

17. РЕЗЮМЕТА НА РЕЦЕНЗИРАНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ
НА БЪЛГАРСКИ И АНГЛИЙСКИ ЕЗИК

РЕЗЮМЕТА НА РЕЦЕНЗИРАНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ НА БЪЛГАРСКИ И АНГЛИЙСКИ ЕЗИК

на ДОЦЕНТ Д-Р ПЕТЯ КОЙЧЕВА ХРИСТОВА

КАТЕДРА ОБЩА И ПРОМИШЛЕНА МИКРОБИОЛОГИЯ, БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ, СУ
„Св.КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

ПОКАЗАТЕЛ В 4. Хабилизационен труд – Монография

Христова П. (2020) Кръстосаните патогени – новите биологични опасности в растителни храни, ISBN 978-954-07-5035-4, Унив. издателство „Св. Кл. Охридски“, 190 стр. www.unipress.bg

Резюме:

Монографията разглежда растенията като алтернативни гостоприемници на кръстосаните патогени и предоставя информация относно предпоставките за възникване на нови биологични опасности в растителните храни. Фокусът е насочен към тази част от най-разпространените човешки и растителни патогени, които имат генетичен потенциал да се адаптират към различни биологични гостоприемници, което е от ключово значение за техния успех. В кратък план са представени пътищата за въвеждане на патогените в растителната среда и факторите, влияещи на тяхната преживяемост в нея. Показано е, че кръстосаните патогени са в състояние не само активно да взаимодействат с растенията, но и да осъществят част от жизнения си цикъл извън естествените си екологични ниши. Доказателствата, че част от човешките патогени колонизират растенията подобно на ко-еволюирали ендо- и епифити, осъществявайки кръстосани инфекции между две напълно отдалечени биологични царства – растения и животни (човек), обясняват забележителната честота на хранителните заболявания, свързани с консумацията на заразени селскостопански култури. Темата е особено вълнуваща, защото разкрива нови аспекти от биологията на някои микроби, които вече се считат за много добре характеризирани. Колонизацията на гостоприемници от различни биологични царства е представена чрез сравнение на общите молекулни механизми, използвани от патогените за осъществяване на кръстосаната патогенност, чрез установяване на общ план за протичане на инфекциозния процес и създаване на общ имунен отговор в кръстосаните царства. Отделено е внимание на генетичните предпоставки за възникване на нови кръстосани патогени и на еволюционните модели, които биха обяснили появата на новите взаимоотношения. Представената научна информация може да послужи за подобряване на настоящите стандарти за производство на безопасни растителни храни и показва необходимостта от целенасочени интердисциплинарни изследвания и създаване на системен подход, който да разпознава не само целия жизнен цикъл на биологичната система патоген-растение, но и пълния процес на заболяването, както и разработване на нови стратегии за минимизиране на риска от възникване на нови биологични опасности.

Abstract:

The monograph considers plants as alternative hosts for cross-pathogens and provides information on the preconditions for the occurrence of new biological risks in plant foods. The focus is on this part of the most common human and plant pathogens, which have the genetic capacity to adapt to different biological hosts, which is the key to their success. The ways for introduction of pathogens in the plant environment and the factors influencing their survival in it are presented. It has been shown that cross-pathogens are able not only to actively interact with plants, but also to carry out part of their life cycle outside their natural ecological niches. Evidence that some human pathogens colonize plants like co-evolved endo- and epiphytes, cross-infecting between two completely distant biological kingdoms, plants and animals (humans), explains the remarkable incidence of foodborne diseases associated with the consumption of infected crops. The topic is particularly exciting because it reveals new aspects of the biology of some microbes that are already considered to be very well characterized. Colonization of hosts from different biological kingdoms is represented by comparing the common molecular mechanisms used by pathogens to carry out cross-pathogenicity, by establishing a common plan for the course of the infectious process and creating a common immune response in cross-kingdoms. Attention is paid to the genetic preconditions for the occurrence of new cross-pathogens and evolutionary models that would explain the appearance of new relationships. The presented scientific information can serve to improve current standards in the production of safe plant foods and shows the need for targeted interdisciplinary research creating a systematic approach that recognizes not only the entire life cycle of the biological system pathogen-plant, but also the entire process of the disease, as well as developing new strategies to minimize the risk of new biological dangers.

ПОКАЗАТЕЛ Г 7. Научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (SCOPUS и WEB of SCIENCE), извън хабилитационния труд

Kenarova, A., Encheva, M., Chipeva, V., Chipev, N., **Hristova, P.**, & Moncheva, P. (2013). Physiological diversity of bacterial communities from different soil locations on livingston island, south shetland archipelago, antarctica. *Polar Biology*, 36(2), 223-233, ISSN:0722- 4060 (print); 1432-2056 (web). IF: 2.346

Abstract:

Terrestrial food webs of Antarctica are simple and dominated by microorganisms. Soil bacteria play an important role in nutrient cycling, yet little is known about their capacity to utilize different carbon sources and to participate in site nutrient turnover. BiologEcoPlate™ was applied to study the catabolic activity and physiological diversity of bacteria inhabiting the soil of moss, vascular plants, and fell field habitats from Livingston Island, Antarctica. Additionally, the number of oligotrophic and copiotrophic bacteria was counted by the agar plate method. Results indicated a

lack of site-specific distribution of bacterial abundance, in contrast to bacterial catabolic activity and community level physiological profiles. Community level physiological profiles revealed a common capacity of soil bacteria to intensively utilize polyols, which are cryoprotectants widely produced by Antarctic organisms, as well as site-specific phenolic compounds (vegetated habitats), amino acids/amines (moss habitats), carbohydrates and carboxylic acids (fell field habitat). It was concluded that the physiology of soil bacteria is habitat specific concerning both the rate of catabolic activity and pattern of carbon source utilization.

Резюме:

Сухоземните хранителни вериги на Антарктида са прости и са доминирани от микроорганизми. Почвените бактерии играят важна роля в цикъла на хранителните вещества, но все още се знае малко за способността им да използват различни източници на въглерод и да участват в кръговрата на хранителните компоненти. BiologEcoPlate™ е приложен за изследване на катаболитната активност и физиологичното разнообразие на бактериите, обитаващи мъхестите почви, растения и полевите местообитания от остров Ливингстън, Антарктида. В допълнение, броят на олиготрофните и копиотрофните бактерии са отчетени по метода на посев на агар. Резултатите показват липса на специфично за мястото разпределение на бактериалното разнообразие, за разлика от бактериалната катаболитна активност и физиологичните профили на ниво общност. Физиологичните профили на общностно ниво разкриват общ капацитет на почвените бактерии да използват интензивно полиоли, които са криопротектори, широко произведени от антарктически организми, както и специфични за мястото фенолни съединения (растителни местообитания), аминокиселини / амини (мъхове), въглехидрати и карбоксилни киселини. Беше направено заключение, че физиологията на почвените бактерии е специфична за местообитанията както по отношение на скоростта на катаболитната активност, така и по отношение на модела на използване на източника на въглерод.

Encheva, M., Zaharieva, N., Kenarova, A., Chipev, N., Chipeva, V., **Hristova, P.**, Moncheva, P. (2013). Abundance and activity of soil actinomycetes from livingston island, antarctica. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19, 68-71, ISSN 1310-0351 print, ISSN 2534- 983X – online. IF:0.228

Abstract:

The soils of Antarctica are severe environments inhabited by well adapted microorganisms, the knowledge of which is scarce. The study on their abundance, diversity and physiology will provide the investigators with new data on the mechanisms of their adaptation and gives new opportunities to isolate microorganisms with unique properties for practical use. The aim of the present work was to study bacterial abundance including actinomycetes and physiological diversity of Antarctic soils, by agar plate method and BIOLOG EcoPlates technique, respectively, and based on this actinomycete strains to be isolated, identified and screened for antimicrobial activity against different test bacteria. The objectives of our investigation were seven Antarctic soils taken from

moss, *Deschampsia* vegetated and fell field habitats of Livingston Island. Some of the soil physicochemical parameters, like pH, moisture and humus, were determined. Bacterial physiological activity and diversity were assessed based on the average color development of EcoPlate wells, and community capacity to utilize different chemical categories of carbon sources, respectively. The results showed that highest physiological diversity and more intensive utilization of polyols, amino acids and phenolic compounds, and high abundance of actinomycetes characterized soil bacteria from habitats with cryptogam (moss) coverage. Most morphologically different actinomycete strains were isolated from the moss habitat denoted in the study as S6. The affiliation of the strains to genus *Streptomyces* was proved by the PCR amplification of 16S rDNA, using genus-specific primers. The screening of antimicrobial activity of the isolates by diffusion bioassay, using agar plugs showed that the strains synthesized antibacterial substances, active against both Gram-negative and Gram-positive bacteria. We conclude that the soils of moss habitats are favorable environments supporting high bacterial physiological activity, and high number and diversity of actinomycetes most of which are active producers of antibacterial metabolites.

Резюме:

Почвите на Антарктида са сурова среда, обитавана от добре адаптирани микроорганизми, познанията за които са оскъдни. Проучването върху тяхното изобилие, разнообразие и физиология ще предостави на изследователите нови данни за механизмите на тяхната адаптация и дава нови възможности за изолиране на микроорганизми с уникални свойства за практическа употреба. Целта на настоящата работа е да се изследва изобилието на бактерии, включително актиномицети и физиологичното разнообразие на антарктическите почви, съответно чрез метод на посев на агар и техника BIOLOG EcoPlates и на базата на тези данни да бъдат изолирани щамове актиномицети, идентифицирани и изследвани за антимикробна активност срещу различни тест бактерии. Цели на нашето изследване бяха седем антарктически почви, взети от мъх, растения и полеви местообитания на остров Ливингстън. Определени са някои от физикохимичните параметри на почвата, като pH, влага и хумус. Бактериалната физиологична активност и разнообразие бяха оценени въз основа на средното развитие на цвета на сондите EcoPlate и капацитета на общността да използва съответно различни химични категории източници на въглерод. Резултатите показаха, че най-високото физиологично разнообразие и по-интензивното използване на полиоли, аминокиселини и фенолни съединения и голямо количество актиномицети характеризират почвените бактерии от местообитания покрити с криптогам (мъх). Повечето морфологично различни щамове актиномицети са изолирани от местообитанието на мъховете, обозначено в изследването като S6. Принадлежността на щамовете към род *Streptomyces* е доказана чрез PCR амплификация на 16S rDNA, като се използват специфични за рода праймери. Скринингът на антимикробната активност на изолатите чрез дифузионен биоанализ, използвайки агарови проби, показва, че щамовете са синтезирали антибактериални вещества, активни както срещу Грам-отрицателни, така и срещу Грам-положителни бактерии. Заклучваме, че почвите на мъховите местообитания са благоприятна среда, поддържаща висока бактериална физиологична активност и голям

брой и разнообразие от актиномицети, повечето от които са активни производители на антибактериални метаболити.

Kizheva, Y., Vancheva, T., **Hristova, P.**, Stoyanova, M., Stojanovska, M., Moncheva, P., & Bogatzevska, N. (2013). Identification of xanthomonas strains from tomato and pepper and their sensitivity to antibiotics and copper. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19, 80- 82, ISSN 1310-0351 print, ISSN 2534-983X – online. IF: 0.228

Abstract:

This study aims to characterize 136 *Xanthomonas* strains causing bacterial spot of tomato and pepper from different regions in Bulgaria and Macedonia. Three species were identified by PCR with species-specific primers. *Xanthomonas vesicatoria* affects tomato and pepper and is the dominant species in Bulgaria on tomato while *Xanthomonas euvesicatoria* affects only pepper. This is the first report of *Xanthomonas gardneri* of tomato and *X. euvesicatoria* of pepper in Bulgaria. Amylase activity and ability to utilize cis-aconitate of the strains vary and cannot be used for species differentiation. The tested *Xanthomonas* were sensitive to streptomycin. Copper ions in generally used concentrations in practice were effective only against pepper strains.

Резюме:

Това проучване има за цел да характеризира 136 щамове *Xanthomonas*, причиняващи бактериално струпясване по домати и пипер от различни региони в България и Македония. Три вида бяха идентифицирани чрез PCR със специфични за вида праймери. *Xanthomonas vesicatoria* засяга домати и пипер и е доминиращият вид в България по домати, докато *Xanthomonas euvesicatoria* засяга само пипер. Това е първият доклад за *Xanthomonas gardneri* по домати и *X. euvesicatoria* на пипер в България. Амилазната активност и способността да използват цис-аконитат на щамове варират и не могат да се използват за диференциация на видовете. Тестваните ксантомонади са чувствителни към стрептомицин. Медните йони в общо използвани концентрации на практика са били ефективни само срещу щамове пипер.

Koleva, Z., Dedov, I., Kizheva, J., Lipovanska, R., Moncheva, P., & **Hristova, P.** (2014). Lactic acid microflora of the gut of snail *cornu aspersum*. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 28(4), 627-634. doi:10.1080/13102818.2014.947071, Print ISSN: 1310-2818 Online ISSN: 1314-3530. SJR: 0.173

Abstract:

The intestinal lactic acid microflora of the edible snail *Cornu aspersum* was studied by culture-based methods and was phenotypically and molecularly characterized. The antibacterial activity of lactic acid bacteria (LAB) isolates was investigated. Snails in different stages of development were collected from farms located in several regions of Bulgaria. One hundred twenty-two isolates, belonging to the group of LAB, were characterized morphologically and were divided into four groups. Representative isolates from each morphological type were subjected to phenotypic

characterization and molecular identification. The snail gut lactic acid microflora was composed by *Enterococcus* (17 isolates), *Lactococcus* (12 isolates), *Leuconostoc* (7 isolates), *Lactobacillus* (18 isolates) and *Weissella* (1 isolate). The species affiliation of *Lactococcus lactis* (12), *Leuconostoc mesenteroides* (4) and *Lactobacillus plantarum* (2) was confirmed by species-specific primers. The *Lactobacillus* isolates were identified by sequence analysis of 16S rDNA as *Lactobacillus brevis* (12), *L. plantarum* (2), *Lactobacillus graminis* (1) and *Lactobacillus curvatus* (3). The species *L. brevis*, *L. graminis* and *L. curvatus* were found in snails in a phase of hibernation, whereas *L. plantarum* was identified both in active and hibernation phases. Antibacterial activity (bacteriocine-like) was shown only by one strain of *L. mesenteroides* P4/8 against *Propionibacterium acnes*. The present study showed that the LAB are a component of the microbial communities in the snail digestive system. This is the first report on *Lactobacillus* strains detected in the gut of *C. aspersum*.

Резюме:

Интестиналната млечнокисела микрофлора на ядливи охлюви от вида *Cornu aspersum* е изследвана фенотипно чрез културално-базирани методи и молекулярно характеризирани. Изследвана е антибактериалната активност на изолатите на млечнокисели бактерии (LAB). Охлювите в различни етапи на развитие са събирани от ферми, разположени в няколко региона на България. Сто двадесет и два изолата, принадлежащи към групата на LAB, са характеризирани морфологично и са разделени на четири групи. Представителните изолати от всеки морфологичен тип са подложени на фенотипна характеристика и молекулярна идентификация. Млечнокиселата микрофлората на интестиналния тракт на охлювите е съставена от *Enterococcus* (17 изолата), *Lactococcus* (12 изолата), *Leuconostoc* (7 изолата), *Lactobacillus* (18 изолата) и *Weissella* (1 изолат). Видовата принадлежност на *Lactococcus lactis* (12), *Leuconostoc mesenteroides* (4) и *Lactobacillus plantarum* (2) е потвърдена от специфични за вида грундове. Изолатите на *Lactobacillus* са идентифицирани чрез анализ на последователността на 16S рДНК като *Lactobacillus brevis* (12), *L. plantarum* (2), *Lactobacillus graminis* (1) и *Lactobacillus curvatus* (3). Видовете *L. brevis*, *L. graminis* и *L. curvatus* са открити в охлювите във фаза на хибернация, докато *L. plantarum* е идентифициран както в активна фаза, така и в фаза на хибернация. Антибактериалната активност (подобна на бактериоцин) е показана само от един щам на *L. mesenteroides* P4 / 8 срещу *Propionibacterium acnes*. Настоящото проучване показва, че LAB са компонент на микробните съобщества в храносмилателната система на охлювите. Това е първият доклад за щамове от род *Lactobacillus*, открити в червата на *C. aspersum*.

Ganchev, I., Koleva, Z., Kizheva, Y., Moncheva, P., & **Hristova, P.** (2014). Lactic acid bacteria from spontaneously fermented rye sourdough. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20, 69-73, ISSN 1310-0351 print, ISSN 2534-983X – online. IF: 0.218

Abstract:

Sourdough represents a complex biological system in which lactic acid bacteria and yeasts exist in symbiotic relationships. Changes that occur in the environment parameters affecting microbial associations lead to the development of specific and characteristic associations of species of each particular case. The aim of this study is to characterize the composition and the growth dynamics of the microflora of rye sourdough samples from the region of Stara Zagora, prepared by mixing of water and flour in the ratio 1:1. The fermentation was carried out at 30°C for 72 hours. During

the fermentation the population of the lactobacilli displayed highest growth rate (0.12 h⁻¹) at 48 h compared with the growth of streptococci and yeast populations. After 72 hours a reduction of the number of all microbial groups was determined. In the composition of rye sourdough microbiota from the region of Stara Zagora the species of *Lactobacillus spicheri*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus kimchii*, *Lactobacillus sanfranciscensis* were detected by phenotypic and molecular methods. This is the first report of these bacteria from the rye sourdough in Bulgaria.

Резюме:

Ръжената закваска представлява сложна биологична система, в която млечнокиселите бактерии и дрожди съществуват в симбиотични взаимоотношения. Промените, които настъпват в параметрите на околната среда, засягащи микробните асоциации, водят до развитието на специфични и характерни асоциации от видове за всеки конкретен случай. Целта на настоящото изследване е да характеризира състава и динамиката на растеж на микрофлората на пробите от ръжена закваска от района на Стара Загора, приготвени чрез смесване на вода и брашно в съотношение 1:1. Ферментацията се извършва при 30°C в продължение на 72 часа. По време на ферментацията популацията на лактобацилите показва най-висок темп на растеж (0.12 h⁻¹) на 48 h в сравнение с растежа на популациите на стрептококи и дрожди. След 72 часа беше определено намаляване на броя на всички микробни групи. В състава на микробиота от ръжена закваска от района на Стара Загора по фенотипни и молекулярни методи са открити видовете *Lactobacillus spicheri*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus kimchii*, *Lactobacillus sanfranciscensis*. Това е първият доклад за изолирането на тези видове бактерии от ръжената закваска в България.

Güzel, M., Genç, Y., Aksoy, A., Moncheva, P., & **Hristova, P.** (2015). Investigation of three different methods for detection of ESBL production and antibiotic resistance percentage of ESBL producing gram negative bacteria. [Gram negatif bakterilerde GSBL üretiminin üç farklı yöntemle araştırılması ve antibiyotik direnç oranları], Turk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 72(2), 131-138. doi:10.5505/TurkHijyen.2015.33239, ISSN: 0377 – 9777, e-ISSN: 1308-2523. SJR: 0.132

Abstract:

In this study, it was aimed to evaluate the efficacy of chromogenic agar for rapid and accurate identification of bacteria producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and to investigate the antibiotic resistance rates of 10⁵ bacteria that were determined to produce ESBL. A hundred

and five strains (81 *Escherichia coli*, 24 *Klebsiella* spp.) were found to produce ESBL by combined disc method, while 96 strains were found to produce ESBL by E-test and 99 strains by chromogenic agar. The sensitivity and positive predictive value of chromogenic agar for ESBL production was 94.8% and 91.9%, respectively. All strains were found to be resistant to cefuroxime, cefazolin and cefotaxime, the antibiotics that ESBL producing strains are considered to be resistant to. Among beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations, the highest resistance was against ampicillin-sulbactam (75.2%), and the lowest resistance was against piperacillin-tazobactam (31.4%) and cefoperazone-sulbactam (32.4%). A total of 8 strains (7.6%) were found to be resistant to carbapenems (imipenem, meropenem, and ertapenem) and the lowest resistance rate was observed to this group of antibiotics. *Klebsiella* spp. strains were found to be more resistant to beta - lactam - betalactamase inhibitors, aminoglycosides, trimethoprim sulfamethoxazole and chloramphenicol than that of *E. coli*, but *E. coli* strains were found to be more resistant to quinolones. It was observed that the use of chromogenic agar has no advantage in detecting ESBL enzymes, the lowest resistance rate in ESBL producing strains was to carbapenems, and the species of ESBL producing bacteria was important in determining the resistance rates and selection of the appropriate antibiotic for treatment.

Резюме:

Целта на това проучване е да се оцени ефикасността на хромогенен агар за бърза и точна идентификация на бактерии, произвеждащи широк спектър бета-лактамаза (ESBL) и да се изследват нивата на антибиотична резистентност на 10^5 бактерии, които бяха определени да произведат ESBL. Установено е при прилагането на комбиниран дисков метод са селектирани сто и пет щамове (81 *Escherichia coli*, 24 *Klebsiella* spp.), които произвеждат ESBL, докато при прилагане само на E-тест са детектирани 96 щамове да произвеждат ESBL и 99 щамове са доказани на хромогенен агар. Чувствителността и положителната прогностична стойност на хромогенния агар за производството на ESBL е съответно 94,8% и 91,9%. Установено е, че всички щамове са резистентни към цефуроксим, цефазолин и цефотаксим, антибиотиците, на които щамовете, произвеждащи ESBL, се считат за устойчиви. Сред комбинациите от бета-лактама / бета-лактамаза инхибитори, най- високата резистентност е срещу ампицилин-сулбактам (75,2%), а най-ниска е срещу пиперацилин-тазобактам (31,4%) и цефоперазон-сулбактам (32,4%). Установено е, че общо 8 щамове (7,6%) са устойчиви на карбапенеми (имипенем, меропенем и ертапенем) и най-ниската степен на резистентност се наблюдава при тази група антибиотици. *Klebsiella* spp. е установено, че щамовете са по-устойчиви на бета-лактама-беталактамазни инхибитори, аминогликозиди, триметопримсулфаметоксазол и хлорамфеникол, отколкото тези на *E. coli*, но е установено, че щамовете на *E. coli* са по-устойчиви на хинолони. Установено е, че използването на хромогенен агар няма предимство при откриването на ESBL ензими, най-ниската степен на резистентност при щамове, продуциращи ESBL, е към карбапенеми, а видовете бактерии, произвеждащи ESBL, са важни при определянето на степента на резистентност и избора на подходящия антибиотик за лечение.

Kizheva, Y., Vancheva, T., Stoyanova, M., Bogatzevska, N., Moncheva, P., & **Hristova, P.** (2016). 16S-23S ITS rDNA PCR-RFLP approach as a tool for identification and differentiation of bacterial spot-causing xanthomonas. *Journal of Plant Pathology*, 98 (3) doi:10.4454/JPP.V98I3.041, ISSN: 1125 – 4653. IF: 1.267

Abstract:

Bacterial spot of pepper and tomato plants is one of the most important constraints limiting crops yield in Bulgaria and Macedonia. Therefore, early identification of the pathogen is necessary for the control and prevention of the disease. In order to explore the strength of 16S-23S ITS rDNA PCR-RFLP as an approach for identification and differentiation of the causative agents of bacterial spot 262 Bulgarian and Macedonian strains pathogenic of pepper and tomato plants were used. The strains were previously identified as *Xanthomonas euvesicatoria* (132 strains), *Xanthomonas vesicatoria* (115 strains), and *Xanthomonas gardneri* (15 strains). Each restriction analysis resulted in two profiles that grouped the used strains. The restriction with *AluI* endonuclease differentiated *X. vesicatoria* isolates from the other three species. The enzyme *HpaII* separated the *X. euvesicatoria* strains. A combination of three restriction endonucleases (*AluI*, *MboI*, *HpaII*) successfully differentiated the four species described as causative agents of bacterial spot.

Резюме:

Бактериалното струпяване по пиперени и домати растения е едно от най-важните заболявания, ограничаващи добива на култури в България и Македония. Следователно, ранната идентификация на патогена е необходима за контрол и профилактика на заболяването. За да се изследва потенциала на 16S-23S ITS rDNA PCR-RFLP като подход за идентифициране и диференциране на причинителите на бактериално струпяване са използвани 262 български и македонски щамове, патогенни за пипер и домати. Преди това щамове са фенотипно и молекулно идентифицирани като *Xanthomonas euvesicatoria* (132 щамове), *Xanthomonas vesicatoria* (115 щамове) и *Xanthomonas gardneri* (15 щамове). Всеки рестрикционен анализ генерира по два профила, които групираха тестваните щамове. Срязването с ендонуклеаза *AluI* диференцира изолатите от *X. vesicatoria* от останалите три вида. Ензимът *HpaII* разделя популацията на щамове от вида *X. euvesicatoria*. Комбинацията от три рестрикционни ендонуклеази (*AluI*, *MboI*, *HpaII*) успешно диференцира четирите вида, описани като причинители на бактериално струпяване.

Güzel, M., Genç, Y., Aksoy, A., Moncheva, P., & **Hristova, P.** (2016). Antibiotic resistance and metallo-beta-lactamase positivity in carbapenem-resistant non-fermentative gram negative bacilli. *Turk Hijyen Ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, (Turkish bulletin of hygiene and experimental biology) 73(1), 9-14. doi:10.5505/TurkHijyen.2016.55706, ISSN: 0377 –9777, e-ISSN: 1308-2523.SJR: 0.132.

Abstract:

Antibiotic resistance in Gram negative bacteria is an increasing problem worldwide and a challenging issue for the physicians in both nosocomial and community-acquired infections. Infections caused by metallo-beta-lactamase (MBL)-producing bacteria are particularly threatening as the resistance genes of these bacteria may render an entire antibiotic class ineffective. Moreover,

the rates of multidrug-resistant strains are also higher among MBL-producing bacteria. Multidrug resistance has been gradually increasing among non-fermentative Gram-negative bacilli (NFGNB). The present study aimed to investigate resistance rates of carbapenem-resistant NFGNB isolated from patients' specimens to other antibiotics and to evaluate MBL production by E-test method. The study included 110 carbapenem-resistant NFGNB strains. Of these strains, 44.5% were *Acinetobacter baumannii* and 36.4% were *Pseudomonas aeruginosa*. The NFGNB strains were mostly isolated from tracheal aspirate (37.9%), followed by blood (22.3%), wound (17.5%), and urine (13.6%) specimens. When all carbapenem-resistant NFGNB strains were considered, the highest rate of resistance was ampicillin-sulbactam (95.5%), followed by ciprofloxacin (87.8%), and ceftipime (83.3%). Of 110 strains, only 1 (0.9%) was determined to be MBL positive. This was an *Acinetobacter baumannii* isolated from urine sample. Conclusion: Detection of enzyme-producing strains by appropriate antibiogram and routine MBL screening of clinical isolates, surveillance, and rational antibiotic use are essential in the control of resistant NFGNB infections, the rate of which is gradually increasing and the treatment of which is difficult and costly.

Резюме:

Резистентността към антибиотици при Грам отрицателните бактерии е нарастващ проблем в световен мащаб и предизвикателство за лекарите както при вътреболнични, така и при придобити в общността инфекции. Инфекциите, причинени от бактерии, произвеждащи метало-бета-лактамаза (MBL), са особено застрашителни, тъй като гените на резистентност на тези бактерии могат да направят цял антибиотичен клас неефективен. Освен това честотата на мултирезистентните щамове също е по-висока сред бактериите, произвеждащи MBL. Мултирезистентността постепенно нараства сред неферментативните Грам-отрицателни бацили (NFGNB). Настоящото проучване има за цел да изследва нивата на резистентност на карбапенем-резистентни NFGNB, изолирани от пробите на пациентите към други антибиотици, и да оцени производството на MBL по метод на Е-тест. Проучването включва 110 карбапенем-резистентни щамове NFGNB. От тези щамове 44,5% са *Acinetobacter baumannii* и 36,4% са *Pseudomonas aeruginosa*. Щамовете NFGNB са изолирани предимно от трахеален аспират (37,9%), последван от проби от кръв (22,3%), рани (17,5%) и урина (13,6%). Когато се вземат предвид всички устойчиви на карбапенем щамове NFGNB, най-високата степен на резистентност е ампицилин-сулбактам (95,5%), последван от ципрофлоксацин (87,8%) и цефепим (83,3%). От 110 щамове, само 1 (0,9%) е определен за MBL положителен. Това е *Acinetobacter baumannii*, изолиран от проба от урина. Заключение: Откриването на ензимно продуциращи щамове чрез подходяща антибиограма и рутинен MBL скрининг на клинични изолати, наблюдение и рационално използване на антибиотици са от съществено значение при контрола на резистентните инфекции с NFGNB, чиято степен постепенно се увеличава и лечението на които е трудно скъпо.

Dolashki, A., Nissimova, A., Daskalova, E., Velkova, L., Topalova, Y., **Hristova, P.**, Dolashka, P. (2018). Structure and antibacterial activity of isolated peptides from the mucus of garden snail cornu aspersum. *Bulgarian Chemical Communications*, 50, 195-200, ISSN: 0324-1130. IF:0.52

Abstract:

The world provides a rich source of peptides with antimicrobial, antiviral and antitumor activity. Peptides and glycopeptides are an expanding group of structurally complex anti Gram positive antibacterial agents, which are used in human and veterinary medicine. Quite a series of proline-rich peptides, isolated from arthropods and molluscs, were considered to be promising candidates for the treatment of microbial infections and suppression of microbial resistance. In the present study, we report the primary structure and antimicrobial activity of peptides produced by the mucus of garden snail *Cornuaspersum* in comparison to similar peptides isolated from molluscs. Several peptides with molecular masses between 1 and 4 kDa measured by mass spectrometric analysis were identified in the mucus. Their amino acid sequences were determined by MS/MS analysis as is shown for peptide at m/z 1438.87 $[M+H]^+$ (ML/INVAVNQ/KGEVKH). The fraction with peptides with molecular masses below 3 kDa exhibited antibacterial activity against Gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* AP9 and Gram-positive *Brevibacillus laterosporus* BT271 bacteria and the inhibition effects of the peptides can be explained with the amino acid residues. The *de novo* sequence of six peptides revealed that most of them contain glycine, proline, tryptophan and valine which are typical for peptides with antimicrobial activity.

Резюме:

Светът предоставя богат ресурс на пептиди с антимикробна, антивирусна и антитуморна активност. Пептидите и гликопептидите са разширяваща се група от структурно сложни анти Грам-положителни антибактериални средства, които се използват в хуманната и ветеринарната медицина. Доста поредица от богати на пролин пептиди, изолирани от членестоноги и мекотели, се смятаха за перспективни кандидати за лечение на микробни инфекции и потискане на микробната резистентност. В настоящото проучване ние докладваме за първичната структура и антимикробната активност на пептидите, произведени от слузта на градинския охлюв *Cornu aspersum* в сравнение с подобни пептиди, изолирани от мекотели. В слузта бяха идентифицирани няколко пептида с молекулни маси между 1 и 4 kDa, измерени чрез масспектрометричен анализ. Техните аминокиселинни последователности бяха определени чрез MS / MS анализ, както е показано за пептид при m / z 1438.87 $[M + H]^+$ (ML / INVAVNQ / KGEVKH). Фракцията с пептиди с молекулни маси под 3 kDa проявява антибактериална активност срещу Грам-отрицателни бактерии *Pseudomonas aeruginosa* AP9 и Грам-положителни бактерии *Brevibacillus laterosporus* BT271 и инхибиращите ефекти на пептидите могат да бъдат обяснени с аминокиселинните остатъци. Последователността *de novo* на шест пептида разкрива, че повечето от тях съдържат глицин, пролин, триптофан и валин, които са типични за пептиди с антимикробна активност.

Guzel, M., Afsar, Y., Akdogan, D., Moncheva, P., Hristova, P., & Erdem, G. (2018). Evaluation of metallo-beta-lactamase production in multiple antibiotic-resistant pseudomonas spp. and acinetobacter baumannii strains. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*,

Abstract:

This study aimed to evaluate the metallo-beta-lactamase (MBL) production in *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter baumannii* using phenotypic and genotypic methods and to determine the most appropriate phenotypic method. The study included 55 *Pseudomonas* spp. (53 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *P. fluorescens* and 1 *P. putida*) and 33 *A. baumannii* isolates which were resistant to imipenem (IMP) and/or meropenem (MEM). Six phenotypic and one genotypic (real-time polymerase chain reaction [RT-PCR]) methods were used. According to the phenotypic tests, the rates of MBL-positive *Pseudomonas* spp. and *A. baumannii* were, respectively: 25.5% and 39.4% by the gradient test; 21.8% and 21.2% by the Rosco rapid CARB screen test; 9.1% and 21.2% by the modified Hodge test (MHT); 32.7% and 66.7% by the combined EDTA disk diffusion test; 56.4% and 100% by IMP β EDTA and 49.0% and 72.7% by MEM β EDTA and 9.1% and 3.0% by IMP β dipicolinic acid (DPA) for the Rosco MBL confirm test; 36.4% and 6.1% by IMP β DPA and 54.5% and 6.1% MEM β DPA for the double disk synergy test. MBL genes were detected only in three *Pseudomonas* spp. (blaIMP in two *P. aeruginosa* isolates and blaVIM in a *P. fluorescens* isolate). For *Pseudomonas* spp., the MBL positivity rate did not significantly differ between the RT-PCR and MHT and between the RT-PCR and Rosco MBL confirm test (with IMP β DPA) ($p > 0.10$). In conclusion, the Rosco MBL confirm test (with IMP β DPA) phenotypically predicted the MBL positivity most closely to the RT-PCR method for both *Pseudomonas* spp. and *A. baumannii* isolates.

Резюме:

Това проучване има за цел да оцени производството на метало-бета-лактамаза (MBL) в *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter baumannii*, използвайки различни фенотипни и генотипични методи, с оглед на определяне на най-подходящия фенотипен метод. Проучването включва 55 *Pseudomonas* spp. (53 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *P. fluorescens* и 1 *P. putida*) и 33 изолата на *A. baumannii*, които са устойчиви на имипенем (IMP) и / или меропенем (MEM). Използвани са шест фенотипни теста и един генотипен (RT-PCR) метод. Според фенотипните тестове нивата на MBL-положителни *Pseudomonas* spp. и *A. baumannii* са съответно: 25,5% и 39,4% от градиентния тест; 21,8% и 21,2% от бързия CARB тест Rosco; 9,1% и 21,2% от модифицирания тест на Ходж (МНТ); 32,7% и 66,7% от комбинирания тест за дифузия на EDTA дискове; 56,4% и 100% от IMP β EDTA и 49,0% и 72,7% от MEM β EDTA и 9,1% и 3,0% от IMP β дипиколинова киселина (DPA) за теста за потвърждение на Rosco MBL; 36,4% и 6,1% от IMP β DPA и 54,5% и 6,1% MEM β DPA за теста за синергия на двоен диск. MBL гени са открити само в три *Pseudomonas* spp. (blaIMP в два изолата на *P. aeruginosa* и blaVIM в изолат на *P. fluorescens*). За *Pseudomonas* spp. степента на позитивност на MBL не се различава значително между RT-PCR и МНТ и между RT-PCR и теста за потвърждение на MBL на Rosco (с IMP β DPA) ($p > 0.10$). В заключение, тестът за потвърждаване на MBL на Rosco (с IMP β DPA) фенотипно прогнозира положителността на MBL най-близо до метода RT-PCR и за двата вида *Pseudomonas* spp. и изолати на *A. baumannii*.

Kizheva, Y., Urshev, Z., Rasheva, I., Vancheva, T., **Hristova, P.**, Bogatzevska, N., & Moncheva, P. (2018). PFGE: A tool for examination of heterogeneity between the bacterial spot-causing xanthomonads of tomato plants in Bulgaria. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 73(7-8), 257-264. doi:10.1515/znc-2016-0205, Online ISSN: 1865 – 7125, Print ISSN: 0939 – 5075. IF:1,355

Abstract:

Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) is a highly discriminative molecular typing method that is used for epidemiological studies and investigation of outbreaks caused by different pathogens, including phytopathogenic *Xanthomonas* species. Bacterial spot (BS) is the most common and one of the most destructive diseases of tomato and pepper plants in Bulgaria. Several *Xanthomonas* species are known to cause BS, but the global distribution and genetic diversity of these species are not well understood. A collection of 100 BS-causing strains, isolated during the period of 1985–2012 from different tomato cultivars and weeds associated with tomato production areas from 11 geographic regions in Bulgaria, were screened for genetic diversity by genomic DNA restriction with rare-cutting endonucleases (*Xba*I and *Spe*I) subsequently resolved by PFGE. Two haplotypes for *Xanthomonas vesicatoria* and one haplotype for *Xanthomonas gardneri* strains were found.

Резюме:

Пулсовата електрофорезата (PFGE) е силно дискриминативен метод на молекулно типизиране, който се използва за епидемиологични изследвания и анализ на огнища, причинени от различни патогени, включително фитопатогенни видове *Xanthomonas*. Бактериалното струпяване (BS) е най-често срещаното и едно от най-разрушителните заболявания по растенията домати и пипер в България. Известно е, че няколко вида *Xanthomonas* причиняват BS, но глобалното разпространение и генетичното разнообразие на тези видове не са добре разбрани. Колекция от 100 щамове, причиняващи BS, изолирани през периода 1985–2012 г. от различни сортове домати и плевели, свързани с райони за производство на домати от 11 географски региона в България, бяха изследвани за генетично разнообразие чрез геномна ДНК рестрикция с редки режещи ендонуклеази (*Xba*I и *Spe*I) впоследствие разрешени от PFGE. Открити са два хаплотипа за *Xanthomonas vesicatoria* и един хаплотип за щамове *Xanthomonas gardneri*.

Kizheva, Y. K., Rasheva, I. K., Petrova, M. N., Milosheva-Ivanova, A. V., Velkova, L. G., Dolashka, P. A., **Hristova, P. K.** (2019). Antibacterial activity of crab haemocyanin against clinical pathogens. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 33(1), 873-880. doi:

Abstract:

The increasing antibiotic resistance among pathogenic bacteria is a challenge that drives the development of new antibacterial substances. Marine inhabitants are excellent sources of antimicrobial proteins and considered as promising candidates for the treatment of microbial infections. In the present study, we obtained haemocyanin from *Eriphia verrucosa* and studied its potential to suppress the growth of some pathogenic bacteria and yeasts. The putative antibacterial molecules were isolated from the haemolymph by chromatography appropriate for producing the native haemocyanin (EvH) and its five structural units (SUs). The results showed that EvH had no antimicrobial activity unlike its glycosylated SUs. All haemocyanin SUs exhibited differential antibacterial activity depending on their grade of glycosylation. The strongest antimicrobial activity of SU1 (with highest carbohydrate content) was against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. The least glycosylated SU3 and SU4 exhibited the lowest antimicrobial activity against all strains. The fraction SU1 has the potential to be applied as a substitute for some commonly used antibiotics. It was demonstrated that the grade of haemocyanin glycosylation plays an important role in its functional antibacterial properties.

Резюме:

Нарастващата устойчивост срещу антибиотици сред патогенните бактерии е предизвикателство, което насочва развитието на нови антибактериални вещества. Морските обитатели са отлични източници на антимикробни протеини и се считат за обещаващи кандидати за лечение на микробни инфекции. В настоящото проучване получихме хемоцианин от *Eriphia verrucosa* и проучихме неговия потенциал за потискане на растежа на някои патогенни бактерии и дрожди. Предполагаемите антибактериални молекули са изолирани от хемолимфата чрез хроматография, подходяща за производството на нативния хемоцианин (EvH) и неговите пет структурни единици (SU). Резултатите показаха, че EvH няма антимикробна активност за разлика от гликозилираните си SU. Всички хемоцианинови SU показват диференцирана антибактериална активност в зависимост от степента на гликозилиране. Най-силната антимикробна активност на SU1 (с най-високо съдържание на въглехидрати) е била срещу *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*. Най-малко гликозилираните фракции SU3 и SU4 проявяват най-ниска антимикробна активност срещу всички щамове. Фракцията SU1 има потенциал да бъде приложена като заместител на някои често използвани антибиотици. Доказано е, че степента на хемоцианиновото гликозилиране играе важна роля в неговите функционални антибактериални свойства.

Abstract:

Today people focus on healthy lifestyle. It is well known that probiotics have a number of beneficial health effects in humans. They play an important role in protecting the host against harmful microorganisms, reduce metabolic disorders and support immune functions. In the present study, we investigated 26 probiotic products: 16 commercially available ones and 10 from a local manufacturer. None of the commercial products contained all labelled LAB and some of them contained unacceptable microorganisms. Of 890 isolated strains only 420 met the criteria for LAB. Ninetyseven strains were investigated by phenotypic and genotypic methods. 16S–23S rDNA amplification was performed for all putative LAB isolates. Fifty-seven rod-shaped bacteria referred to genus *Lactobacillus* and 16 coccus bacteria, to genus *Weissela*. Two-step multiplex PCR identified the rodshaped strains to belong to four species: *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (three strains), *Lactobacillus acidophilus* (four strains), *Lactobacillus casei* (three strains), *Lactobacillus rhamnosus* (two strains), *Lactobacillus reuteri* (four strains) and *Lactobacillus plantarum* (one strain). The transit tolerance of the isolated bacteria to *in vitro* simulated gastric juice (pH 2) was examined. Only four strains survived after 90 min of incubation. The antimicrobial activity of the native supernatants of the isolates was tested and 10 of them showed slight activity against three pathogenic bacteria. Our results demonstrated that only freshly produced products possessed the expected number of viable cells. The data revealed that one of the most common problems is the lower concentration of viable cells, misidentification and the presence of undesired microflora.

Резюме:

Днес хората се фокусират върху здравословния начин на живот. Добре известно е, че пробиотиците имат редица полезни ефекти върху здравето. Те играят важна роля в защитата на гостоприемника срещу вредни микроорганизми, намаляват метаболитните нарушения и поддържат имунните функции. В настоящото проучване изследвахме 26 пробиотични продукта: 16 налични в търговската мрежа и 10 от местен производител. Нито един от търговските продукти не съдържа всички посочени в техническата спецификация видове LAB, а някои от тях съдържат неприемливи микроорганизми. От 890 изолирани щамове само 420 отговарят на критериите за LAB. Деветдесет и седем щамове бяха изследвани чрез фенотипни и генотипни методи. Амплификация на интергенните участъци 16S-23S рДНК беше извършена за всички предполагаеми LAB изолати. Петдесет и седем пръчковидни изолата се отнасят към род *Lactobacillus* и 16 коковди щамове към род *Weissela*. Двустепенен мултиплекс PCR идентифицира принадлежността на пръчковидните щамове към видовете: *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (три щамове), *Lactobacillus acidophilus* (четири щамове), *Lactobacillus casei* (три щамове), *Lactobacillus rhamnosus* (два щамове), *Lactobacillus reuteri* (четири щамове) и *Lactobacillus plantarum* (един щам). Изследван е транзитният толеранс на изолираните бактерии към *in vitro* симулиран стомашен сок (pH 2). Само четири щамове оцеляват след 90 минути инкубация. Тествана е антимикробната активност на естествените супернатанти на изолатите и 10 от тях показват слаба активност срещу три патогенни бактерии. Нашите резултати демонстрираха, че само прясно произведените продукти притежават очаквания брой жизнеспособни клетки. Данните разкриха, че един от най-често срещаните проблеми е по-ниската концентрация на жизнеспособни клетки, погрешното идентифициране и наличието на нежелана микрофлора.

Kizheva, Y., Vancheva-Ebben, T., **Hristova, P.**, Bogatzevska, N., & Moncheva, P. (2020). First report of xanthomonas euvesicatoria on tomato in bulgaria. *Comptes Rendus De L'Academie Bulgare Des Sciences*, 73(1), 140-146. doi:10.7546/CRABS.2020.01.18, ISSN 1310–1331 (Print), ISSN 2367–5535 (Online). IF: 0.343 (2019)

Abstract:

Bacterial spot (BS) is one of the most serious diseases of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and pepper (*Capsicum annuum* L.) worldwide. To date, four pathogens have been defined as causative agents of BS. Until 2015, only the species *X. vesicatoria* and *X. gardneri* have been isolated from tomato fields in Bulgaria. In this study, for the first time, we report *X. euvesicatoria* as BS pathogen on tomato in Bulgaria. Twenty seven strains were isolated from different regions, identified by species-specific PCR amplification and biochemically characterized by BIOLOG. The species was presented by two pathotypes – tomato (T) and pepper-tomato (PT). PT pathotype was dominant and typical for 63% of the strains. Among the T strains three races were determined – T1, T2 and T3 with prevalence of T2 race, while among PT strains five races were identified (P0T1, P0T2, P1T2, P4T1, and P4T2). The race P4T2 was characteristic for the largest number of strains – 41% of all.

Резюме:

Бактериалното струпяване (BS) е едно от най-сериозните заболявания на домати (*Solanum lycopersicum* L.) и пипера (*Capsicum annuum* L.) в световен мащаб. Към днешна дата четири патогена са определени като причинители на BS. До 2015 г. от полетата с домати в България са изолирани само видовете *X. vesicatoria* и *X. gardneri*. В това проучване за първи път докладваме *X. euvesicatoria* като патоген на BS за домати в България. Двадесет и седем щамове бяха изолирани от различни региони, идентифицирани чрез специфична за вида PCR амплификация и биохимично характеризирани от BIOLOG. Видът е представен от два патотипа - домати (Т) и пипер-домати (РТ). РТ патотипът беше доминиращ и типичен за 63% от щамовете. Сред Т щамовете бяха определени три раси - Т1, Т2 и Т3 с преобладаване на Т2 раса, докато сред РТ щамове бяха идентифицирани пет раси (Р0Т1, Р0Т2, Р1Т2, Р4Т1 и Р4Т2). Расата Р4Т2 беше характерна за най-голям брой щамове - 41% от всички.

Dermenzhieva Y., V. Marinova, I. Rasheva, Y. Kizheva, **P. Hristova** (2019) Investigation of survival and viability of probiotic strains during storage. *Annual of Sofia University “St. Kliment Ohridski” Faculty of Biology Book 4 - Scientific Sessions of the Faculty of Biology* 2019, volume 104, pp. 7-21.

Abstract:

Correct taxonomy identification, viability and transit tolerance of the probiotic strains are crucial for achievement of the expected effects of probiotic supplements. Probiotics strains may be incorporated in dietary supplements and other food matrices which are expected to have up to 24 months of stability. However, the viability of probiotic cultures depends on production technology, type of the product and storage conditions during the entire shelf-life. Survival of probiotic bacteria are also affected by the high concentration of digestive enzymes and the low value of pH, during their passing through the gastrointestinal system. To increase the transit tolerance of probiotic strains, capsule dosage form is often used. In the present study the survival of probiotic strains was monitored at different periods of the product storage. Also, the effect of pepsin and pancreatin on probiotic strains in various commercial formulations was tested. The impact of the capsule on the viability of probiotic strains in terms of storage has been studied. In vivo transit tolerance of the probiotic strains under simulated conditions was visualized by the fluorescence microscopy method. Our results showed that the strains tested were more sensitive to the simulated gastric juice conditions, and many of them did not survive after 90 minutes and were more resistant to small intestine conditions. Viability of the probiotic strains at pH 3 is higher than at pH 2. At pH 3 all strains in products showed similar stability, and their number only slightly decreased. It was observed that after 90 days of storage, the number of bacteria significantly decreased but was still in the order of 10^6 CFU/ml.

Резюме:

Правилната таксономична идентификация, жизнеспособността и толерантността към транзит на пробиотичните щамове са от решаващо значение за постигане на очакваните ефекти от пробиотичните добавки. Щамовете пробиотици могат да бъдат включени в хранителни добавки и други хранителни матрици, които се очаква да имат до 24 месеца стабилност. Жизнеспособността на пробиотичните култури обаче зависи от технологията на производство, вида на продукта и условията на съхранение през целия срок на годност. Оцеляването на пробиотичните бактерии също се влияе от високата концентрация на храносмилателни ензими и ниската стойност на рН по време на преминаването им през стомашно-чревната система. За да се увеличи транзитната толерантност на пробиотичните щамове, често се използва дозирана форма на капсули. В настоящото проучване оцеляването на пробиотичните щамове се наблюдава през различни периоди от съхранението на продукта. Също така беше тестван ефектът на пепсин и панкреатин върху пробиотични щамове в различни търговски формулировки. Изследвано е въздействието на капсулата върху жизнеспособността на пробиотичните щамове по отношение на съхранението. *In vivo* толерантността към транзит на пробиотичните щамове при симулирани условия се визуализира чрез метода на флуоресцентна микроскопия. Нашите резултати показаха, че тестваните щамове са по-чувствителни към симулираните условия на стомашния сок и много от тях не оцеляват след 90 минути и са по-устойчиви на състояния на тънките черва. Жизнеспособността на пробиотичните щамове при рН 3 е по-висока от тази при рН 2. При рН 3 всички щамове в продуктите показват подобна стабилност и броят им само леко намалява. Беше забелязано, че след 90 дни съхранение, броят на бактериите значително намалява, но все още е от порядъка на 10^6 CFU / ml.

Koleva Z., Kizheva Y., Tichkov S., I. Dedov, Kirova E., Stefanova P., Moncheva P., P.

Hristova(2015) Dynamics of bacterial community in the gut of *Cornu aspersum*. *J.BioScience Biotechnol.* 4, 3, 263-269 ISSN 1314-6246

Abstract:

The dynamics of the bacterial community in the intestinal tract of *Cornu aspersum* was investigated during different states of its life cycle. Two approaches were applied – culture and non-culture. The non-culture approach was performed by ARDRA of 16S rDNA using two of the six tested endonucleases. Data were analyzed by hierarchical cluster analysis. The restriction of 16S rDNA samples from the snail of different physiological states with endonucleases *HinfI* and *Csp6I* resulted in generation of different profiles depending on the snail states. By the culture approach we found that the total number of cultivable bacteria, representatives of *Enterobacteriaceae*, lactic acid bacteria, amylolytic and cellulolytic bacteria were the most abundant in active state of the snails. Cellulolytic bacteria were not detected in juveniles of *C. aspersum*. *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* as well as bacteria from the genus *Salmonella*, *Shigella* and *Pseudomonas* were not detected. Bacteria of the genus *Aeromonas* were found in juveniles of *C. aspersum*, after that their number decrease and were not found in hibernating snails. On the base of the two applied approaches this study shows that the bacterial flora in the intestinal tract of *C. aspersum* is affected by the seasonal and environmental variations and undergoes quantitative and qualitative changes during the different states of the life cycle. The snails harbor in their gut intestinal bacteria, which possess biochemical potentiality to degrade the plant components.

Резюме:

Динамиката на бактериалната общност в чревния тракт на *Cornua spersum* е изследвана по време на различни състояния от техния жизнен цикъл. Приложени бяха два подхода - култивируем и некултивируем. Некултивираният подход е реализиран чрез ARDRA на 16S рДНК, като се използват две от шест тествани ендонуклеази. Данните бяха анализирани чрез йерархичен клъстер анализ. Рестрикционният анализ на 16S рДНК проби от охлюв с различни физиологични състояния с ендонуклеази *HinfI* и *Csp6I* доведе до генериране на различни профили в зависимост от състоянията на охлювите. Чрез културалния подход установихме, че общият брой култивируеми бактерии, представители на *Enterobacteriaceae*, млечнокисели бактерии, амилолитни и целулолитични бактерии са характерни най-много в активното състояние на охлювите. Целулолитични бактерии не са открити при млади охлюви от *C. aspersum*. *E.coli*, *Clostridium perfringens*, както и бактерии от рода *Salmonella*, *Shigella* и *Pseudomonas* също не са открити. Бактериите от рода *Aeromonas* бяха открити при млади охлюви от *C. aspersum*, след което броят им намаля и не бяха открити при хиберниращи охлюви. Въз основа на двата приложени подхода това проучване показва, че бактериалната флора в чревния тракт на *C. aspersum* се влияе от сезонните и екологични промени и претърпява количествени и качествени промени през различните състояния на жизнения цикъл.

Охлювите имат чревни бактерии, които притежават биохимична способност да разграждат растителните компоненти.

Rabadjiev Y., P. Hristova, I. Iliev, I. Ivanova (2015) Identification of Lactic Acid Bacterial flora within honey intestinal tract of *Apis mellifera* from different regions of Bulgaria *J.BioSci.Biotechnol.* 215-219, ISSN 1314-6246

Abstract:

In the present study, we analyzed LAB microflora in the intestinal tract of bees *Apis mellifera* on the territory of Bulgaria. Sixteen isolates were collected from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. Poor growth was recorded when strains were incubated anaerobically in the presence of D-glucose as sole carbon source. All of isolated strain showed fructophilic characteristics fermenting fructose faster than glucose. The isolates were Gram-stained and tested for catalase reaction. The 16S rRNA genes from extracted DNA of bacterial colonies were amplified with polymerase chain reaction using universal primers 27F and 1492R and were sequenced. The 10 isolated strains yielded five distinct 16S sequences of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, *L. iwatensis*, *L. kunkeei*, *Weissella confusa*. DNA of sequenced strains were amplified with specific primers in order to confirm the genus of the samples LBMA-1 (CTCAAAACTAAACAAAGTTC) and R16-1 (CTTGTACACACCGCCCGTCA). Carbohydrate fermentation reactions were recorded using API 50CH. For detection of enzymes activities of strains was used API ZYM. These strains can be good candidates for potential application as probiotics in honeybees and also as natural food preservatives, which, in turn, may be useful in the food industry.

Резюме:

В настоящото изследване анализирахме LAB микрофлора в чревния тракт на пчелите *Apis mellifera* на територията на България. Шестнадесет изолати бяха събрани от медения стомах на медоносната пчела *Apis mellifera*. Лош растеж беше регистриран, когато щамове бяха инкубирани анаеробно в присъствието на D-глюкоза като единствен източник на въглерод. Всички изолирани щамове показват фруктофилни характеристики, ферментиращи фруктоза по-бързо от глюкозата. Изолатите бяха оцветени по Грам и тествани за реакция на каталаза. 16S рНК гените от екстрахирана ДНК на бактериални колонии бяха амплифицирани с полимеразна верижна реакция, използвайки универсални праймери 27F и 1492R и бяха секвенирани. 10-те изолирани щамове дадоха пет различни 16S последователности на *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, *L. iwatensis*, *L. kunkeei*, *Weissella confusa*. ДНК на секвенирани щамове бяха амплифицирани със специфични праймери, за да се потвърди родовата принадлежност на млечнокиселите проби, съответно LBMA-1 (CTCAAAACTAAACAAAGTTC) и R16-1 (CTTGTACACACCGCCCGTCA). Реакциите на ферментация на въглехидрати се записват, използвайки API 50CH. За откриване на ензимни активности на щамове се използва API ZYM. Тези щамове могат да бъдат добри кандидати за потенциално приложение като пробиотици при пчелите, а също и като естествени хранителни консерванти, които от своя страна могат да бъдат полезни в хранителната индустрия.

Подпис: Petya Hristova