробата, възраст, пол, сезон, регион и насочваща диагноза. Диагнозите са групирани в синдромни категории. За оценка на факторите, свързани с вирусна положителност, е използвана наказателствана логистична регресия на Фърт (Firth penalized logistic regression) в групата от пациенти с енцефалит, енцефалопатия, менингит и менингоенцефалит.

РЕЗУЛТАТИ: От общо 1 292 ликворни проби 100 са положителни за поне един вирусен патоген, което съответства на обща положителност 7,7%. Най-често установяваният вирус е HSV-1 - 41 положителни резултата сред 1087 изследвани проби. Следват HSV-2 - 17/1049, VZV - 15/470, EBV - 14/693, ентеровирус - 7/341, CMV - 3/667 и HHV-6 - 3/34. Морбилен вирус е установен при 4/22 изследвани проби, докато рубеолен вирус не е установен при 8 изследвани проби. Сред 108 проби, изследвани с респираторен вирусен панел, са открити по един положителен резултат за SARS-CoV-2 и Borna disease virus; не са установени положителни резултати за грипни и парагрипни вируси. Положителността варира по години, като е най-висока през 2023 и 2024 г. и най-ниска през 2021 и 2022 г., без ясна линейна тенденция. Не се установява значима сезонност. Положителността е най-висока при пациенти с енцефалит - 48/383. В логистична регресионна кохорта са включени 874 проби, от които 76 положителни. Мъжкият пол е свързан с по-ниски шансове за вирусна детекция спрямо женския пол (adjusted OR 0,52; 95% CI 0,32–0,85; p = 0,0085). Диагнозата също е независим предиктор за положителност, като енцефалопатията е свързана със значително по-ниска вероятност за вирусна детекция спрямо енцефалит (aOR 0,31; 95% CI 0,16–0,60; p = 0,0006). Възрастта, годината и сезонът не са независими предиктори в модела.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: В шестгодишно ретроспективно проучване на ликворни проби в България общата вирусна положителност е ниска - 7,7%. HSV-1 е водещият открит вирусен патоген, а енцефалитът е най-често срещаният клиничен синдром. Проучването подчертава значението на синдромно ориентираното вирусологично изследване на ликвор и необходимостта от интерпретация на резултатите според клиничната насоченост и различните вирус-специфични знаменатели.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: вирусни инфекции на ЦНС; енцефалит; България

SIX-YEAR RETROSPECTIVE STUDY OF VIRAL PATHOGEN DETECTION IN CEREBROSPINAL FLUID IN BULGARIA, 2020–2025

G. Stoyneva¹, I. Christova¹, M. Savova-Hristova¹, S. Krumova¹, I. Trifonova¹, N. Korsun¹, I. Georgieva¹, P. Genova-Kalou¹, Zh. Getsova¹, R. Stefanova¹, L. Veleva¹, A. Minkova¹, P. Velikov¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases

AIM: To describe the spectrum, frequency, and clinical diagnosis associated with viral detection in cerebrospinal fluid samples submitted for virological testing to the Department of Virology at the National Centre of Infectious and Parasitic Diseases in Bulgaria during 2020–2025.

MATERIALS AND METHODS: A retrospective observational study was conducted on cerebrospinal fluid samples from hospitalized patients submitted for virological testing at the discretion of the treating physician between 2020 and 2025. The analysis included 1,292 samples from hospital healthcare facilities in 21 cities in Bulgaria. The primary variable examined was the presence of at least one viral pathogen. Positivity was calculated separately for each virus as the number of positive samples divided by the number of samples tested for that specific virus. Year of sampling, age, sex, season, region, and referral diagnosis were assessed. Diagnoses were grouped into syndromic categories. Factors associated with viral positivity were evaluated using Firth penalized logistic regression in the group of patients with encephalitis, encephalopathy, meningitis, and meningoencephalitis.

RESULTS: Among 1,292 cerebrospinal fluid samples, 100 were positive for at least one viral pathogen, corresponding to an overall positivity rate of 7.7%. The most frequently detected virus was HSV-1, with 41 positive results among 1087 tested samples. This was followed by HSV-2, 17/1,049; VZV, 15/470; EBV, 14/693; enterovirus, 7/341; CMV, 3/667; and HHV-6, 3/34. Measles virus was detected in 4/22 tested samples, while rubella virus was not detected among 8 tested samples. Among 108 samples tested using a respiratory virus panel, one positive result each was detected for SARS-CoV-2 and Bokavirus; no positive results were detected for influenza or parainfluenza viruses. Positivity varied by year, being highest in 2023 and 2024 and lowest in 2021 and 2022, without a clear linear trend. No significant seasonality was observed. Positivity was highest among patients with encephalitis, at 48/383. The restricted logistic regression cohort included 874 samples, of which 76 were positive. Male sex was associated with lower odds of viral detection compared with female sex (adjusted OR 0.52; 95% CI 0.32-0.85; $p = 0.0085$). Diagnosis was also an independent predictor of positivity, with encephalopathy associated with a significantly lower likelihood of viral detection compared with encephalitis (aOR 0.31; 95% CI 0.16-0.60; $p = 0.0006$). Age, year, and season were not independent predictors in the model.

CONCLUSION: In this six-year retrospective study of cerebrospinal fluid samples in Bulgaria, overall viral positivity was low, at 7.7%. HSV-1 was the leading detected viral pathogen, and encephalitis was the most common clinical syndrome. The study highlights the importance of syndrome-oriented virological testing of cerebrospinal fluid and the need to interpret results according to clinical indication and virus-specific denominators.

KEYWORDS: cerebrospinal fluid; CNS viral infections; HSV-1; encephalitis; Bulgaria

ВИДОВО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА BRUCELLA SPP. С ИЗПОЛЗВАНЕ НА ЦЕЛОГЕНОМНО СЕКВЕНИРАНЕ И БИОИНФОРМАТИЧЕН АНАЛИЗ.

В. Толчков^{1,2}, Х. Монеv^{1,2}, Й. Добринова^{1,2}, И. Томова^{1,2}, Б. Цафарова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести, София, България, ²Център за компетентност Имунопатоген, бул. Янко Сакъзов 26, София, България
Кореспонденция tolchkov@gmail.com

ЦЕЛ: Да се оцени опростен подход за видова идентификация на Brucella spp. чрез целогеномно секвениране и свободно достъпни биоинформатични инструменти.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Анализирани са 30 целогеномно секвенирани щамa от род Brucella, предоставени от ECDC. Суровите FASTQ данни (Illumina HiSeq) са асемблирани de novo с Unicycler в среда Galaxy (usegalaxy.eu). Получените draft геноми са анализирани чрез BLASTn на най-дългия контиг (>200 bp), като видовата идентификация е базирана на стойности за identity и coverage спрямо референтни бази данни. Разграничението е ограничено до B. abortus, B. suis и B. melitensis.

РЕЗУЛТАТИ: Коректна видова идентификация е постигната при 29 от 30 изолата (96.7%). Наблюдавана е една грешка при разграничаването между B. suis и B. melitensis.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

КЛЮЧОВИ ДУМИ: целогеномно секвениране, биоинформатика, видова идентификация

SPECIES IDENTIFICATION OF BRUCELLA SPP. USING WHOLE-GENOME SEQUENCING AND BIOINFORMATIC ANALYSIS

V. Tolchkov^{1,2}, H. Monev^{1,2}, Y. Dobrinova^{1,2}, I. Tomova^{1,2}, B. Tsafarova¹

¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria, ²Centre of Competence ImmunoPathogen, 26 Yanko Sakazov Blvd., Sofia, Bulgaria
Correspondence: tolchkov@gmail.com

AIM: To evaluate a simplified approach for species-level identification of Brucella spp. using whole-genome sequencing and freely available bioinformatic tools.

MATERIALS AND METHODS: Thirty whole-genome sequenced Brucella strains provided by ECDC were analysed. Raw FASTQ data (Illumina HiSeq) were de novo assembled using Unicycler within the Galaxy platform (usegalaxy.eu). The resulting draft genomes were analysed using BLASTn of the longest contig (>200 bp). Species identification was based on sequence identity and coverage against reference databases. The analysis was limited to B. abortus, B. suis, and B. melitensis.

RESULTS: Correct species identification was achieved for 29 of 30 isolates (96.7%). One misclassification was observed between B. suis and B. melitensis.

CONCLUSION: The proposed workflow represents a rapid and easily applicable approach for preliminary species identification of Brucella spp., demonstrating high accuracy and potential suitability for routine laboratory use.

KEYWORDS: whole-genome sequencing, bioinformatics, species identification

АНАЛИЗ НА ЗАБОЛЯЕМОСТТА ОТ КОНТАКТНИ ПАРАЗИТОЗИ В БЪЛГАРИЯ, 2021–2025 Г.

З. Трайкова¹, Н. Цветкова¹, Р. Харизанов¹, А. Иванова¹, В. Якимова¹, М. Виденова¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Да се анализират епидемиологичните тенденции при ентеробиоза, гиардиаза и хименолепидоза в България през периода 2021–2025г.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Данните са получени от годишни отчети. Екстензитетът при ентеробиоза и заболяемостта при гиардиаза и хименолепидоза са изчислени по стандартни епидемиологични формули. Приложени са дескриптивна статистика, U-тест на Ман–Уитни и тест на Крускал–Уолис, като $p < 0,05$ е прието за статистически значимо.

РЕЗУЛТАТИ: Екстензитетът на ентеробиозата в общата популация нараства постепенно от 1,50% през 2021 г. до 1,92% през 2025 г. При деца екстензитетът е по-висок в по-ранните години, но през последните две години намалява и спада под нивото в общата популация. Най-високият среден екстензитет за периода е отчетен във Видин (7,62%). Заболяемостта от гиардиаза нараства от 9,1 на 100 000 през 2021 г. до 12,1 през 2024 г., след което намалява до 7,98 през 2025 г., като най-висока средна заболяемост е регистрирана в Ямбол (81,16 на 100 000). Случаите са концентрирани при деца и юноши на възраст 0–19 години (78,1%), със статистически значима разлика. Статистически значима разлика по пол не е установена. Заболяемостта от хименолепидоза варира от 1,21 до 1,79 на 100 000, достига пик през 2024 г. и е регистрирана основно във възрастовата група 0–19 години (97,15%) и при мъжете, със статистически значими разлики. Най-високата средна заболяемост е в Ямбол (38,39). Това изследване е подкрепено от Министерство на образованието и науката по Националната програма „Млади учени и постдокторанти – 2“.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Тези инвазии остават концентрирани сред децата и в отделни райони с висока заболяемост. Засилването на надзора, здравното обучение и достъпа до лечение е от съществено значение.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Ключови думи: ентеробиоза, гиардиаза, хименолепидоза

INCIDENCE ANALYSIS OF COMMUNITY-ACQUIRED PARASITIC INFECTIONS IN BULGARIA, 2021–2025

Z. Traykova¹, N. Tsvetkova¹, R. Harizanov¹, A. Ivanova¹, V. Yakimova¹, M. Videnova¹

¹National Centre for Infectious and Parasitic Diseases

AIM: To analyze the epidemiological trends of enterobiasis, giardiasis, and hymenolepiasis in Bulgaria during 2021–2025.

MATERIALS AND METHODS: Data were obtained from annual surveillance reports. Enterobiasis prevalence and giardiasis and hymenolepiasis incidence were calculated using standard epidemiological formulas. Descriptive statistics, the Mann–Whitney U test, and the Kruskal–Wallis test were applied, with $p < 0.05$ considered significant.

RESULTS: Enterobiasis prevalence in the general population increased gradually from 1.50% in 2021 to 1.92% in 2025. In children, prevalence was higher earlier than in the general population, but in the last two years it declined and fell below the general population level. The highest mean prevalence for the period was recorded in Vidin (7.62%). Giardiasis incidence increased from 9.1 per 100,000 in 2021 to 12.1 in 2024, followed by a decline to 7.98 in 2025, with the highest mean incidence recorded in Yambol (81.16 per 100,000). Cases were concentrated in children and adolescents aged 0–19 years (78.1%), with a statistically significant age difference. Sex difference was not significant.

Hymenolepiasis incidence ranged from 1.21 to 1.79, peaked in 2024, and was mainly detected in the 0–19-year group (97.15%) and in males, with statistically significant age and sex differences. The highest mean incidence was also in Yambol (38.39).

This research is supported by the Bulgarian Ministry of Education and Science under the National Program „Young Scientists and Postdoctoral Students - 2“.

CONCLUSION: Conclusion: These infections remain concentrated in children and in specific high-incidence districts. Strengthening surveillance, hygiene education, and access to treatment is essential.

KEYWORDS: Keywords: enterobiasis, giardiasis, hymenolepiasis

КОГАТО ПРОБАТА СЕ ПРЕВЪРНЕ В ДАННИ: РИСКОВЕ ЗА КИБЕРБИОСИГУРНОСТТА ПРИ МИКРОБНАТА ГЕНОМИКА

К. Нзок¹

¹Национален център по заразни и паразитни болести

ЦЕЛ: Да се представят основните рискове за кибербиосигурността, свързани с нарастващата дигитализация на микробиологичните лаборатории и използването на геномно секвениране, биоинформатични инструменти и свързани информационни системи.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Извършен е преглед на научни публикации и документиран примери, свързани с кибербиосигурността при микробната геномика. Подбрани са примери, илюстриращи рискове за поверителността, цялостта и наличността на геномните данни, аналитичните резултати и лабораторните услуги.

РЕЗУЛТАТИ: Рисковете за поверителността включват непреднамерено разкриване на информация, която не е основна цел на изследването. Проучванията показват, че остатъчни човешки прочити в метагеномни данни могат да позволят извличане на индивидуална генетична информация, а при мултиплексирано секвениране малък брой прочити могат да преминат между проби.

Рисковете за цялостта могат да възникнат например при биоинформатичната обработка или свързването със съпътстващите метаданни. Прилагането на различни аналитични пайплайни върху едни и същи сурови секвенционни данни може да доведе до различия в идентифицираните варианти, а непоследователни или неточни метаданни могат да ограничат надеждната интерпретация и проследимост на резултатите. Експериментални проучвания показват и възможността специално проектирана ДНК последователност след секвениране и последваща обработка да взаимодейства с уязвим софтуер по неочакван начин.

Рисковете за наличността са свързани със зависимостта на съвременните лаборатории от информационните системи. Документиран киберинцидент в здравни организации показват, че прекъсването на дигитални услуги може да затрудни или временно да преустанови лабораторни и клинични дейности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Дигитализацията и увеличаващият се обем на геномните данни разширяват възможностите на съвременната микробиология, но създават и нови рискове, които трябва да бъдат разпознавани и управлявани. Познаването на възможните рискове, спазването на предпазни мерки и предварителната подготовка за реакция при инциденти допринасят за защитата на данните, лабораторните услуги и свързаните с тях пациенти и организации.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Геномни данни; Управление на данни; Киберсигурност

WHEN THE SAMPLE BECOMES DATA: CYBERBIOSECURITY RISKS IN MICROBIAL GENOMICS

K. Ngoc¹

¹*National centre of infectious and parasitic diseases*

AIM: To present the main cyberbiosecurity risks associated with the increasing digitalisation of microbiology laboratories and the use of genomic sequencing, bioinformatics tools and connected information systems.

MATERIALS AND METHODS: A review was conducted of scientific publications and documented examples related to cyberbiosecurity in microbial genomics. Examples were selected to illustrate risks affecting the confidentiality, integrity and availability of genomic data, analytical outputs and laboratory services.

RESULTS: Risks to confidentiality include the unintended disclosure of information beyond the primary purpose of an investigation. Published studies have demonstrated that residual human reads in metagenomic datasets may permit the recovery of individual genetic information, while multiplexed sequencing can result cross-sample read leakage.

Risks to integrity may arise, for example, during bioinformatic processing and through the management of associated metadata. Applying different analytical pipelines to the same raw sequencing data may produce differences in detected variants, while inconsistent or inaccurate metadata may impair reliable interpretation and traceability. Experimental work has also demonstrated that a deliberately designed DNA sequence, following sequencing and subsequent processing, can interact with vulnerable software in unexpected ways.

Risks to availability reflect the dependence of modern laboratories on information systems. Documented cyber incidents affecting healthcare organisations show that disruption of digital services can impair or temporarily interrupt laboratory and clinical activities.

CONCLUSION: Digitalisation and the increasing volume of genomic data expand the capabilities of modern microbiology, but they also introduce new risks that need to be recognised and managed. Understanding potential risks, following appropriate safeguards and preparing in advance for incident response contribute to protecting data, laboratory services and the patients and organisations that depend on them.

KEYWORDS: Genomic data; Data governance; Cybersecurity

ДОКАЗВАНЕ НА ПАРВОВИРУС В19 (В19V) ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪМНИТЕЛНИ ЗА МОРБИЛИ В БЪЛГАРИЯ

Р. Стефанова¹, Л. Велева¹, Ив. Трифонова², Ст. Крумова¹

¹*Национална референтна лаборатория „Морбили, паротит, рубеола“, Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София, България,* ²*Национална референтна лаборатория „Грип и ОРЗ“, Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), София, България*

ЦЕЛ: Да се оцени честотата на лабораторно доказана инфекция с В19V сред лица, насочени за лабораторно изследване като съмнителни случаи на морбили, и да се подчертае значението на диференциалната лабораторна диагностика при обривните заболявания.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Анализиране на 56 клинични проби (28 серума и 28 носогърлени секрета) от 28 пациенти (деца на възраст от 2 до 16 год.), отговарящи на дефиницията за съмнителен случай на морбили, постъпили за лабораторно изследване в НРЛ Морбили, паротит, рубеола, НЦЗПБ, през 2024-2025 г.

Използване на серологични (ELISA IgM/IgG) и молекулярно биологични (real time PCR) методи за потвърждаване/отхвърляне на вирусна инфекция. Провеждане на NGS, чрез Viral Surveillance Panel v2 Kit, за едновременно изолиране на геномите на вируси, участващи в ко-инфекции. Изследването е проведено с финансовата подкрепа на Проект №: BG16RFPR002-1.014-0017 „Център за компетентност „Фундаментални, транслиращи и клинични изследвания в областта на инфекциите и инфекциозната имунология“, финансиран по Програма "Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация 2021-2027"

РЕЗУЛТАТИ: При 5/28 (18%) от пациентите с отрицателни резултати за морбили е установена остра инфекция с парвовирус В19 (ELISA IgM/IgG и В19V-ДНК). Потвърдените са деца на възраст от 2 до 9 години от София и Бургас, заболели пред 2024 г. При едно дете на 2 год. е доказана чрез real time PCR едновременно инфекция с В19V и морбили. Проведеното NGS потвърждава D8 морбилен генотип и 1a В19V генотип.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Лабораторното изследване за В19V при пациенти със съмнение за морбили е важен елемент от диференциалната диагностика на обривните заболявания. Включването на този подход повишава качеството на лабораторното потвърждаване, подпомага правилната интерпретация на епидемиологичните данни, допринася за поддържането на надежден надзор на морбили в условията на елиминация, както и за откриването на възможни коинфекции.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: В19V, морбили, NGS

DETECTION OF PARVOVIRUS B19 (B19V) IN PATIENTS SUSPECTED FOR MEASLES IN BULGARIA

R. Stefanova¹, L. Veleva¹, Iv. Trifonova², St. Krumova¹

¹National Reference Laboratory "Measles, Mumps, Rubella", National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, Bulgaria, ²National Reference Laboratory "Influenza and ARI", National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Sofia, Bulgaria

AIM: To assess the frequency of laboratory-proven B19V infection among individuals referred for laboratory testing as suspected measles cases, and to emphasize the importance of differential laboratory diagnosis in fever rash diseases.

MATERIALS AND METHODS: Analysis of 56 clinical samples (28 serum and 28 nasal swabs) from 28 patients (children aged 2 to 16 years), meeting the definition of a suspected measles case, submitted for laboratory testing at the National Reference Laboratory "Measles, Mumps, Rubella", NCIPD in 2024-2025. Serological (ELISA IgM/IgG) and molecular biological (real-time PCR) methods to confirm/reject viral infection were used. NGS using the Viral Surveillance Panel v2 Kit for simultaneous isolation of the genomes of viruses involved in co-infections was conducted. The study was conducted with the financial support of Project No BG16RFPR002-1.014-0017 "CENTER OF COMPETENCE "FUNDAMENTAL, TRANSLATIONAL AND CLINICAL INVESTIGATIONS ON INFECTIONS AND IMMUNITY ", funded by "Scientific Research, Innovation, and Digitalization for Intelligent Transformation 2021-2027" Programme

RESULTS: In 5/28 (18%) of the patients with negative results for measles, acute infection with B19V was established (ELISA IgM/IgG and B19V-DNA). The confirmed cases were children aged 2 to 9 years from Sofia and Burgas, who were ill in 2024. In one 2-year-old child, simultaneous infection with B19V and measles was proven by real-time PCR. The conducted NGS confirms D8 measles genotype and 1a B19V genotype.

CONCLUSION: Laboratory testing for B19V in patients with suspected measles is an important element of the differential diagnosis of rash diseases. The inclusion of this approach increases the quality of laboratory confirmation, supports the correct interpretation of epidemiological data, contributes to the maintenance of reliable measles surveillance in the context of elimination, as well as the detection of possible coinfections.

KEYWORDS: B19V, measles, NGS

ХАПЛОТИПНО И НУКЛЕОТИДНО РАЗНООБРАЗИЕ НА ПАРАЗИТА *E. VERMICULARIS* (ТИП В) И РОЛЯТА НА МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ ЗА КОНТРОЛА НА ЕНТЕРОБИОЗАТА В БЪЛГАРИЯ

Е. Кънева¹, Р. Димитрова¹, Н. Цветкова¹, Р. Харизанов¹, И. Алексиев¹

¹Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, гр. София

ЦЕЛ: Цел на проучването е да се извърши първата молекулярна и филогенетична характеристика на този широко разпространен чревен патоген в проби от инвазирани пациенти и анализ на генетичното разнообразие и доминиращите хаплотипни варианти на паразита, разпространени в нашата страна.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: За периода 2022 – 2025 година са събрани 128 перианални отпечатъци от опаразитени лица от 17 региона на страната (52% от женски пол, 48% от мъжки, преобладаващо деца – 92%). Извършена е молекулярна идентификация чрез nested PCR, насочен към 379 бд фрагмент от гена, кодиращ субеденица 1 на митохондриалната цитохром с оксидаза (*cox1*), последвана от секвениране по Sanger. Филогенетичните връзки са анализирани с помощта на метода за максимална вероятност (IQ-TREE), а популационните генетични индекси са изчислени с помощта на DnaSP v6.

РЕЗУЛТАТИ: Приложеният анализ на генетичното разнообразие и структурата на популацията показва забележителен консерватизъм на последователността (само 4,5% полиморфизъм). Хаплотипният анализ идентифицира 11 различни хаплотипа в рамките на генотип В на *E. vermicularis*, с общо хаплотипно разнообразие (*Hd*) от 0.1507 ± 0.0416 , значително по-ниско от докладваното в други географски региони. Наблюдава се преобладаване на един хаплотип (Нар_1), който е разпространен в 92,2% от пациентите във всички избрани региони на страната. Другите 10 хаплотипа (Нар_2 - Нар_11) са единични, всеки представен от една последователност (0,78%), които също не показват географско групиране. Установеното нуклеотидно разнообразие е също ниско ($\pi = 0.00082 \pm 0.00015$), което допълнително потвърждава ограничената генетична вариация. Приложеният D-тест на Таджима е със значително отрицателна стойност ($-2.314, < 0.05$), което доказва отклонение от неутралната еволюция.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Интегрирането на популационно-генетични, филогеографски и молекулярно-еволюционни данни очертава съгласуваната картина на разпространението на *E. vermicularis* в България като хаплотипове, произлизащи от множество географски източници, но показващи ограничена последваща диверсификация. Тези данни предоставят основа за разработването на контролни мерки на базата на научни доказателства и подчертават голямото значение на извършването на молекулярно наблюдение. Благодарности: Проучването е финансирано от ФНИ (проект № КР-06-Н53/4/11.11.2021), и от Проект № BG16RFPR002-1.014-0017-C01 по процедура „Устойчиво развитие на Центрове за върхови постижения и Центрове за компетентност“, финансирана по Програма „Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация“.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Enterobius vermicularis*, *cox1* ген, молекулярна епидемиология.

THE HAPLOTYPE AND NUCLEOTIDE DIVERSITY OF THE PARASITE *E. VERMICULARIS* (TYPE B), AND THE ROLE OF MOLECULAR BIOLOGICAL STUDIES IN CONTROLLING ENTEROBIASIS IN BULGARIA

E. Kaneva¹, R. Dimitrova¹, N. Tsvetkova¹, R. Harizanov¹, I. Aleksiev¹

¹National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

AIM: The study aims to perform molecular and phylogenetic characterisation of this widespread intestinal pathogen in samples from infected patients for the first time in the country, as well as analysing the genetic diversity and dominant haplotype variants of the parasite distributed in Bulgaria.

MATERIALS AND METHODS: Between 2022 and 2025, 128 perianal prints were collected from infected individuals in 17 regions of the country. Of these individuals, 52% were female and 48% were male, with the majority being children (92%). Molecular identification was performed using nested PCR to target a 379 bp fragment of the subunit 1 gene of mitochondrial cytochrome c oxidase (cox1), followed by Sanger sequencing. Phylogenetic relationships were analysed using the maximum likelihood method (IQ-TREE) and population genetic indices were calculated using DnaSP v6.

RESULTS: Analysis of genetic diversity and population structure revealed remarkable sequence conservatism, with only 4.5% polymorphism observed. Haplotype analysis identified 11 different haplotypes within genotype B of *E. vermicularis*, with total haplotype diversity (Hd) of 0.1507 ± 0.0416 . This is significantly lower than that reported in other geographical regions. One haplotype (Hap_1) was predominant, being present in 92.2% of patients in all selected regions of the country. The other ten haplotypes (Hap_2–Hap_11) were each represented by a single sequence (0.78%) and showed no geographical clustering. The low nucleotide diversity detected ($\pi = 0.00082 \pm 0.00015$) further confirms the limited genetic variation. The Tajima D-test yielded a significantly negative value of -2.314 (<0.05), proving a deviation from neutral evolution.

CONCLUSION: The integration of population-genetic, phylogeographic and molecular-evolutionary data outlines a coherent picture of the distribution of *E. vermicularis* in Bulgaria as haplotypes originating from multiple geographic sources, but showing limited subsequent diversification. These data provide a basis for developing evidence-based control measures and emphasise the importance of conducting molecular surveillance.

Acknowledgements: This research was funded by: Bulgarian National Science Fund, Research Grant KP-06-H53/4/11.11.2021, “Phylogenetic and genotypic analysis of *Enterobius vermicularis* and investigation the influence of the parasite on the local immunity of the intestinal tract and the possibility of bacterial co-infections in infected persons in Bulgaria” under the “Competition for financial support for basic research projects- 2021”, and by Project No BG16RFPR002-1.014-0017 Center of Competence “Fundamental, translational and clinical investigations on infections and immunity”, funded by “Research, Innovation and Digitalisation for Smart Transformation 2021–2027” Program.

KEYWORDS: *Enterobius vermicularis*, cox1 gene, molecular epidemiology

НЕОБХОДИМО ЛИ Е ДА СЕ ЗАПОЧНЕ АНТИБИОТИЧНО ЛЕЧЕНИЕ СЛЕД ИЗОЛИРАНЕ НА SPHINGOMONAS PAUCIMOBILIS ОТ КУЛТУРИ ОТ НОСЕН СЕКРЕТ?

Д. Пенчева¹, Е. Грозданова-Василева¹, С. Хараламбиева¹, Б. Петров¹, Е. Драгижева²

¹ДКЦ „Света София“, София, България, ²МБАЛ „Света София“, София, България

ЦЕЛ: Да се установи необходимостта от антибиотично лечение при изолиране на *Sphingomonas paucimobilis* от носен секрет.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ: Изследван е микробиологично назален секрет от пациенти, като идентификацията и антимикробната чувствителност са определени с VITEK-2.

РЕЗУЛТАТИ: *Sphingomonas paucimobilis* е аеробен, неферментиращ, опортюнистичен патоген и се счита, че представлява риск не само за имунокомпрометирани лица, но и за имунокомпетентни пациенти. *S. paucimobilis* не притежава типични липополизахариди, но експресира гликофинголипиди, които улесняват избягването на имунната защита и образуването на биофилм, допринасяйки за неговата устойчивост към дезинфектанти. Някои проучвания показват, че *S. paucimobilis* може да играе по-значителна роля в човешките заболявания, отколкото е било признато преди. Наскоро беше съобщено, че е причинител на атрофичен ринит, рецидивиращ тонзилит, инфекции на костите и меките тъкани и бактериемия при хората. В нашата болница, в рамките на една година, организъмът беше изолиран два пъти от назални секрети. Първият случай включваше 63-годишна жена с остра инфекция на горните дихателни пътища, а вторият - 43-годишна жена с остър назофарингит. Замърсяването от водоизточници може да бъде изключено, тъй като пациентите бяха прегледани от различни клиницисти в отделни кабинети. Профилът на антимикробна чувствителност, докладван при клинични случаи, варира значително, което определя същественото значение да се установи антимикробната чувствителност за всеки изолиран щам. В нашето проучване първият изолат беше чувствителен към почти всички антимикробни средства, тествани с VITEK-2, съгласно глобалното CLSI-базирано фенотипизиране 2024. Вторият изолат беше резистентен към всички антимикробни средства, тествани съгласно EUCAST – Phenotyping 2025. В повечето публикувани клинични случаи не е посочено кои правила се използват за интерпретация на изолата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Нарастващото клинично значение на *Sphingomonas paucimobilis*, изисква да се преразгледа значението му като патоген. Разликите в интерпретацията между правилата на CLSI и EUCAST изискват внимателно обмисляне при избора на стратегия за определяне на антимикробната чувствителност на този микроорганизъм.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: *Sphingomonas paucimobilis*, патоген, антимикробна чувствителност

IS IT NECESSARY TO INITIATE ANTIBIOTIC TREATMENT FOLLOWING THE ISOLATION OF SPHINGOMONAS PAUCIMOBILIS FROM NASAL SECRETION CULTURES?

D. Pencheva¹, E. Grozdanova-Vasileva¹, S. Haralambieva¹, B. Petrov¹, E. Dragizheva²

¹St. Sofia Diagnostic and Consultative Center, Sofia, Bulgaria, ²St. Sofia Hospital, Sofia, Bulgaria

AIM: To determine the need for antibiotic treatment when isolating *Sphingomonas paucimobilis* from nasal secretions.

MATERIALS AND METHODS: Nasal secretions from patients were microbiologically examined, and identification and antimicrobial susceptibility were determined with VITEK-2.

RESULTS: *Sphingomonas paucimobilis* is an aerobic, non-fermentative, opportunistic pathogen and is considered to pose a risk not only to immunocompromised individuals but also to immunocompetent patients. *S. paucimobilis* lacks typical lipopolysaccharides but expresses glycosphingolipids, which facilitate immune evasion and biofilm formation, contributing to its resistance to disinfectants. Some studies suggest that *S. paucimobilis* may play a more significant role in human disease than previously recognised. It has recently been reported as a causative agent of atrophic rhinitis, recurrent tonsillitis, bone and soft-tissue infections, and bacteraemia in humans. In our hospital, over the course of one year, the organism was isolated twice from nasal secretions. The first case involved a 63-year-old woman with an acute upper respiratory tract infection, and the second a 43-year-old woman with acute nasopharyngitis. Contamination from water sources can be excluded, as the patients were examined by different clinicians in separate consulting rooms. The antimicrobial susceptibility profile reported in recent clinical cases varies considerably, which makes it essential to determine the AST for each isolated strain. In our study, the first isolate was susceptible to almost all antimicrobials tested with VITEK-2, according to the global CLSI-based Phenotyping 2024. The second isolate was resistant to all antimicrobials tested according to EUCAST – Phenotyping 2025. In most published clinical cases, it is not stated which rules is used to interpret the isolate.

CONCLUSION: The increasing clinical importance of *Sphingomonas paucimobilis* requires a reassessment of its significance as a pathogen. The differences in interpretation between the CLSI and EUCAST guidelines require careful consideration when choosing a strategy for determining antimicrobial susceptibility of this organism.

KEYWORDS: *Sphingomonas paucimobilis*, pathogen, antimicrobial susceptibility