

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на разширено заседание на катедра „Микробиология, вирусология и медицинска генетика“ при Медицински Университет, Плевен на 04.05.2015 г.

Дисертацията съдържа 142 страници и е онагледена с 26 таблици, 38 фигури и 1 приложение. Библиографията включва 272 литературни източника на латиница.

Експерименталната работа е извършена в катедра „Микробиология, вирусология и медицинска генетика“ при Медицински Университет, Плевен.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 25.06.2015 г. от 12.00 ч. в зала „Амброаз Паре“ на ТЕЛЕЦ при МУ - Плевен на открито заседание на научното жури в състав:

1. Проф. д-р Тодор Веселов Кантарджиев, дмн (рецензия)
2. Проф. д-р Ива Стефанова Христова, дмн (рецензия)
3. Доц. д-р Калинка Динева Божкова, дм (становище)
4. Проф. д-р Мария Петрова Средкова, дм (становище)
5. Доц. Ангелина Милчева Стоянова, дх (становище)

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на Медицински Университет, Плевен на адрес: [www.mu-pleven.bg](http://www.mu-pleven.bg)

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ– ПЛЕВЕН  
КАТЕДРА ПО МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ  
И МЕДИЦИНСКА ГЕНЕТИКА**

---

**Д-р Христина Йотова Хиткова**

**ПРОУЧВАНЕ НА АНТИМИКРОБНАТА АКТИВНОСТ  
НА НОВОСИНТЕЗИРАН НАНОРАЗМЕРЕН  
ТИТАНОВ ОКСИД И НЕГОВИ ПРОИЗВОДНИ**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен «Доктор»

**Научна специалност:**  
«Микробиология» 01.06.12

**Научни ръководители:**  
Проф. д-р Мария Средкова, дм  
Доц. Ангелина Стоянова, дх

**Официални рецензенти:**  
Проф. д-р Тодор Кантарджиев, дмн  
Проф. д-р Ива Христова, дмн

**Плевен, 2015**

# Nonhydrolytic sol-gel synthesis and antibacterial properties of nanosized TiO<sub>2</sub>

A. STOYANOVA\*, M. SREDKOVA, A. BACHVAROVA-NEDELICHEVA<sup>a</sup>, R. IORDANOVA<sup>a</sup>, Y. DIMITRIEV<sup>b</sup>,  
H. HITKOVA, TZ. ILIEV<sup>c</sup>

*Medical University, 5800 Pleven, Bulgaria*

<sup>a</sup> *Institute of General and Inorganic Chemistry, Bulgarian Academy of Sciences, 1113 Sofia, Bulgaria*

<sup>b</sup> *University of Chemical Technology and Metallurgy, 1756 Sofia, Bulgaria*

<sup>c</sup> *Geological Institute, Bulgarian Academy of Sciences, 1113 Sofia, Bulgaria*

The purpose of this study is to synthesize TiO<sub>2</sub> by a nonhydrolytic sol-gel route and to examine its antibacterial properties. The synthesis of titania was performed by the reaction between titanium tetrachloride and benzyl alcohol at moderate temperature, followed by calcinations at 500 °C. The structure and morphology of the resulting particles were characterized by XRD and SEM. The average particles size of synthesized TiO<sub>2</sub> (anatase) was 10-20 nm. The antimicrobial action of the as-prepared TiO<sub>2</sub> was investigated using *Escherichia coli* as test microorganism. It was concluded that the obtained by nonhydrolytic sol-gel method nanosized TiO<sub>2</sub> (anatase) could be successfully used for disinfection of water on illumination with UV light.

(Received October 27, 2010; accepted November 29, 2010)

*Keywords:* Anatase TiO<sub>2</sub>, Sol-gel, Nanoparticles

## 1. Introduction

The titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) is one of the most studied metal oxides during the last 20 years due to its technological and environmental importance. It is known as non-toxic, insoluble in water and stable under UV-radiation compound. TiO<sub>2</sub> has been successfully applied in optics, gas sensing, painting, implants, catalysis, photocatalysis, disinfection, etc [1, 2]. Among the various applications of this oxide, its antimicrobial properties are one of the most attractive and extensively studied topics [3]. In this connection, it is even reported that UV illumination of TiO<sub>2</sub> could slow or halt the development of tumor cells [4].

Due to the broad area of application and the importance of nanosized titania a large number of preparative methods for its synthesis have been reported. Among the most popular synthetic methods are high-temperature processes [5] and liquid-phase (wet chemistry) routes [6].

The use of aqueous sol-gel technology bears the advantages to achieve high purity and superior compositional homogeneity of the products at moderate temperatures with simple laboratory equipment [6, 7]. However, in most cases the reaction rates in aqueous sol-gel chemistry are very fast, especially with transition metal precursors, making it uneasy to control the processes. This can be a major limitation of aqueous sol-gel processes where slight changes in experimental conditions may result in drastic changes in the structure and morphology of the materials [7, 8, 9].

A simple way to circumvent this problem is applying of so called nonaqueous or nonhydrolytic procedures - syntheses performed in organic solvents under exclusion

of water [7, 8, 10, 11-16]. The slower reaction rate of nonhydrolytic processes allow for better control over particle size and crystallinity [7]. The organic components in the reaction system not only act as oxygen supplying agents for the metal oxide but also strongly influence particle size, shape and surface properties [7, 8]. Nonhydrolytic sol-gel methods developed for the synthesis of TiO<sub>2</sub> generally involve the reaction of titanium tetrachloride (or alkoxide) [7, 12-14] with either metal alkoxide [15, 16] or an organic oxygen donor such as alcohol [6, 17, 18], ether [15], aldehyde or ketone [13] under exclusion of water. It is known that the photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub> strongly depends on the particles size and the type of the precursors. For this reason, many researchers have extensively investigated the relation between the synthesis conditions and the properties of nanosized TiO<sub>2</sub> powders [19]. The anatase nanocrystalline form is of particular interest because it has the highest reactivity in photocatalysis and the best antimicrobial activity [20, 21]. Although a wide variety of approaches for the synthesis of titania have been reported it still remains a particularly active research field.

First Matsunaga et al. [22] reported the photochemical disinfection of some bacteria with platinum doped TiO<sub>2</sub>, and since then the photocatalytic bactericidal action of titanium dioxide has obtained increasing scientific attention. Many studies on the antimicrobial effect of UV-illuminated TiO<sub>2</sub> over a wide range of organisms including bacteria [17, 22-39], viruses [29, 40], fungi [41] and cancer cells [18, 42, 43] have been reported. Most of these studies used the conventional powder photocatalyst, commonly the Degussa P25. Unlike them, Jian Zhu et al. (2007) synthesized nanocrystalline anatase by nonhydrolytic sol-gel reaction and studied its

## SYNTHESIS, PHOTOCATALYTIC AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF NANOSIZED ZnTiO<sub>3</sub> POWDERS OBTAINED BY DIFFERENT SOL-GEL METHODS

A. STOYANOVA\*, H. HITKOVA, A. BACHVAROVA-NEDELICHEVA<sup>a</sup>, R. IORDANOVA<sup>a</sup>, N. IVANOVA, M. SREDKOVA

Medical University, 5800 Pleven, Bulgaria.

<sup>a</sup>Institute of General and Inorganic Chemistry, BAS, "Acad. G. Bonchev" str., bl. 11, Sofia, 1113, Bulgaria

Zinc titanate (ZnTiO<sub>3</sub>) is an attractive material due to its various applications as paint pigment, microwave dielectrics, catalysts, etc. In this work nanosized ZnTiO<sub>3</sub> powders were synthesized by means of aqueous and nonaqueous sol-gel methods. For the synthesis of zinc titanate by aqueous route zinc acetate and titanium ethoxide were used as starting materials. The synthesis of nanocrystalline ZnTiO<sub>3</sub> by a nonaqueous route was based on the reaction between TiCl<sub>4</sub>, ZnCl<sub>2</sub> and benzyl alcohol at moderate temperature. The structure and morphology of the resulting particles were characterized by XRD, IR and SEM analysis. The obtained ZnTiO<sub>3</sub> powders showed photocatalytic activity in the degradation of Malachite Green (MG) under UV-light irradiation. The antimicrobial activity of synthesized zinc titanates was investigated towards *Escherichia coli* bacteria.

(Received March 19, 2012; Accepted June 6, 2012)

**Keywords:** ZnTiO<sub>3</sub>, sol-gel methods, photocatalysis, *E. coli*, as a representative species of bacteria

### 1. Introduction

Zinc titanate ceramics attracts the attention of researchers due to their various applications as paint pigments, sorbents, microwave dielectrics, catalysts, etc. [1,2].

The simultaneous synthesis of a ZnO-TiO<sub>2</sub> composite usually results in the formation of one or more of the three known compounds including Zn<sub>2</sub>TiO<sub>4</sub> (zinc orthotitanate), ZnTiO<sub>3</sub> (zinc metatitanate), and the metastable form of zinc metatitanate, Zn<sub>2</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>8</sub> (cubic) [1-3]. The metastable Zn<sub>2</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>8</sub> is regarded as a low-temperature form of ZnTiO<sub>3</sub>, existing below 820°C. Among these compounds, ilmenite type hexagonal ZnTiO<sub>3</sub> based ceramics has been reported to have superior electrical properties [4]. However, pure zinc metatitanate ZnTiO<sub>3</sub> can not be easily obtained because it decomposes into Zn<sub>2</sub>TiO<sub>4</sub> and rutile at temperatures roughly 920-940 °C [2, 4]. The phase transitions of ZnO-TiO<sub>2</sub> system are complex and affected by many factors, such as starting materials and preparation method. Therefore, it is still a challenge to synthesize ZnTiO<sub>3</sub> phase.

Zinc titanates are usually synthesized by conventional solid state reactions at high temperatures [1]. Due to some limitations of solid-state synthesis, such as large grain size and uncontrolled and irregular morphologies, several alternative obtaining methods have been elaborated including mechanochemical activation [5,6], molten salt synthesis [7] and a semi-chemical route combined with vigorous microbeads milling [8,9]. Amongst chemical routes, sol-gel techniques offer important advantages to achieve excellent compositional control, high homogeneity of the products, simple laboratory equipment and, the most significant one, low sintering temperature. Therefore, many efforts have been aimed to produce crystalline ZnTiO<sub>3</sub> at the low crystallisation temperature by sol-gel methods [10-16]. Depending on the solvent used, sol-gel procedures can be aqueous (hydrolytic) and nonaqueous (nonhydrolytic), but the latter is

---

\*Corresponding author: astoy@abv.bg



# Antifungal Susceptibility of *Candida albicans* Isolates at a Tertiary Care Hospital in Bulgaria

Hristina Yotova Hitkova<sup>1,\*</sup>, Diana Simeonova Georgieva<sup>1</sup>, Preslava Mihailova Hristova<sup>1</sup> and Mariya Petrova Sredkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Faculty of Pharmacy, Medical University, Plevan, Bulgaria

\*Corresponding author: Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Faculty of Pharmacy, Medical University, Plevan, Bulgaria. Tel: +359-899116021, Email: hitkova@abv.bg

Received 2019 April 08; Revised 2019 June 22; Accepted 2019 June 24.

## Abstract

**Background:** The precise identification of yeasts and their antifungal sensitivity is a key factor in the choice of a suitable drug for treatment and prevention of fungal infections.

**Objectives:** The aim of the present study was to determine in vitro susceptibility of clinical *Candida albicans* isolates to nine antifungal agents.

**Methods:** A total of 61 *C. albicans* isolates were tested. Antifungal susceptibility was evaluated by determination of minimum inhibitory concentrations (MIC).

**Results:** Fifty *C. albicans* isolates were susceptible to nine antifungal agents. The remaining 11 yeasts were resistant to one or more antifungals. All *C. albicans* were susceptible to amphotericin B with MICs 0.25 to 1 µg/mL and exhibited sensitivity to 5-fluorocytosine with MIC<sub>90</sub> of 0.125 µg/mL. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of fluconazole were 0.5 and 32 µg/mL, whereas the MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of voriconazole were considerably lower - 0.0078 and 2 µg/mL. The isolates showed susceptibility to echinocandins with MIC<sub>90</sub> of micafungin, anidulafungin and caspofungin of 0.015, 0.031, and 0.125 µg/mL, respectively. Of particular interest was detection of seven *C. albicans* isolates, which expressed a high-level resistance to all azoles and one of them was also resistant to echinocandins.

**Conclusions:** In conclusion, detection of resistance in *C. albicans*, which is a species typically susceptible to antifungals, is of great importance for clinical practice.

**Keywords:** *Candida albicans*, Antifungal Agents, Resistance

## 1. Background

Microorganisms of genus *Candida* belong to the normal microbial flora of the oral cavity, gastrointestinal tract, and vagina. Although they normally colonize the human mucosal surfaces, members of the genus could cause a wide range of infections, characterized by different clinical manifestations and severity (1-4). For the needs of the clinical practice, differentiation of *Candida albicans* and non-*albicans* species has been accepted. Nowadays, a shift towards non-*albicans* species is observed, yet *C. albicans* is the most prevalent species (5-11). According to some current publications, the ratio of isolation of this species among the other *Candida* spp. is about 50% (5, 6, 9). *Candida albicans* is still a leading causative agent of candidemias and it is responsible for over 50% of them (12). Therefore, the correct identification and sensitivity testing of *C. albicans* are key points in the choice of an appropriate drug for prophylaxis and treatment of infections, caused by this species.

Azoles are the most commonly used antifungals and they act by inhibiting the cytochrome P-450-dependent enzyme lanosterol 14- $\alpha$ -demethylase. This enzyme is involved in the biosynthesis of the fungal-specific membrane sterol ergosterol. Fluconazole, a member of the triazole group, is the most commonly used agent for treatment of *Candida* infections. It has been shown that *C. albicans* could develop a high-level resistance to azoles, which is associated with the type of infection and previous fluconazole application (10). Echinocandins are a relatively new class of antifungal agents and their mechanism of action is based on inhibiting the  $\beta$ -(1,3)-glucan synthetase enzyme. These antifungals possess fungicidal activity against azole-susceptible and azole-resistant *Candida* isolates (13, 14). Resistance to caspofungin was first reported in 2005 among *Saccharomyces cerevisiae*, *C. albicans*, and *C. krusei* strains (15). Generally, echinocandin resistance in *Candida* spp. still remains low; less than 3% (16).



# Antifungal Susceptibility of Non-*albicans Candida* Species in A Tertiary Care Hospital, Bulgaria

Hristina Yotova Hitkova <sup>1,\*</sup>, Diana Simeonova Georgieva <sup>1</sup>, Preslava Mihailova Hristova <sup>1</sup>, Teodora Vasileva Marinova-Bulgaranova <sup>1</sup>, Biser Kirilov Borisov <sup>2</sup> and Vladimir Georgiev Popov <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Faculty of Pharmacy, Medical University - Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Clinic of Nephrology and Dialysis, Medical University - Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup>Department of Propedeutics of Internal Diseases, Faculty of Medicine, Medical University - Pleven, Bulgaria

\*Corresponding author: Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Faculty of Pharmacy, Medical University - Pleven, Bulgaria. Email: hitkova@abv.bg

Received 2020 February 12; Revised 2020 September 28; Accepted 2020 September 30.

## Abstract

**Background:** Emerging non-*albicans Candida* (NAC) species are a major threat because of their intrinsic or acquired resistance to routinely applied antifungal agents.

**Objectives:** The purpose of our study was to reveal *in vitro* activity of nine antifungal agents against NAC isolates.

**Methods:** A total of 67 NAC (27 *Candida glabrata*, 10 *C. tropicalis*, 6 *C. krusei*, 6 *C. parapsilosis*, 4 *C. lusitaniae*, 4 *C. lipolytica*, etc.) were identified and tested. The antifungal susceptibility was estimated on the basis of minimum inhibitory concentrations (MIC).

**Results:** Overall, 13 species were determined, of which *C. glabrata* was the most common (40.3%), followed by *C. tropicalis* (14.9%), *C. krusei*, and *C. parapsilosis* (8.9% each). Forty-nine NAC isolates (73.13%) demonstrated decreased susceptibility to one or more antifungals, and 18 of them were resistant to all azoles. Out of 27 *C. glabrata*, 12 (44.4%) were resistant to fluconazole with MICs: 32-128 µg/mL and 15 (55.6%) were intermediate with MICs: 8-16 µg/mL. Non-*albicans Candida* revealed a good susceptibility to echinocandins. Amphotericin B resistance was found in 5.97% of the isolates. Of particular interest was the detection of 6 (8.95%) multidrug-resistant NAC, which expressed resistance to azoles and echinocandins and/or amphotericin B.

**Conclusions:** About one-fourth of the studied NAC were resistant to all azoles. These findings as well as the detection of several multidrug-resistant isolates determine the necessity of susceptibility testing of clinically important yeast isolates and control of the antifungal drugs in our hospital.

**Keywords:** Non-*albicans Candida*, Resistance, Antifungal Agents

## 1. Background

Over the past decades, the incidence of *Candida* infections among hospitalized patients has progressively increased. This is a consequence of the frequent usage of broad-spectrum antibiotics, admission to critical care settings, invasive manipulations, surgical procedures, indwelling devices, transplantation, chemotherapy, immunosuppression, etc. (1-6). In the USA, the rate of fungal infections rose from 6% in 1980 to 10.4% in 1990 and about 80% of them were caused by *Candida* species (7). Also, the proportion of *Candida* spp. among isolates from blood cultures increased from 8% in 1995 to 12% in 2002 (8).

Nowadays, a shift toward non-*albicans Candida* (NAC) species has been observed (9). Emerging NAC such as *Candida glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, and *C. krusei* can cause various superficial, disseminated and deep-tissue infections, but the species involvement depends on infection

sites and geography regions (10, 11). As is well known, NACs have reduced sensitivity to clinically relevant antifungal agents due to intrinsic or acquired resistance (12, 13). *Candida krusei* is considered inherently resistant to fluconazole and *C. glabrata* may be echinocandin resistant in association with cross-resistant to azoles (14). With the increasing rate of *Candida* infections and the emergence of resistant strains, it is essential to perform routine antifungal susceptibility testing of clinical yeast isolates (15). Despite a large number of reports on spreading *Candida* species worldwide and detection of yeasts resistant to antifungals, there are scant data for Bulgaria (16, 17).

## 2. Objectives

The purpose of our study was to reveal *in vitro* activity of nine antifungal agents against NAC isolates.

**EVALUATION OF THREE CHROMOGENIC MEDIA  
AND A SELECTIVE BROTH FOR DETECTION  
OF VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCI  
FROM RECTAL SWAB SPECIMENS**

Preslava M. Hristova, Hristina Y. Hitkova, Diana S. Georgieva,  
Gergana V. Todorova\*, Mariya P. Sredkova

(Submitted by Academician I. Ivanov on March 9, 2019)

**Abstract**

The early detection of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples is of particular importance in order to establish proper infection control measures. The aim of this study was to compare three chromogenic agar media and bile esculin azide broth with 6 µg/ml vancomycin for detection of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from rectal swab specimens in patients undergoing hemodialysis. A total of 159 rectal swabs were collected from 97 patients. The samples were plated onto the three chromogenic media and also into bile esculin azide broth. Overall, seven vancomycin-resistant *E. faecium* were recovered from the tested specimens. Six of them were detected on the three chromogenic media and the bile esculin azide broth, whereas one vancomycin-resistant *E. faecium* strain was isolated only from the broth. Likewise, 25 enterococcal isolates with VanC phenotype (15 *Enterococcus gallinarum* and 10 *Enterococcus casseliflavus*) and one *E. gallinarum* isolate with VanA phenotype were recovered from the broth. Additionally, two of the isolated enterococci with VanC phenotype were also growing on HiCrome VRE Modified medium. The sensitivity of the tested chromogenic media was 85.7%, while the bile esculin azide broth revealed sensitivity of 100%. Brilliance VRE or chromID VRE in combination with BEAV broth are the most appropriate media for the isolation of VRE from fecal samples.

**Key words:** Brilliance VRE, chromID VRE, HiCrome VRE Modified

---

This study was carried out with financial support of Medical University of Pleven through University Grants Commission (Project No 17/2017).

DOI:10.7546/CRABS.2021.08.05

MOLECULAR-GENETIC INDICATORS AS PART  
OF AN EPIDEMIOLOGIC STUDY ON PATIENTS  
WITH VIRUS HEPATITIS C

Kalina Terzieva<sup>#</sup>, Metody Kunchev<sup>\*</sup>, Hristina Hitkova<sup>\*\*</sup>,  
Tzetzta Doichinova, Tanya Petkova, Krasimir Mekoushinov<sup>\*</sup>,  
Dimitar Shalamanov

(Submitted by Academician A. Galabov on October 2, 2018)

**Abstract**

Understanding epidemiologically significant viremia associated with hepatic C virus (HCV) is currently based on confirmed positive RNA test, i.e. defined viral load. Together with defining the genotype, these two criteria are recognized as key elements in modern epidemiological research on the disease. The addition of the two genetic-molecular to the routinely used serological method for detecting antibodies optimizes research. We investigated 14 patients (carriers and with HCV) with proved virus C hepatitis. Real-time polymerase chain reaction was applied to define the viral load and the subgenotype. Retrospective data were collected on the epidemiological status of the patients. The epidemiological risk was evaluated for the individual cases. The viral load established in eight patients proved negative (below the lower limit for quantitative evaluation). The results were positive (above the upper limit) in six patients. The values for the latter group varied between 1849 and 39 721 copies per millilitre of blood. The history of 11 patients revealed one or more risk factors. Seven patients had one risk factor, two were with two risk factors. Three patients had two risk factors. All virus isolates proved to be of genotype 1b. The infection process in all the patients investigated was classified as mild (a level lower than  $10^6$  viral copies/ml). The highest values established were in a patient with three risk factors: intravenous drug use, several tattoos and

---

<sup>#</sup>Corresponding author.

DOI:10.7546/CRABS.2021.04.15





# Prevalence of Genes Encoding Resistance to Aminoglycosides and Virulence Factors Among Intestinal Vancomycin-Resistant Enterococci

Preslava Mihaylova Hristova <sup>1,\*</sup>, Vladislav Milkov Nankov <sup>2</sup>, Ivan Stoikov <sup>3</sup>, Ivan Nikolaev Ivanov <sup>3</sup>, Vessela Vaskova Ouzounova-Raykova <sup>4</sup> and Hristina Yotova Hitkova <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Virology, Medical University-Pleven, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Scientific Molecular Laboratory, Medical University-Pleven, Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup>National Reference Laboratory for Control and Monitoring of Antimicrobial Resistance, National Center of Infectious and Parasitic Diseases-Sofia, Sofia, Bulgaria

<sup>4</sup>Department of Medical Microbiology, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria

\*Corresponding author: Department of Microbiology and Virology, Medical University-Pleven, Pleven, Bulgaria. Email: [preslava.hristova\\_91@abv.bg](mailto:preslava.hristova_91@abv.bg)

Received 2022 May 20; Revised 2022 October 07; Accepted 2022 October 25.

## Abstract

**Background:** Vancomycin-resistant enterococci (VRE) are recognized as nosocomial pathogens with increased importance in recent years. These bacteria are frequently isolated from patients admitted to intensive care units (ICUs). Enterococcal pathogenicity is enhanced by different antibiotic resistance and virulence determinants.

**Objectives:** The present study aimed to assess the prevalence of genes encoding resistance to antibiotics and virulence factors in intestinal VRE isolates from ICU patients.

**Methods:** In this study, 23 VREs were investigated. Minimum inhibitory concentrations (MICs) to nine antimicrobial agents were examined using E-test. Genes encoding vancomycin resistance (*vanABCDMN*), aminoglycoside-modifying enzymes (*aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *aph(3')-IIIa*, *ant(3')-Ia*, *ant(4')-Ia*, *ant(6')-Ia*), together with genes for various virulence factor (*ace/acm*, *asa1*, *cylA*, *efaA*, *esp*, *gelE* and *hyl*), were detected using multiplex PCR.

**Results:** The species distribution of the tested VRE was as follows: Nine *Enterococcus casseliflavus*, seven *E. gallinarum*, and seven *E. faecium*. The *vanA* gene was found in all *E. faecium*, in six of which the classical VanA phenotype was observed. The vancomycin (vanC) phenotype was associated with the presence of *vanC1* gene in *E. gallinarum* and the *vanC2* gene in *E. casseliflavus* isolates. The *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* gene was encoding high-level gentamicin resistance (HLGR) in the studied VRE. All *E. faecium* were positive for *acm* and *esp*, while *acm* in combination with *esp* or *hyl* was detected in 2 vanC enterococci.

**Conclusions:** According to the findings, there was a correlation between the phenotype and the genotype of glycopeptide resistance in the tested VRE. HLGR was more prevalent in *E. faecium* because of the presence of *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*. The higher prevalence of virulence determinants was confirmed in *vanA* isolates compared to the studied *vanC*-carrying enterococci.

**Keywords:** Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE), Prevalence, Virulence Factors, Intensive Care Unit (ICU)

## 1. Background

The distinctive characteristic of enterococci is intrinsic resistance to  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, and several other classes of antibiotics. Moreover, these microorganisms can acquire resistance to quinolones, tetracyclines, oxazolidinones, aminoglycosides, and glycopeptides (e.g., vancomycin) via transposons or plasmids (1-3). High-level aminoglycoside resistance (HLAR) is mediated by modifying either aminoglycoside aminoglycoside-modifying enzymes (AMEs) or ribosomal attachment sites. Because of AMEs encoded by mobile genetic elements, HLAR enterococci are becoming more prevalent (4). The

most commonly spread AME is the bifunctional enzyme AAC (6')-APH (2''), which confers resistance to a broad spectrum of aminoglycosides. This enzyme is encoded by the *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* gene (5, 6). Other AMEs, including 2'-O-phosphotransferase, 6'-O-adenyltransferase, 3'-O-phosphotransferase, 4-O-adenyltransferase, and 3'-O-adenyltransferase are also encoded by genes located on mobile genetic elements. Furthermore, enterococci produce many virulence factors, including gelatinase, hyaluronidase, aggregation substance, endocarditis antigen, enterococcal surface protein, collagen-binding protein, and cytolysin (7-9).



# A Significant Role of Nontypeable *Haemophilus influenzae* in Acute Otitis Media in Bulgarian Children

Alexandra Sashova Alexandrova<sup>1</sup> Preslava Hristova<sup>2</sup> Hristina Hitkova<sup>2</sup> Raina Tsvetanova Gergova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Microbiology, Medical Faculty, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria

<sup>2</sup> Department of Microbiology and Virology, Medical University – Pleven, Pleven, Bulgaria

**Address for correspondence** Alexandra Sashova Alexandrova, PhD, Senior Assistant Professor, Department of Medical Microbiology, Medical University of Sofia, Medical Faculty, 1, G. Sofiiski Boul., 1431-Sofia, Bulgaria (e-mail: alexandrova\_sa@medfac.mu-sofia.bg).

J Pediatr Infect Dis

## Abstract

**Objective** We conducted a study on *Haemophilus influenzae* isolates recovered from children with acute otitis media (AOM). We aimed to establish the distribution of noncapsulated (also known as nontypeable *Haemophilus influenzae* [NTHi]) and encapsulated *H. influenzae* in the study population, and the antimicrobial susceptibilities of the isolates.

**Methods** We collected 113 nasopharyngeal swabs and 91 middle ear fluids/otorrhea specimens from patients up to 9 years of age with AOM. Of these, 26.1% ( $n = 53$ ) were culture-positive for *H. influenzae*. Only one episode of AOM was included per patient. Conventional tests and rapid panel Neisseria/Haemophilus panel were used for the identification of the isolates. Detection of encapsulated and noncapsulated strains was done by polymerase chain reaction (PCR) for *bexA* gene. PCR-serotyping was performed for capsule types: “a” and “f.” Biotypes were assigned based on the indole, urease, and ornithine decarboxylase activity. Susceptibility testing was performed according to the criteria of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

**Results** Capsule determination showed that 96.2% of *H. influenzae* isolates responsible for “mild” and “severe” AOM cases in children were NTHi. Biotype I was predominantly associated with AOM isolates. Capsule types “a” and “c” were found in two isolates. Antibiotic resistance was found in 39.6% of the isolates. The highest resistance rate was for trimethoprim-sulfamethoxazole (37.7%). About 20.7% of isolates were ampicillin-resistant: 5.6% expressed a  $\beta$ -lactamase, and 15.1% had a  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant phenotype.

**Conclusion** The current prevalence rates of nonsusceptible *H. influenzae* to ampicillin appear to be low among AOM. NTHi is an emergent pathogen in AOM cases. Ongoing observations are needed about how NTHi colonizes, survives, and evolves into a leading causative agent of *H. influenzae* diseases.

## Keywords

- ▶ nontypeable *H. influenzae*
- ▶ acute otitis media
- ▶ PCR-serotyping
- ▶ antimicrobial resistance

received  
October 12, 2022  
accepted after revision  
January 26, 2023

© 2023, Thieme. All rights reserved.  
Georg Thieme Verlag KG,  
Rüdigerstraße 14,  
70469 Stuttgart, Germany

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-1764213>.  
ISSN 1305-7707.



# The Brazilian Journal of INFECTIOUS DISEASES

www.elsevier.com/locate/bjid



## Case Report

# Pediatric case of septic arthritis due to *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A

Preslava M. Hristova <sup>a,\*</sup>, Hristina Y. Hitkova <sup>a</sup>, Nikolay K. Balgaranov <sup>b</sup>,  
Raina T. Gergova <sup>c</sup>, Alexandra S. Alexandrova <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Medical University – Pleven, Department of Microbiology and Virology, Pleven, Bulgaria

<sup>b</sup> Medical University – Pleven, Department of Pediatrics, Pleven, Bulgaria

<sup>c</sup> Medical University of Sofia, Department of Medical Microbiology, Sofia, Bulgaria

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 25 October 2022

Accepted 8 January 2023

Available online 31 January 2023

### Keywords:

*Streptococcus pneumoniae*

Arthritis

Serotyping

MLST

## ABSTRACT

In recent years, the incidence of pediatric septic arthritis caused by *Streptococcus pneumoniae* has been quite low. The pneumococcal conjugate vaccine PCV10 is the available vaccine included in the Bulgarian national immunization program. PCV10 reduces the incidence of invasive diseases, but non-vaccinal serotypes like 19A, the etiologic agent of the case of septic arthritis reported herein in a 3-year-old boy. The synovial fluid was positive for *S. pneumoniae*. The patient was treated with vancomycin during hospitalization and trimethoprim/sulfamethoxazole was recommended for at-home treatment. The isolate was subjected to latex agglutination, antimicrobial susceptibility testing, PCR detection for macrolide-resistance genes, and MLST. The strain revealed ST695 and a genotype previously associated with vaccine serotype 4. The incidence of pneumococcal infections caused by capsule-switching events and non-PCV10 serotypes is expected to increase.

© 2023 Sociedade Brasileira de Infectologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

## Introduction

Septic arthritis (SA) is a severe inflammation that affects the joint fluid and tissues and requires prompt diagnosis and treatment. The most common causative agent of this infection in children is *Staphylococcus aureus*.<sup>1-3</sup> Bacterial SA is also caused by *Streptococcus pyogenes*, *Kingella kingae*, and rarely with *Streptococcus pneumoniae*.<sup>1,2,4</sup> According to an European study from 2021,<sup>1</sup> just 6.5% of pediatric osteoarticular infections are caused by *S. pneumoniae*. Cohen et al.<sup>2</sup> reported

pneumococcal SA in 1.6% of the investigated children. Osei et al. found no case of *S. pneumoniae* in patients with SA.<sup>5</sup>

*S. pneumoniae* is a vaccine-preventable agent. Since April 2010, PCV10 (Synflorix) is licensed for routine immunization in Bulgaria. The vaccination schedule for PCV10 in our country is carried out with two vaccines at two and four months of age and re-immunization with one vaccine at 12 months of age. The PCV10 reduce dramatically the incidence of invasive pneumococcal disease but also result in the spread of new emergent and adaptive non-vaccine serotypes. Pneumococcal serotypes associated with invasive infections in children vary between different countries. In Canada, the serotypes 7F, 19A, and 33F were predominant,<sup>6</sup> whereas in China 19F was most common, followed by 19A, 14, 23F, 6A, and 6B.<sup>7</sup>

\* Corresponding author.

E-mail address: [preslavahristova@outlook.com](mailto:preslavahristova@outlook.com) (P.M. Hristova).  
<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102742>

1413-8670/© 2023 Sociedade Brasileira de Infectologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

RESEARCH

Open Access



# Gut colonization with vancomycin-resistant enterococci among patients with hematologic malignancies

Preslava Mihaylova Hristova<sup>1\*</sup>, Vladislav Milkov Nankov<sup>2</sup>, Ivaylo Georgiev Hristov<sup>3</sup>, Stefan Venelinov Trifonov<sup>2</sup>, Alexandra Sashova Alexandrova<sup>4</sup> and Hristina Yotova Hitkova<sup>1</sup>

## Abstract

**Background** Vancomycin-resistant enterococci (VRE) are well known agents that colonize the gastrointestinal tract of immunocompromised patients, especially those with hematologic malignancies. The aim of the current study was to determine the incidence of and risk factors for colonization with VRE among patients with hematologic malignancies.

**Materials** For a nine-month period, all patients admitted to the Hematology ward at University Hospital in Pleven, Bulgaria who had hematologic malignancy and duration of hospitalization of more than 48 h were screened for colonization with VRE. The data collected from patients and their medical records during the entire hospital stay included: demographic characteristics, clinical information and information about all antimicrobials used. A longitudinal study was used to assess the risk factors and statistical analysis was performed using SPSS version 27.0.

**Results** A total of 119 patients were enrolled in the study. Colonization with VRE was established in 18 of them. One patient carried two species, resulting in a total of 19 VRE: 12 *Enterococcus gallinarum*, 4 *Enterococcus casseliflavus*, 2 *Enterococcus faecium* and 1 *Enterococcus faecalis*. VanA phenotype, with high-level resistance of vancomycin (MIC  $\geq$  256  $\mu$ g/ml) and teicoplanin (MIC = 96  $\mu$ g/ml), was demonstrated by one *E. faecium*, which carried *vanA*. The other *E. faecium* and *E. faecalis* expressed low-level resistance to vancomycin (MICs: 8  $\mu$ g/ml and 12  $\mu$ g/ml), susceptibility to teicoplanin (MICs = 0.5  $\mu$ g/ml) and *vanB* was detected. All *E. gallinarum* and *E. casseliflavus* showed low-level resistance to vancomycin and susceptibility to teicoplanin. *E. gallinarum* strains were positive for *vanC1* and *E. casseliflavus* for *vanC2*. Only two patients were colonized with *vanA* or *vanB* enterococci and the rest 16 were positive for *vanC*. The univariate analysis revealed that patient's age (70–79 years;  $p = 0.025$ ) and multiple myeloma ( $p = 0.001$ ) are risk factors for VRE acquisition among the investigated patients. In addition, the multivariate analysis confirmed that patient's age (70–79 years) is an independent risk factor for VRE colonization.

**Conclusions** Our results showed that 15.1% of patients with hematologic malignancies were colonized with VRE. There was a distinct prevalence of vanC enterococci. Among the analyzed risk factors, advanced age and multiple myeloma contributed to VRE acquisition.

**Keywords** Vancomycin resistance, Hematologic malignancies, Colonization, Risk factors

\*Correspondence:

Preslava Mihaylova Hristova  
preslavahristova@outlook.com

<sup>1</sup> Department of Microbiology and Virology, Faculty of Pharmacy, Medical University Pleven, 1 St. Kliment Ohridski Str., 5800 Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup> Department of Anatomy, Histology, Cytology and Biology, Medical University Pleven, Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup> Section of Hematology, Department of Nephrology, Hematology and Gastroenterology, Medical University Pleven, Pleven, Bulgaria

<sup>4</sup> Department of Medical Microbiology, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

BRIEF REPORT

Open Access



# Risk factors for gut colonization with vancomycin-resistant enterococci among Bulgarian critically ill patients

Preslava M. Hristova<sup>1\*</sup>, Teodora V. Marinova-Bulgaranova<sup>1</sup>, Tanya V. Strateva<sup>2</sup>, Stefan V. Trifonov<sup>3</sup> and Hristina Y. Hitkova<sup>1</sup>

## Abstract

Vancomycin-resistant enterococci (VRE) are recognized as important hospital pathogens which have become common in patients admitted to the intensive care units (ICUs). The purpose of this study was to evaluate the incidence of and the risk factors for colonization with VRE among ICU patients. A total of 91 patients who had duration of hospitalization more than 48 h and without infection caused by VRE or/and other microorganisms in the ICU at University Hospital, Pleven were screened for colonization with VRE. The following data were collected: demographic characteristics, clinical information and antimicrobials use. The statistical analysis was performed using SPSS version 27.0. Colonization with VRE was established in 22 patients and one was carrying two enterococcal species. A total of 23 VRE were isolated. The univariate analysis showed that the postoperative critical cares ( $p < 0.001$ ), cardiovascular diseases ( $p = 0.009$ ) and the presence of an endotracheal tube ( $p = 0.003$ ) were risk factors for colonization with VRE. Also, the postoperative critical cares ( $p = 0.021$ ) and cardiovascular diseases ( $p = 0.018$ ) were confirmed as independent risk factor for VRE acquisition by multivariate analysis. The prevalence of VRE colonization among the ICU patients was relatively high (24.2%). Risk factors for acquisition of intestinal VRE were the postoperative cares, cardiovascular diseases and the presence of an endotracheal tube.

**Keywords** Vancomycin-Resistant Enterococci, Intensive care units, Risk factors

## Main text

Vancomycin-resistant enterococci (VRE) are one of the multidrug-resistant pathogens with the highest hospital prevalence. Their ecological plasticity, ability to colonize the human intestinal tract, as well as prolonged decolonization thereafter are prerequisites for their widespread nosocomial dissemination [1]. The colonization with VRE precedes and plays a key role in the epidemiology of enterococcal healthcare-associated infections [2, 3]. The incidence of VRE colonization and infection is highest among patients with bone marrow transplantation and those who are treated in intensive care units (ICUs), while it is insignificant in immunocompetent individuals [4].

\*Correspondence:

Preslava M. Hristova  
preslavahristova@outlook.com

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Virology, Medical University - Pleven, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria

<sup>3</sup>Department of Anatomy, Histology, Cytology and Biology, Medical University - Pleven, Pleven, Bulgaria



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Case Report

# Catheter-Related Bloodstream Infection in Hemodialysis Patient due to *Atlantibacter hermannii*

Preslava M. Hristova<sup>a</sup> Alexandra S. Alexandrova<sup>b</sup> Martin Lucanov<sup>c</sup>  
Hristina Y. Hitkova<sup>a</sup> Biser Kirilov Borisov<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Department of Microbiology and Virology, Medical University – Pleven, Pleven, Bulgaria;

<sup>b</sup>Department of Medical Microbiology, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria; <sup>c</sup>Department of Cardiology, Medical University – Pleven, Pleven, Bulgaria; <sup>d</sup>Department of Nephrology and Dialysis, Medical University – Pleven, Pleven, Bulgaria

## Keywords

Hemodialysis · *Atlantibacter hermannii* · Catheter-related bloodstream infection

## Abstract

*Atlantibacter hermannii*, previously known as *Escherichia hermannii*, is a rare causative agent of human infections. Several reports testify that the most frequently infected patients are immunosuppressed, especially those undergoing hemodialysis. A 34-year-old man with an end-stage renal disease complained of chills, fever, and general fatigue at the end of a regular hemodialysis session. The echocardiographic examination showed vegetation located on the dialysis catheter in the right atrium. Empirical therapy was initiated with intravenous gentamicin, and after the isolation of the agent, the treatment was continued with intravenous imipenem/cilastatin. The blood cultures and the tip of the replaced catheter were positive for *A. hermannii*, identified by Vitek 2 Compact. Verification of the automated identification was performed using 16S sequencing. The 16S sequence product was used to query the NCBI bacterial database and revealed 99.75% identity to that of *A. hermannii* strain CIP 103176 16S ribosomal RNA in the NCBI GenBank database. The antimicrobial susceptibility results revealed resistance to aminopenicillins and susceptibility to all other tested antimicrobials. To our knowledge, this is the first report of catheter-related vegetation with echocardiographic confirmation and the successful eradication of *A. hermannii* infection in a patient undergoing hemodialysis with imipenem/cilastatin.

© 2023 The Author(s).  
Published by S. Karger AG, Basel

Correspondence to:  
Preslava M. Hristova, [preslavahristova@outlook.com](mailto:preslavahristova@outlook.com)

**Христина Хиткова**

**АНТИМИКРОБНИ СВОЙСТВА НА  
ТИТАНОВ ОКСИД**

**Издателски център "МУ – Певен"**

**2023**



**МОДЕЛ НА ЕПИДЕМИОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ ПРИ ВИРУСЕН ХЕПАТИТ С –  
ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД И ПРЕДСТАВЯНЕ НА СЛУЧАИ С ОСНОВНО  
ХЕМАТОЛОГИЧНО ЗАБОЛЯВАНЕ**

**К. Терзиева<sup>1</sup>, В. Цинцарска<sup>2</sup>, М. Кунчев<sup>3</sup>, Ц. Дойчинова<sup>1</sup>, Хр. Хиткова<sup>1</sup>, Т. Петкова<sup>1</sup>, В. Дойчева<sup>4</sup>,  
Д. Шаламанов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Медицински университет – Плевен

<sup>2</sup>УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен

<sup>3</sup>Военномедицинска академия – София

<sup>4</sup>Медицински университет – София

**A MODEL OF AN EPIDEMIOLOGICAL STUDY ON HEPATITIS C:  
LITERATURE REVIEW AND PRESENTATION OF CASES  
WITH PRIMARY HEMATOLOGICAL DISEASE**

**K. Terzieva<sup>1</sup>, V. Tsintsarska<sup>2</sup>, M. Kunchev<sup>3</sup>, Tz. Doichinova<sup>1</sup>, Hr. Hitkova<sup>1</sup>, T. Petkova<sup>1</sup>, V. Doycheva<sup>4</sup>,  
D. Shalamanov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Medical University – Pleven

<sup>2</sup>UMHAT "D-r Georgi Stranski" – Pleven

<sup>3</sup>Military Medical Academy – Sofia

<sup>4</sup>Medical University – Sofia

**Резюме. Цел:** Приложение на молекулярно-генетични методи за определяне на вирусен товар и генотипизиране на хепатитен вирус С в ретроспективно епидемиологично проучване на двама пациенти с диагноза хемофилия – вроден дефицит на фактор VIII и придружаващо заболяване вирусен хепатит С. **Материал и методи:** Изследвани са кръвни проби на пациентите за вирусен товар и е определен генотипа на HCV по методиката RT-PCR при следните параметри: граница на доказуема вирусемия > 1000 сору/ml, идентификация, съобразена с преобладаващите за страната и Европа субгенотипове на HCV – 1a, 1b, 2, 3, 4, 5a и 6. **Резултати:** При двамата пациенти вирусният товар е в нива под границата за количествено определяне концентрацията на HCV. Идентифициран е генотип 1b. **Изводи:** Данните от анамнезите и социално-демографския профил на двамата болни показват, че те се отнасят единствено към рисковата група лица, на които са вливани биопродукти – кръвосъсирващ фактор VIII, продължително време преди въвеждане на задължителния скрининг на кръвта за HCV. Няма данни за принадлежност към друга рискова група. Инфекцията протича сравнително леко и епидемичният риск е нисък. Приемаме хипотезата за автохтонна поява на случаите. Литературната справка потвърждава внедряването на молекулярно-генетичните методи в епидемиологичното проучване.

**Ключови думи:** хемофилия, вирусен хепатит С, вирусен товар, генотипизиране, епидемичен риск

**Abstract. Objective:** The study includes the application of molecular genetic methods for determination of viral load and genotyping of hepatitis C virus for evaluation of the epidemic status of patients diagnosed with hemophilia and concurrent virus hepatitis C. **Material and Methods:** A retrospective epidemiological study

**ОСНОВНАТА ЕПИДЕМИОЛОГИЧНА ПАРАДИГМА В КОНТЕКСТА  
НА ВИРУСЕН ХЕПАТИТ С**

**ЧАСТ I. БИОЛОГИЧНА КОМПОНЕНТА НА ЕПИДЕМИЧНИЯ ПРОЦЕС.  
ПРИЧИНИТЕЛ, ИЗТОЧНИЦИ НА ИНФЕКЦИЯ И РЕЗЕРВОАР В ОБЩЕСТВОТО**

К. Терзиева<sup>1</sup>, В. Дойчева<sup>2</sup>, Т. Петкова<sup>1</sup>, М. Кунчев<sup>3</sup>, Хр. Хиткова<sup>4</sup>, Т. Върлева<sup>4</sup>, Д. Шаламанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Медицински университет – Плевен, <sup>2</sup>Медицински университет – София

<sup>3</sup>Военномедицинска академия – София, <sup>4</sup>Министерство на здравеопазването

**BASIC EPIDEMIOLOGICAL PARADIGM IN THE CONTEXT OF VIRUS HEPATITIS C  
PART I. BIOLOGICAL COMPONENT OF THE EPIDEMIC PROCESS. CAUSATIVE  
AGENT, SOURCES OF INFECTION AND RESERVOIR IN THE COMMUNITY**

K. Terzieva<sup>1</sup>, V. Doicheva<sup>2</sup>, T. Petkova<sup>1</sup>, M. Kunchev<sup>3</sup>, Hr. Hitkova<sup>4</sup>, T. Varleva<sup>4</sup>, D. Shalamanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical University – Pleven, <sup>2</sup>Medical University – Sofia

<sup>3</sup>Military Medical Academy – Sofia, <sup>4</sup>Ministry of Health

**Резюме.** Вирусният хепатит С се явява глобален съвременен проблем. От епидемиологична гледна точка се откроява значението на молекулярнодиагностичните методи за изучаване пространствената епидемиология на заболяването. Обзорът отразява натрупаните до момента знания относно генетичната характеристика и екологичните отношения на вируса причинител, патогенезата от епидемиологична гледна точка, особеностите на източника на инфекция, рисковите групи и актуалния човешки резервоар. Разгледани и оценени са рисковете от инфекциране. Направен е критичен анализ на информацията в литературата, публикувана от водещите изследователи по проблема. Представени са и резултати от собствени проучвания на колектива върху генотипизиране и определяне на вирусния товар на хепатитен вирус С.

**Ключови думи:** епидемиологична парадигма, вирусен хепатит С, източници, генотипизиране, екология, рискови групи

**Abstract.** Virus hepatitis C is a global problem today. The importance of molecular diagnostic methods for studying the spatial epidemiological aspect of the disease is highlighted. The review presents the knowledge accumulated so far on the genetic characteristics and the ecological aspects of the virus, the pathogens in its epidemiological aspect, the features of the source of infection, risk groups and the relevant human reservoir. Risks for infection are presented and estimated. The information published by leading researchers in the literature is presented and analyzed in detail. Data are presented from studies carried out by the team on genotyping and defining the viral load in cases of hepatitis C virus.

**Key words:** epidemiological paradigm, viral hepatitis C, viral load, sources, genotyping, risk groups

### ВЪВЕДЕНИЕ

Втората половина на XX век е период на забележителни постижения в изучаването на вирусните хепатити. Приложението на интегриран

подход в различните направления на инфектологията с включване на методики от молекулярната биология предостави добри възможности за изясняване на важни страни от етиологията, пато-

## ОСНОВНАТА ЕПИДЕМИОЛОГИЧНА ПАРАДИГМА В КОНТЕКСТА НА ВИРУСЕН ХЕПАТИТ С

### ЧАСТ II. СОЦИАЛЕН КОМПОНЕНТ НА ЕПИДЕМИЧНИЯ ПРОЦЕС. МЕХАНИЗЪМ, ФАКТОРИ И ПЪТИЩА НА ПРЕДАВАНЕ НА ВИРУСА ПРИЧИНИТЕЛ

К. Терзиева<sup>1</sup>, В. Дойчева<sup>2</sup>, Т. Петкова<sup>1</sup>, И. Попиванов<sup>3</sup>, Хр. Хиткова<sup>1</sup>, Т. Върлева<sup>4</sup>, Д. Шаламанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Медицински университет – Плевен, <sup>2</sup>Медицински университет – София

<sup>3</sup>Военномедицинска академия – София, <sup>4</sup>Министерство на здравеопазването

## BASIC EPIDEMIOLOGICAL PARADIGM IN THE CONTEXT OF VIRUS HEPATITIS C PART II. THE SOCIAL ASPECT OF THE EPIDEMIOLOGICAL PROCESS. MECHANISM, FACTORS AND ROUTES OF TRANSMISSION OF THE CAUSATIVE VIRAL AGENT

K. Terzieva<sup>1</sup>, V. Doicheva<sup>2</sup>, T. Petkova<sup>1</sup>, I. Popivanov<sup>3</sup>, Hr. Hitkova<sup>1</sup>, T. Varleva<sup>4</sup>, D. Shalamanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical University – Pleven, <sup>2</sup>Medical University – Sofia

<sup>3</sup>Military Medical Academy – Sofia, <sup>4</sup>Ministry of Health

**Резюме.** Механизмът на предаване на вирусния хепатит С се обуславя предимно от социални фактори. Обзорът отразява натрупаните към момента знания за начините на предаване на причинителя на тази инфекция. Подбрана е литературна информация по проблема, която е интерпретирана в контекста на съвременната епидемиологична парадигма. Представени са исторически данни, отразяващи обособяването на заболяването като самостоятелна нозологична единица на базата на критерия механизъм на предаване. Подробно са разгледани парентералният, сексуалният и вертикалният механизъм на предаване и факторите, които реализират тези механизми. Направен е преглед на ефикасността на отделните пътища и са оценени рисковете за възможно заразяване при настъпил инцидент.

**Ключови думи:** вирусен хепатит С, механизъм на предаване, фактори на предаване, епидемиологична парадигма, инфекциозен риск, епидемичен риск

**Abstract.** The route of transmission of Virus Hepatitis C is determined mostly by social factors. The review presents the knowledge of the routes of transmission of the virus. Information from the literature on the problem has been selected and interpreted in the context of the current epidemiological paradigm. Historical data are presented on the process of establishing the disease as a separated disease entity, based on the route of transmission. The parenteral, sexual and vertical mechanisms of transmission and the factors that make the transmission possible are analysed in detail. The efficacy of the seroutes has been considered. The risks of a possible incidental infection are assessed.

**Key words:** hepatitis C virus infection, mechanism of transmission, factors of transmission, epidemiological paradigm, risk for infection, epidemiological risk





## ENTEROCOCCUS AND ENTEROCOCCUS-LIKE ORGANISMS RECOVERED IN FAECAL SCREENING FOR VANCOMYCIN-RESISTANCE

Hristina Y. Hitkova, Preslava M. Hristova

Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Faculty of Pharmacy, Medical University - Pleven, Bulgaria.

### ABSTRACT

**Background:** Fecal screening of patients for vancomycin-resistant enterococci (VRE) is recommended in an attempt to establish infection control measures. Culture-based methods for VRE detection are widely used, but particular attention should be paid to correct identification of growing isolates. This study is focused on species identification and antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant enterococci and other Gram-positive catalase-negative cocci, recovered from VRE screen cultures.

**Materials and methods:** A total of 109 immunocompromised patients from University Multiprofile Hospital for Active Treatment “Dr G. Stranski”, Pleven were screened for VRE. The determination of cocci was relied on cultural characteristics, manual and automated systems for identification as well as data on antimicrobial sensitivity.

**Results:** A total of 57 Gram-positive catalase-negative cocci were isolated: 32 VRE, 11 vancomycin-susceptible enterococci and 14 enterococcus-like organisms. Colonization with VanA or VanC enterococci was detected in 29.35% of the patients, with a distinct prevalence of VanC (23.85%) over than VanA (5.50%). Six enterococci were confirmed as *vanA* genotype – 5 *E. faecium* and 1 *E. gallinarum*. All *E. faecium* isolates expressed high-level resistance to vancomycin (MICs  $\geq 256$   $\mu\text{g/ml}$ ) and low-level resistance to teicoplanin (MICs: 4.0-6.0  $\mu\text{g/ml}$ ), whereas a single *E. gallinarum* isolate showed MICs  $\geq 256$   $\mu\text{g/ml}$  for both glycopeptides. The isolated VanC enterococci (13 *E. gallinarum* and 13 *E. casseliflavus*) were susceptible to tested antibiotics and possessed low-level resistance to vancomycin (MICs: 4-12  $\mu\text{g/ml}$ ). Most of the recovered enterococcus-like organisms were identified as *Leuconostoc* spp.

**In conclusion,** both species identification and antimicrobial susceptibility pattern have to be taken into account for distinguishing VRE and other Gram-positive catalase-negative cocci, growing in VRE screen cultures.

**Keywords:** VRE, enterococcus-like organisms, fecal screening,

### INTRODUCTION

Members of genus *Enterococcus* are well known pathogens, and their ecological niche is the intestinal tract of humans and animals. The treatment of enterococci is

problematic because of their intrinsic, low-level resistance to  $\beta$ -lactams and aminoglycosides, as well as acquired resistance to penicillin/ampicillin, ciprofloxacin and high concentration of aminoglycosides [1].

The appearance and emergence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in the late 1980s additionally restricts the therapeutic options. Nowadays, nine phenotypes of glycopeptide resistance in enterococci have been described [2]. Eight of these are the result of acquired resistance (VanA, VanB, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM, VanN) and one type (VanC) is a natural resistant.

It has been found that the fecal colonization with VRE plays an important role in spreading of these microorganisms in the hospitals and routine screening cultures are recommended in an attempt to establish infection control measures [3]. Culture-based methods for VRE detection in fecal samples are widely used in microbiology laboratories, but particular attention should be paid to correct identification of growing isolates, especially to those which produce colonies similar to enterococci.

Many studies worldwide reveal different aspects of determination of VRE isolated in fecal screening of hospitalized patients [3, 4, 5, 6, 7], but the data for Bulgaria are still scarce. These are dated from 2012 when V. Popova et al. [8] studied VRE carriers among dialysis patients. Little is known in our country about the colonization with VRE, predominant glycopeptide resistance types and sensitivity to antimicrobials. This motivates our team to screen hospitalized patients for VRE with attention focused on species identification and antimicrobial susceptibility of enterococcal isolates. Gram-positive catalase-negative nonenterococcal strains were also analyzed.

### MATERIALS AND METHODS

#### *Patients and specimens*

A total of 109 patients from University Multiprofile Hospital for Active Treatment „Georgi Stranski”, Pleven were screened for VRE in the period November 2017 – June 2018. The majority of them were in the Haemodialysis ward (HD) – 97, and 12 were in the Haematology ward (HT). Stools or rectal swabs specimens were collected from the patients.

#### *Selective media for VRE screening*

Collected specimens were cultured onto three chro-

# Tunnelled Hemodialysis Catheter-Related Bloodstream Infection with *Ochrobactrum Anthropi*: A Report of the First Two Cases from Bulgaria and a Brief Overview

Biser K. Borisov<sup>1</sup>, Hristina Y. Hitkova<sup>2</sup>, Stela P. Linkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Nephrology and Dialysis, Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup> Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Medical University, Pleven, Bulgaria

**Corresponding author:** Biser K. Borisov, Department of Nephrology and Dialysis, Medical University, Pleven, Bulgaria; E-mail: biserugo@abv.bg; Tel.: +359 898 313 029

**Received:** 10 Apr 2020 ♦ **Accepted:** 15 June 2020 ♦ **Published:** 28 Feb 2021

**Citation:** Borisov BK, Hitkova HY, Linkova SP. Tunnelled hemodialysis catheter-related bloodstream infection with *Ochrobactrum anthropi*: a report of the first two cases from Bulgaria and a brief overview. Folia Med (Plovdiv) 2021;63(1):148-52. doi: 10.3897/folmed.63.e53131.

## Abstract

The use of central venous catheters for hemodialysis continues to grow worldwide, despite the efforts of many specialists. Patients with end-stage renal disease have impaired immunity, which is why infections are the most common complication seen in them. It worsens their quality of life and is a major cause of high morbidity and mortality, especially in hemodialysis patients.

We report two cases of catheter-related bloodstream infection in hemodialysis patients caused by *Ochrobactrum anthropi*, which are the first reported cases in Bulgaria and present a brief literature review of the known facts.

## Keywords

catheter-related infection, hemodialysis treatment, *Ochrobactrum anthropi*

## INTRODUCTION

Infections are a common complication among patients treated with hemodialysis. Patients undergoing hemodialysis with central venous catheter as a vascular access have two to three times higher risk for hospitalization due to infections in comparison with patients with arteriovenous fistula or prosthesis.<sup>1</sup> The frequency of catheter-related bloodstream infections (CRBSIs) has been reported to be from 1.1 to 5.5 incidents per 1000 catheter-days (CD) and they are related to increased morbidity, hospitalizations and mortality. The most common causative pathogens are gram-positive bacteria as *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci – 40% to 80% of CRB-

SIs. Gram-negative organisms cause 20% to 40% CRBSIs, whereas polymicrobial infections (10%-20%) and fungal infections (<5%) are less common.<sup>2,3</sup>

The changes in immunity in patients with terminal uremia are complex and not well understood. Hypercytokinemia is common in uremia and is probably associated with an increased concentration of pro-inflammatory cytokines due to both decreased renal clearance and increased production in these patients.<sup>4,5</sup>

*Ochrobactrum anthropi* is a Gram negative [G (-)], non-lactose fermenting, oxidase-positive bacillus, which used to be known as *Achromobacter*. It was defined by the Center for Disease Control and Prevention (CDC) as group Vd-1, Vd-2.<sup>6</sup>



## INCIDENCE OF THE INFECTIVE ENDOCARDITIS IN PATIENTS WITH TUNNELED CATHETERS IN ONE BULGARIAN DIALYSIS CENTER PER YEAR

Biser K. Borisov<sup>1</sup>, Konstantin D. Gospodinov<sup>2</sup>, Hristina Y. Hitkova<sup>3</sup>,

1) Department of Nephrology and Dialysis, Faculty of Medicine, Medical University, Pleven, Bulgaria.

2) Department of Cardiology, Faculty of Medicine, Medical University, Pleven, Bulgaria.

3) Department of Microbiology, Virology and Medical Genetics, Faculty of Pharmacy, Medical University, Pleven, Bulgaria.

### ABSTRACT

**Background:** Infections are common complications among patients on chronic hemodialysis. Catheter-related bloodstream infections (CRBSIs) are estimated to be 0.15 to 3.5 cases per 1000 catheter-days (CD) in case of tunneled catheters, and the frequency of bacterial endocarditis is estimated at 3.5 to 10% of these.

**Materials and methods:** We retrospectively present data from the study, which was conducted in our clinic for a one-year period from January 1 to December 31, 2018. The average number of patients undergoing hemodialysis was 104, and 33 (32%) of them had tunneled catheters. There was 12 045 total CD. We took chemocultures of all patients with clinical signs dubious about CRBSIs. All patients with positive chemocultures were examined by echocardiography.

**Results:** We have found 19 episodes of CRBSIs in 15 patients (1.5/1000 CD). We found a total of 21 causative microbial agents in positive chemocultures, two of which were polymicrobial. Thirteen of the bacteria (62%) were Gram-positive [G (+)] and eight Gram-negative [G (-)] (38%). The most common G (+) bacterium was *Staphylococcus aureus* 9 and G (-) – *Citrobacter coseri*. In six patients (32%) with CRBSIs, we found bacterial endocarditis. Four of them (67%) were infected with G (-) negative agent, and two (33%) – with G (+).

**Conclusions:** We conclude that our high incidence of bacterial endocarditis is probably due to the fact that we have examined all of the patients for this complication and that gram-negative bacteria are more often the cause of bacterial endocarditis in patients undergoing hemodialysis with a tunnel catheter.

**Keywords:** hemodialysis, tunneled hemodialysis catheters, catheter-related bloodstream infections (CRBSIs), infectious endocarditis,

### INTRODUCTION

Vascular access continues to be the “Achilles’ heel” for hemodialysis patients. Despite existing initiatives to increase the proportion of patients treated with hemodialysis with permanent vascular access, the use of tunneled catheters for hemodialysis treatment is increasing worldwide. Their share is estimated at not less than 25% in patients treated with hemodialysis after 90 days of its initiation and up to 80% in patients starting this treatment [1].

Infections are common complications for hemodialysis patients. Patients undergoing hemodialysis by central venous catheter, such as vascular access, have a 2- to 3-fold increased risk of hospitalization associated with infections compared with patients with an arteriovenous fistula or prosthesis [2]. Catheter-related blood stream infections (CRBSIs) have a reported incidence of 1.1 to 5.5 episodes per 1000 catheter-days (CD) and are associated with increased morbidity, hospitalizations, and death [3, 4].

Infectious endocarditis (IE) is a microbial infection of the endothelial lining of the heart, which usually involves natural or prosthetic valves but can also affect the adjacent structure of the valve, wall mucosa, or cardiovascular devices. Duke’s criteria for infective endocarditis combine primary and secondary clinical criteria. Positive blood culture results for IE and evidence of endocardial involvement from echocardiography are Duke’s two main criteria. The small criteria are fever, predisposing heart condition, vascular events, immunological changes, microbiological and echocardiographic evidence that do not meet the main criterion. The simultaneous presence of the two main criteria allows the clinical diagnosis of IE. In addition, it is possible in the presence of only one primary and three secondary criteria or in the presence of five secondary criteria. In addition to certain IEs, possible and rejected categories are also defined by Duke criteria [5, 6]. The first case of infectious endocarditis in a hemodialysis patient was reported in 1966 [7]. The incidence of IE complicating bacteremic episodes in hemodialysis patients is 2% to 6% [8].



# ***Pasteurella canis* soft tissue infection after a cat bite – a case report**

Hristina Y. Hitkova<sup>1</sup>, Preslava M. Hristova<sup>1</sup>, Raina T. Gergova<sup>2</sup>, Alexandra S. Alexandrova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology and Virology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Pleven, Pleven Bulgaria.

<sup>2</sup> Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria.

## **Abstract**

*Pasteurella canis* is a Gram-negative facultative anaerobic bacterium that is a typical commensal of the oral cavity and enteric tract of domestic animals. Human infections caused by this species are most often associated with dog bites and rarely with other animal bites. In this report, we present a case of a 34-year-old man who developed *P. canis* soft tissue infection of the left arm after a cat bite. The patient was successfully treated by a surgical intervention and antibiotics. The species identification of the isolate was performed by a conventional automatic system and nucleic acid-based methods. The nucleic acid-based methods provide a powerful alternative to the conventional microbiological diagnostic of these bacteria.

**Key words:** *Pasteurella canis*, soft tissue infection, nucleic acid-based methods

Corresponding author:

Hristina Yotova Hitkova, MD, PhD

hitkova@abv.bg

Head of Department of Microbiology and Virology, Faculty of Pharmacy,  
Medical University – Pleven, 1 St. Kliment Ohridski Str., 5800-Pleven, Bulgaria

## **Introduction**

*Pasteurella canis* is a member of genus *Pasteurella* together with other species such as *Pasteurella multocida* (subsp. *multocida*, *septica*, and *gallicida*), *Pasteurella dagmatis* and *Pasteurella stomatis*. In the past, *P. canis* was considered as a biotype 6 or “dog type” of *P. multocida*, but in 1985 it was reclassified as a definitive species based on DNA homology (1). *Pasteurella* are Gram-negative facultative anaerobic rods or coccobacilli which are a part of the normal microbial flora of the oropharynx and gastrointestinal tract of domestic animals. The majority of human infections caused by *Pasteurella* spp. are associated with dog and cat bites, occasionally with bites of other animals or contacts with animals without bites and scratches, as well as diseases unrelated to animal exposure (2,3). The most common species with clinical importance is *P. multocida*, but infections due to other species has also been reported (2,4).

# Species distribution and antifungal susceptibility of vaginal *Candida* isolates

Diana S. Georgieva<sup>1</sup>, Hristina Y. Hitkova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Microbiology Laboratory, Hospital „Heart and Brain“, Pleven, Bulgaria.

<sup>2</sup> Department of Microbiology and Virology, Faculty of Pharmacy, Medical University - Pleven, Bulgaria.

## ABSTRACT

**Background:** Vulvovaginal candidiasis (VVC) is the most common *Candida* infection in females of reproductive age. The data of species identification and antifungal susceptibility of vaginal *Candida* species are of great importance for the management of this disease.

**Objectives:** The aim of the study is to determine species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* isolates obtained from the vaginal samples of hospitalized patients and outpatients with VVC.

**Methods:** A total of 125 vaginal *Candida* isolates were collected and tested. The definitive species identification was performed by Vitek 2 compact (*Bio Merieux, France*) using YST ID cards. The minimum inhibitory concentrations of nine antifungal agents were determined by commercial system Micronaut-AM (*Merlin Diagnostika GmbH, Germany*).

**Results:** Overall 8 *Candida* spp. were established among the vaginal yeast isolates. The most common species was *C. albicans* (77%), followed by *C. glabrata* (12%), *C. krusei* (4%), *C. kefyr* (2.4%), *C. spherica* (1.6%), *C. lusitaniae*, *C. utilis*, and *C. sake* (each one 0.8%). All *C. albicans* and 20 non-*albicans Candida* (NAC) were susceptible to the tested nine antifungal agents. In the group of NAC, 8 isolates were resistant to fluconazole: 5 intrinsic resistance *C. krusei*, 2 *C. spherica*, and 1 *C. sake*. The fluconazole MICs of *C. spherica* and *C. sake* were 32 - 128 µg/mL, and 16 µg/mL, respectively.

**Conclusions:** *C. albicans* was the main causative agent of VVC. Among NAC, *C. glabrata* was predominated species. In general, vaginal *C. albicans* and non-*albicans Candida* isolates were susceptible to azoles as well as echinocandins, amphotericin B and 5-fluorocytosine. Of particular interest was the detection of the rare species *C. spherica* and *C. sake* with acquired resistance to fluconazole.

**Key words:** Vulvovaginal candidiasis, antifungal agents, *Candida* species

Hristina Yotova Hitkova, MD, PhD

hitkova@abv.bg

Head of Department of Microbiology and Virology, Faculty of Pharmacy,

Medical University – Pleven, 1 St. Kliment Ohridski Str., 5800-Pleven, Bulgaria

М. Георгиев<sup>1</sup>,  
А. Мирочник<sup>1</sup>,  
В. Едрева<sup>2</sup>,  
Х. Хиткова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Медицински университет - Плевен, Кръжок по клинична микробиология

<sup>2</sup>Медицински университет - Плевен, Катедра "Микробиология и вирусология"

# Сравнително проучване на антибиотичната резистентност на *Staphylococcus aureus* между 2018 и 2021 година

**Ключови думи:**  
Инфекции,  
резистентност,  
*Staphylococcus aureus*.

Нарастването на употребата на антибиотици по време на пандемията от COVID-19 предполага увеличаване на резистентността на патогенните микроорганизми. Цел на проучването е да се анализира спектъра на инфекциите, причинени от *Staphylococcus aureus* при пациенти на болнично лечение преди и по време на пандемията и да се потърси промяна в резистентността на изолираните щамове към антибиотици във връзка с увеличеното им използване. Не се наблюдава съществена промяна в профила на инфекциите, преди и по време на пандемията, но се наблюдава сигнификантно нарастване на резистентността на клиничните изолати *S. aureus* към антибиотиците, които са били най-широко прилагани за лечение и профилактика на бактериалните усложнения по време на пандемията.

В ранната фаза на COVID-19 пандемията, вирусът инфектира повече от 3 милиона души с около 200 000 смъртни случая по света<sup>[1]</sup>. Честотата на бактериалните усложнения и ко-инфекциите варира от 5 до 11%<sup>[2]</sup>. Независимо от сравнително ниската честота на бактериални инфекции по данни от различни обширни проучвания, 75% до 94% от пациентите с COVID-19 са получавали антибактериални антибиотици<sup>[1]</sup>. В началото на пандемията най-широко използвани са били бета-лактамните антибиотици, специално амоксицилин/клавуланова киселина<sup>[3]</sup>, които постепенно са изместени от азитромицин, като най-предпочитан, следван от левофлоксацин<sup>[4]</sup>. Подобни са данните за България, които сочат, че употребата на антибактериални антибиотици през последните две години е нараснала драстично, като в момента страната е на първо място по употреба на антибиотици в Европа<sup>[5]</sup>. Обширни рандомизирани проучвания показват, че използването на антибиотици няма особен успех в лечението на пациенти с COVID-19,

но увеличеното им използване е свързано с нарастването на резистентността на бактериалните патогени към тях<sup>[5,6]</sup>.

## ЦЕЛ

Да се проучи спектърът на инфекциите, причинени от *Staphylococcus aureus* при пациенти на болнично лечение преди и по време на COVID-19 пандемията. Да се потърси промяна в резистентността на изолираните щамове към антибиотици във връзка с увеличеното им използване.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проучването включва 735 щамове *Staphylococcus aureus*, изолирани от 686 пациенти, лекувани в клиниките на УМБАЛ "Д-р Георги Странски"-Плевен в периодите 01.01.2018 г. – 31.12.2018 г. (преди COVID-19 пандемията) и 01.01.2021 г. – 31.12.2021 г. (по време на пандемията). Пациентите са били с различни основни заболявания, като само в незначителна част от случаите е доказана COVID-инфекция. Култивирането на

клиничните материали е извършвано върху кръвен агар с 5% овнешка кръв (HiMedia, India) при температура 35°C в аеробни условия. Идентификацията е извършена чрез конвенционални методи – каталазна проба, доказване на клъмпинг-фактор, коагулиране на заешка плазма в епруветка и чувствителност към бацитрацин<sup>[7,8]</sup>. Чувствителността към антибиотици е определяна чрез дисково-дифузионен метод върху агар на Мюлер-Хинтон (HiMedia, India) или чрез минимални потискащи концентрации с автоматизирана система VITEK-2 (bio Merieux, France). Резистентността към метицилин е определяна чрез цефокситинов тест с диск цефокситин 30 µg (BD, BBL, Sensi Disc, USA); индубелната резистентност към линкозамиди е определяна чрез D-тест с дискове Еритромицин 15 µg и Клиндамицин 2 µg (BD, BBL, Sensi Disc, USA)<sup>[9]</sup>.

## РЕЗУЛТАТИ

И в двата анализирани периода доминират пациентите от мъжки пол – 239 (57,18%) за 2018 и 147 (54,85%)

В. Кънева<sup>1</sup>, Я. Ангелова<sup>1</sup>,  
В. Едрева<sup>2</sup>, Х. Хиткова<sup>2</sup>,  
Н. Йорданова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Медицински университет  
– Плевен, Кръжок по кли-  
нична микробиология

<sup>2</sup>Медицински университет  
– Плевен, Катедра микро-  
биология и вирусология

# Проучване на инвазивни пневмококови инфекции при хоспитализирани пациенти

**Ключови думи:**  
Инфекции,  
резистентност,  
*Streptococcus pneumoniae*.

Бактериите от вида *Streptococcus pneumoniae* могат да бъдат част от нормалната микрофлора в някои области на човешкото тяло, но могат да причиняват и тежки, застрашаващи живота на пациентите инфекции. Проучването включва 55 щамове *S. pneumoniae*, изолирани от клинични материали на пациенти, лекувани в УМБАЛ – Плевен за 5-годишен период. Анализират се инвазивните пневмококови инфекции по отношение на пола и възрастта на пациентите, сезонността и най-честите локализации, както и чувствителността на изолираните щамове към антибиотици. По-предразположени към инвазивни пневмококови инфекции са пациентите от мъжки пол. Рискови групи за развитие на инфекциите са пациентите до 10-годишна възраст и такива над 50 години. Наблюдава се по-висока честота на инфекциите през есенно-зимния сезон. Най-чести са инфекциите на белия дроб, централната нервна система и средното ухо. Изолираните щамове показват най-висока резистентност към Penicillin G и сравнително добра чувствителност към макролиди и цефалоспоринови трета генерация. Не са изолирани щамове резистентни към гликопептиди.

**Б**актериите от вида *Streptococcus pneumoniae* (пневмококи) са грам-положителни, каталаза-отрицателни коки с ланцетовидна форма, разположени по двойки и обградени с обща капсула. Притежават различни фактори на патогенност, водещи сред които са полизахаридната капсула, която способства адхезията и пречатства фагоцитозата, както и пневмолизини, IgA1-протеази и други ензими<sup>[1,2]</sup>. Пневмококите са нормални обитатели на назофаринкса при 5-40% от здравите хора, но могат да причиняват и сериозни инфекции<sup>[3]</sup>. *S. pneumoniae* причиняват два типа инфекции – неинвазивни и инвазивни<sup>[4]</sup>. Като инвазивни се определят инфекциите, при които бактериите се изолират от клинични материали, взети от нормално стерилни анатомични области, напр. кръв, ликвор, бял дроб, плеврална и перитонеална кухина, сърце, средно ухо, стави<sup>[5,6]</sup>. Към най-честите инвазивни инфекции се отнасят остър среден отит, бактериемия, менингит, пневмония, плеврит, артрит и перикардит<sup>[5]</sup>.

## ЦЕЛ

Да се проучат инвазивните пневмококови инфекции по отношение на пола и рисковите възрастови групи пациенти, сезонността и локализацията им. Да се анализира резистентността на изолираните щамове към антибактериални антибиотици.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проучването включва 55 щамове *S. pneumoniae*, изолирани от 52 пациенти с инвазивни инфекции, лекувани в Университетска болница „Д-р Георги Странски“ – Плевен за 5-годишен период (2017 – 2021 год.). Култивирането на клиничните материали е извършвано върху кръвен агар с 5% овнешка кръв (HIMedia, India) в аеробни условия; върху шоколадов агар (HIMedia, India) в присъствие на 10% CO<sub>2</sub>; върху EMB – агар (HIMedia, India) и в течна обогатителна среда. Идентификацията на щамовете е извършвана на база микроскопска морфология, морфология на колониите, бърз тест с 3.5% водороден пероксид (каталазна проба), чувствителност към оптохин, както и чрез автоматизирана система VITEK-2 (bioMerieux,

France). Чувствителността на щамовете към антибиотици е определяна чрез дисково-дифузионен метод върху агар на Мюлер-Хинтон, обогатен с 5% овнешка кръв (HIMedia, India), в присъствие на 10% CO<sub>2</sub> и/или чрез определяне на минимални инхибиращи концентрации (MIC) чрез автоматизирана система VITEK-2 (bioMerieux, France).

## РЕЗУЛТАТИ

В анализираната от група доминират пациентите от мъжки пол – 29 (55.8%). Средната възраст на пациентите е 42.9 години (от 0 до 88 години) (Фиг. 1).

Рисковите възрастови групи са деца от 0 до 10 години – 12 (23.07%) и пациенти на възраст над 50 години – 28 (53.84%). Наблюдава се добре изразена връзка между честотата и сезона – доминират инфекциите в есенно-зимния период от годината – 33 (63.46%) случая (Фиг. 2).

Щамовете са изолирани от различни клинични материали. Най-голям дял имат материалите от диха-

Ц. Найденова<sup>1</sup>,  
В. Божинова<sup>1</sup>,  
В. Едрева<sup>2</sup>, Х. Хиткова<sup>2</sup>,  
Т. Маринова-Българанова<sup>2</sup>,  
Ц. Дойчинова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кръжък по клинична микробиология, МУ – Плевен

<sup>2</sup>Катедра „Микробиология и вирусология“, МУ – Плевен

<sup>3</sup>Катедра „Инфекциозни болести“, МУ – Плевен

## Корелация между директната микроскопия, латекс аглутинацията и културелното изследване в микробиологичната диагноза на менингитите

### Ключови думи:

Микроскопия,  
латекс аглутинация,  
култивиране,  
менингоенцефалит.

Инфекциите на централната нервна система са редки, но са с тежко протичане и възможен фатален изход. Те изискват бърза и прецизна диагноза. В проучването се анализират случаите на микробиологично доказани инфекции на централната нервна система при пациенти, лекувани в УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен за 6-годишен период и се търси корелация между директното микроскопско изследване, бързият латекс аглутинационен тест, културелното изследване и резултата от цитобиохимичното изследване на ликвора. Установява се корелация на окончателната микробиологична диагноза с директната микроскопия – 82.85%, с латекс аглутинацията – 83.33%, с културелното изследване – 82.85% и с цитобиохимичните изследвания – 86.2%. Всеки от сравняваните методи има предимства и недостатъци, поради което използването им едновременно увеличава вероятността за поставяне на правилна етиологична диагноза.

Инфекциите на централната нервна система са редки, но някои от тях могат да доведат до трайна инвалидизация на пациентите или фатален край. Менингитът представлява остър възпалителен процес на меките обвивки (менингите) на главния и гръбначния мозък. Заболяването протича с характерна симптоматика, включваща най-често синдром на повишено вътречерепно налягане (главоболие, повръщане, вратна ригидност), огнищни неврологични прояви, общомозъчни и психични увреди<sup>[1]</sup>. В зависимост от причинителя, менингитите се разделят на 3 типа – бактериален, вирусен и гъбичен<sup>[2]</sup>.

За провеждане на микробиологично изследване при съмнение за менингит най-често се изследва проба ликвор от пациента, взета чрез лумбална пункция, но могат да се изследват и кръв, назофарингеален секрет или материал от обривите, каквито се наблюдават при някои от инфекциите на ЦНС. В хода на микробиологичното изследване се използва златният

стандарт в микробиологията, а именно директна микроскопия, латекс аглутинация, културелно изследване<sup>[1,2]</sup>. Експресната и точна етиологична диагноза е от изключително голямо значение за назначаването на адекватна антибактериална терапия и за изхода от заболяването.

### ЦЕЛ

Да се анализират всички случаи на бактериологично доказани менингоенцефалити при пациенти, лекувани в УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен за 6-годишен период (2016-2022). Да се потърси корелация между директното микроскопско изследване, бързият латекс аглутинационен тест, културелното изследване и резултата от цитобиохимичното изследване на ликвора.

### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Ретроспективен анализ на резултатите от клинично-лабораторните и микробиологични изследвания на проби ликвор от 29 пациенти, лекувани в УМБАЛ – Плевен в периода ноември

2016г. до април 2022 г. При някои от пациентите са осъществени повече от една лумбални пункции, поради което общия брой проби ликвор е 35. Директното микроскопско изследване е извършвано чрез оцветяване по Грам и с метиленово синьо по Льофлер. Латекс аглутинационен тест е извършван с Wellcogen Bacterial Antigen Kit, Oxoid, UK. Културелното изследване е извършвано чрез посевка върху шоколадов агар (10% CO<sub>2</sub>), кръвен агар (5% овнешка кръв), среда на Левин (Himedia, India) и течна обогатителна среда. Цитобиохимичното изследване на ликвора е извършено в клинична лаборатория в УМБАЛ – Плевен, като референтните стойности на основните диагностични параметри на ликворните показатели са: Левкоцити –  $0.8 \times 10^6/l - 6 \times 10^6/l$ ; Белтък –  $0.1-0.45 g/l$ ; Ликворна захар –  $2.2-4.4 mmol/l$ .

### РЕЗУЛТАТИ

От изследваните пациенти 15 са мъже (52%) и 14 – жени (48%). Разпределението на пациентите по въз-



Г. Иванов<sup>1</sup>,  
В. Едрева<sup>2</sup>,  
Х. Хиткова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кръжок по клинична микробиология, Медицински университет - Плевен

<sup>2</sup>Катедра "Микробиология и вирусология", Медицински университет - Плевен

# Черната смърт в историята, обичаите и изкуството на България

**Ключови думи:**  
България, изкуство,  
история, обичаи, чума.

Чумата е остро инфекциозно заболяване, отнело милиони човешки животи. Днес то не е загубило значението си поради възможността причинителя да бъде използван като биологично оръжие.

**Цел:** Да намерим сведения за разпространението на чумата по българските земи в далечното и близкото минало. Да потърсим специфични обреди и ритуали за борба с болестта, както и мястото ѝ в българското изкуство и литература.

**Методи:** Използвани са данни от археологически проучвания, исторически факти, църковни документи и описания от етнографски проучвания.

**Резултати:** Чумата е върлувала по българските земи още преди османското владичество. През вековете са наблюдавани периодични взривове поради демографски, търговски, социално-икономически причини. Българите са имали уникални ритуали за прогонване на болестта и предпазване от нея.

**Заклучение:** Поради факта, че предоставените данни са изключително слабо познати, нашето съобщение показва приноса на българските историци, духовници и археолози в изследването на болестта.

**Y**ersinia pestis е грам-отрицателна, неподвижна пръчица с биполарно оцветяване, наподобяваща "ладийка" и без способност да образува спори. Произвежда антифагоцитозен слой от слуз. Yersinia pestis е факултативен анаероб, с оптимална температура на развитие 28°C, чиито растеж се стимулира от добавяне към хранителните среди на хемолизирана кръв и натриев сулфит. Върху твърди хранителни среди дава характерни микроколонии, които могат да се наблюдават под лупа и изглеждат като късчета натрошено стъкло, а след по-продължително култивиране се оприличават на "дантелени кърпички". В течни хранителни среди бактерия расте под формата на ципа на повърхността, от която в бульона се спускат повлекла наподобяващи "сталактити", които

по-късно се превръщат във флокули и се утаяват на дъното на епруветката. Подобно на другите Yersinia видове, тя дава отрицателни тестове за уреаза, лактозна ферментация и индол. Каталазната проба е положителна.

Yersinia pestis причинява особено опасна инфекция - чума, популярна като "Черната смърт". Чумата е най-смъртоносна инфекция в историята на човечеството. Основен източник и резервоар на бактерия са гризачите, но допълнителни източници са домашните животни и заболялите от чума. Основният път за пренасяне на заразата от гризачите към човека е трансмисивният – посредством техните бълхи, кърлежи и въшки. Най-честият преносител е "чумната муха" Xenopsilla cheopsis, но е доказано, че 124 вида бълхи и

9 вида кърлежи могат да пренасят чума. След ухапване от ектопаразити, бактерият прониква през кожата и започва да се размножава вътре и извънклетъчно. От мястото на проникването си Y. pestis се разпространява по лимфен път, което е последвано от дисеминация в слезката, белия дроб, черния дроб и централната нервна система. Инкубационният период е от 2 до 7 дни. Различават се 4 клинични форми на заболяването: бубонна, белодробна, чревна, септична<sup>[1,2,3,4]</sup>.

В миналото бактерият е причинил опустошителни пандемии през три различни исторически периода: Юстиниановата чума е била разпространена от Близкия изток до Средиземно море през VI и VIII век и убива около 25% от населението в района на Алпите. Опустошителната за Евро-



## ПРОУЧВАНЕ НА БЕТА-ХЕМОЛИТИЧНИ СТРЕПТОКОКИ СРЕД ХОСПИТАЛИЗИРАНИ ПАЦИЕНТИ

Х. Хиткова<sup>1</sup>, В. Едрева<sup>2</sup>, Е. Рамаданова<sup>3</sup>, Й. Йорданова<sup>4</sup>, Д. Колева<sup>5</sup>,  
К. Лисаева<sup>6</sup>, Д. Георгиева<sup>7</sup>

<sup>1, 2, 7</sup> МУ-Плевен, Катедра Микробиология и вирусология

<sup>3, 4, 5</sup> МК-Плевен, студенти от кръжок по Микробиология

<sup>6</sup> МУ-Плевен, МК-Плевен, Катедра „Медико-диагностични дейности“, специалност  
„Медицински лаборант“

## STUDY OF BETA-HEMOLYTIC STREPTOCOCCI AMONG HOSPITALIZED PATIENTS

H. Hitkova<sup>1</sup>, V. Edreva<sup>2</sup>, E. Ramadanova<sup>3</sup>, Y. Yordanova<sup>4</sup>, D. Koleva<sup>5</sup>,  
K. Lisaeva<sup>6</sup>, D. Georgieva<sup>7</sup>

<sup>1, 2, 7</sup> MU-Pleven, Department of Microbiology and virology

<sup>3, 4, 5</sup> MU-Pleven, Medical College, Clinical Microbiology study group

<sup>6</sup> MU-Pleven, Medical College, Department of Medico-diagnostic activities, Medical  
Laboratory Technician specialty

**ABSTRACT:** *The aim of this work is to determine the types of infections caused by beta-haemolytic streptococci, and to analyze the patients according to the sex, ages and presence of underlying diseases. The study includes 234 beta-hemolytic streptococci isolated from patients treated at UMHAT „G. Stranski” – Plevan in the period from 2018 to 2022. The results show that the patients' mean age is 32.2 years (0 – 91); 61.5% of the patients are male and 28.5% are female. A total of 123 strains are isolated from wounds and soft tissues, 87 – from samples of the respiratory tract, and 24 – from other materials. Overall 37.2% of the cases are due to Group A streptococci, followed by Group B streptococci – 29.9%. Group A causes predominantly respiratory tract infections in children less than 10 years old, whereas Group B is primarily associated with wound and soft tissue infections in male over 50 years with diabetes. Groups C, G, F are isolated less often from different anatomical sites.*

**Keywords:** beta-hemolytic streptococci, types of infections, patients

### Въведение

Род Streptococcus е един от 17 рода обединяващи Грам-положителни, каталаза-отрицателни коки (Spellerberg, Brandt, 2015, pp. 383-402). Отделните видове в рода се различават по морфологията на колониите, хемолизата, биохимичните характеристики и наличието на полизахарид С в клетъчната стена. Понастоящем родът включва повече от 100 вида, 10 от които са официално признати през последните години (Spellerberg et al., 2015, pp. 383-402). За класификация на стрептококите се използват различни схеми, но най-популярно е делението им на алфа-, бета- и гама-хемолитични. На базата на антигенните

Г. Нейкова<sup>1</sup>,  
Т. Маринова-Българанова<sup>2</sup>,  
В. Едрева<sup>2</sup>,  
Х. Хиткова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кръжок по клинична микробиология, МУ – Плевен  
<sup>2</sup>Катедра „Микробиология и вирусология“, МУ – Плевен

## Микробиологично проучване на *Corynebacterium* spp., изолирани от клинични материали

**Ключови думи:**  
*Corynebacterium* spp.,  
видове инфекции,  
антибиотици.

Видовете от род *Corynebacterium* са част от нормалната микробна флора на кожата и лигавиците на човека, но при определени условия могат да причинят инфекции. Тези бактерии най-често се асоциират с инфекции на рани, долните дихателни пътища и кръвта.

Целта на настоящето проучване е да се анализират инфекциите, причинени от коринебактерии, да се определи видовият състав на изолатите и тяхната чувствителност към антимикробни средства. Анализът обхваща 104 *Corynebacterium* spp., произхождащи от клинични материали на 99 пациенти, лекувани в УМБАЛ „Д-р Г. Странски – Плевен“ за периода 2012-2023 г. Материалите са култивирани върху кръвен агар с 5% овнешка кръв.

Презумптивната идентификация е базирана на морфологията на колонии, микроскопските характеристики на бактериите в препарат по Грам и някои бързи биохимични тестове. Окончателната идентификация до ниво вид е извършена чрез автоматизираните системи miniAPI и VITEK 2 Compact (bioMérieux, France). Чувствителността към антибиотици е определена чрез дисково-дифузионния метод върху Мюлер-Хинтън агар с 5% овнешка кръв, според препоръките на EUCAST. Резултатите показват, че най-голям е броят на *Corynebacterium* spp. като причинители на раневи инфекции – 49, следват инфекции на дихателната система – 26, инфекции на кръвта – 15 и по-рядко инфекции на други анатомични области. В 72 (72.72%) от случаите инфекциите са монобактериални. В останалите 32 (27.28%) случая дифтероидите са в асоциация с различни Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии, но са доминиращ вид. Проучените изолати показват добра чувствителност към ванкомицин, линезолид и тетрациклини и висок процент на резистентност към хинолони и клиндамицин. Инфекциите, причинени от *Corynebacterium* spp., са редки, но понякога са сериозни и животозастрашаващи.

**Б**актериите от род *Corynebacterium*, наричани накратко дифтероиди, са малки, нежни, плеоморфни, Грам-положителни пръчковидни микроорганизми с характерна морфология, обикновено подредени по двойки, палисадно или в къси верижки, често оприличавани на „китайско писмо“<sup>[1]</sup>. Броят на видовете в род *Corynebacterium* се увеличава драстично от 22 през 1990 г. на 89 към момента. Петдесет и четири от тях имат медицинско значение<sup>[2]</sup>. Много от видовете са част от нормалната флора на кожата и лигавиците при хората, а други нямат медицинско значение и са свободни

обитатели на почвата, водите, растенията и храните<sup>[2]</sup>. Инфекциите, причинени от *Corynebacterium* spp., могат да бъдат както ендогенни, така и екзогенни<sup>[3]</sup>. Те възникват в различни анатомични области на тялото – респираторен тракт, кръв и др. Най-чести са инфекциите на рани, на респираторния тракт, инфекции, причинени от чужди тела, бактериемии и др.<sup>[2]</sup>.

### ЦЕЛ

Целта на настоящето проучване е да се анализират инфекциите, причинени от коринебактерии, да се определи видовият състав на изолатите и тяхната чувствителност към антимикробни средства.

кробни средства.

### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Анализът обхваща 104 изолата на дифтероиди, произхождащи от клинични материали (с изключение на урини) на 99 пациенти, лекувани в различни клинични звена на УМБАЛ „Д-р Г. Странски – Плевен“ за периода 2012-2023 г. Материалите за микробиологично изследване са култивирани върху кръвен агар с 5% овнешка кръв. Презумптивната идентификация е базирана на морфологията на колонии, микроскопските характеристики на бактериите в препарат по Грам и някои бързи биохимични тестове. Окончателната идентификация

П. Цанова<sup>1</sup>,  
М. Янакиева<sup>1</sup>,  
Х. Делварска<sup>1</sup>,  
Р. Стоянова<sup>1</sup>,  
В. Николова<sup>1</sup>,  
М. Чакъров<sup>1</sup>,  
В. Едрева<sup>2</sup>,  
Х. Хиткова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кръжок по клинична микробиология, Медицински университет - Плевен

<sup>2</sup>Катедра „Микробиология и вирусология“, Медицински университет - Плевен

# Холера - познатата и непознатата

## Ключови думи:

*Vibrio cholerae*, епидемиология, лечение, откриване, предпазване.

През 2023 г. отбелязваме 140 години от откриването на холерния вибрион от германския микробиолог Роберт Кох. Поставихме си за цел да потърсим малко известни и любопитни факти, свързани с причинителя на заболяването холера, клиничните симптоми, методите за лечение и мерките за предпазване от това опасно заболяване. Използвахме само лицензирани медицински източници - ръководства по клинична микробиология, научни списания, статии по история на медицината, данни от исторически документи, както и произведения на изкуството и литературата. Паралелно с всеобщо известните факти, разглеждаме по-малко познати и прелюбопитни факти за холерата, откриването на причинителя ѝ и търсим отговор на следните въпроси: Как хората са се справяли с инфекцията преди ерата на антибиотиците? Имало ли е холера по българските земи и ако да, кога? Дали сме изложени на риск от холера днес? Независимо, че холерата е позната от Древността, тя все още е социално-значимо заболяване, което продължава да бъде обвито в тайни и е невъзможно да бъде ерадикирано от лицето на Земята.

**Н**езависимо, че холерата е позната още от Древността и се приема, че всичко относно заболяването, причината и лечението е известно, се оказва, че съществуват малко известни факти както за болестта, така и за причинителя и дори и през XXI век холерата крие загадки и неизвестности, които ни карат да си задаваме много въпроси.

## ОТНОСНО ПРИЧИНИТЕЛЯ

Всеобщо известно е, че причинителят на холерата – *Vibrio cholerae* е Грам-отрицателна, аеробна, неспорообразуваща леко извита пръчица, подвижна чрез една полярно разположена ресна<sup>[1]</sup>. Малко известно е обаче, че *V. cholerae* понякога е наричан „запетаята на Кох“ поради характерната морфология, наподобяваща запетайка<sup>[2]</sup>. Той е най-бързо подвижният бактерия сред всички микроорганизми - 6-8 пъти по-подвижен от аналите бактерии. Подвижността по

принцип не се приема за фактор на вирулентност при бактериите и в това отношение холерният вибрион е изключение, тъй като ресната му играе роля на витло, което тласка клетката в една единствена посока на движение. Това позволява бързото му преминаване през стомаха и избягване на разрушаването му от солната киселина. Той е още едно голямо изключение в света на патогенните за човека бактерии и поради факта, че е единственият микроорганизъм, който расте по-добре в силно алкални среди, в които останалите микроорганизми загиват (рН 8.5-9.2, дори 11). Този факт обяснява защо той се изолира от природните водни източници - почти винаги от водата в делтата на река Ганг, която има рН 8.76<sup>[3]</sup>.

## ОТНОСНО ЕПИДЕМИОЛОГИЯТА И ПАТОГЕНЕЗАТА НА ЗАБОЛЯВАНЕТО

Известно е, че холерата е особено опасна инфекция, антропоноза, с фекално-орален механизъм на преда-

ване. Заразяването става най-често при консумация на контаминирана вода или храна. Входната врата е устната кухина, като холерните вибриони след преодоляване на киселата рН реакция в стомашния сок достигат до тънкото черво, където рН е алкално и адхерират към лигавицата му. Малко известно е обаче, че съществуват големи различия в инфекциозната доза, в зависимост от това дали заразяването става чрез консумация на вода или храна. При индивиди с нормален ацидитет на стомашния сок инфекциозната доза при консумация на контаминирана храна е  $10^2$ - $10^4$ , тъй като храната има буферизираща способност и рН на стомашното съдържимо се увеличава. Инфекциозната доза при консумация на контаминирана вода е  $10^{10}$  микробни клетки в 1 мл вода. В такъв план холерният вибрион е отново изключение, защото това е микробът с най-висока инфекциозна доза сред бактериите<sup>[4]</sup>. Разликата в инфекциозните дози и чувствителността

Р. Александров<sup>1</sup>,  
П. Величков<sup>1</sup>, Н. Андреев<sup>1</sup>,  
С. Мартинов<sup>1</sup>,  
В. Едрева<sup>1</sup>, Х. Хиткова<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Кръжок по клинична микробиология,  
МУ – Плевен, <sup>2</sup>Катедра  
„Микробиология и вирусология“, МУ – Плевен

# Брилянтният Роберт Кох

**Ключови думи:**  
Роберт Кох, принос,  
открития, ученици.

През 2023 г. отбелязваме сто и осемдесетата годишнина от рождението на Роберт Кох. Хронологично проследяваме възловите моменти от неговия личен и професионален живот, както и блестящите му открития през един по-различен и нетрадиционен поглед. Предоставяме малко известни факти, които го показват в особена светлина. Използвани са научни публикации, биографични данни и статии по история на медицината. Роберт Кох е един от брилянтните умове в медицината и в частност в микробиологията. Неговите открития и постижения не са загубили и частица от значимостта си и до днес.

**Р**оберт Кох е роден в Клаустал, Пруссия, днешна Германия, на 11.12.1843 г. в семейството на минен инженер, като трето от общо тринадесет деца (Фиг. 1). Още от малък той проявява интерес и любопитство към живата природа. Дядо му го подкрепя в неговите начинания и придружава малкия Роберт в експедициите му до близката гора. Той събира много насекоми, земноводни и гущери и превръща стаята си в своеобразен научен музей. Благодарение на лупата, която открива и използва скришом от баща си, той разширява своя кръгзор и остава възхитен от това, че посредством лещата очите стават по-силни и проникват в изненадващо малки неща<sup>[1]</sup>. Започва училище през 1848 г. и още като ученик, за разлика от връстниците си, които събират марки, той проявява интерес към биологията и има афинитет към това да изучава живите организми.

Следвайки интереса си към науката, Кох самостоятелно взема решение да учи медицина, което тържествено съобщава на семейството си. Вярвайки, че е избрал достойна професия, баща му, с цената на много жертви и лишения, осигурява бъдещето на сина си и през 1862 г. Кох постъпва в Гьотингенския университет. Там Роберт е силно повлиян от възгледите на Якоб Хенле, професор по анатомия в университета, че инфек-

циозните заболявания се причиняват от живи паразитиращи организми<sup>[2]</sup>.

През 1867 г. Кох сключва брак с Еми Фрац, която е неговата единствена приятелка от детството му и го подкрепя още в първите му стъпки към изучаване на живата природа. Година по-късно се ражда дъщеря им – Гертруд (Фиг. 2). През 1870 г. Кох става доброволец – военен лекар, във Френско-Пруската война. Това подхранва амбициите му да пътува и да участва в научни експедиции по цял свят. В опитите си да го задържи възможно най-дълго у дома, за 28-мия му рожден ден Еми Фрац му подарява първия личен микроскоп, като по този начин безвъзвратно го губи за себе си.

През следващите години Кох се фокусира върху своите изследователски цели и кариерното си развитие. През 1876 г. открива своята първа лаборатория (Фиг. 3) и започва да изучава *b. Anthracis*.

От представената ос на времето (Фиг. 4) ясно се вижда, че основаната част от неговите открития са направени в периода 1876-1890 г., като най-значимите от тях обхващат един четиригодишен период, в който той разработва твърдите хранителни среди и фракционната стерилизация (1881 г.), открива *M. tuberculosis* (1882 г.), холерния вибрион (1883 г.) и формули-

ра постулатите на Хенле-Кох (1884 г.). През най-продуктивния си изследователски период той напълно отсъства от семейния живот. Отношенията в семейството охладняват все повече и през 1893 г. Роберт се развежда с Еми Фрац и в същата година се жени за кабаретната актриса Хедвиг Фрайберг (Фиг. 5).

Официално се приема, че твърдите хранителни среди са въведени в микробиологията през 1881 г. Откриването им обаче има дълга предистория. Типично за всеки научен гений, Кох е бил силно отдаден на работата си и много разсеян. Един ден той открива върху забравения си с дни обяд от варени картофи петна. Тъй като е бил много любознателен, той изготвя препарат от тях и открива, че това са микроорганизми. Тогава започва упорито да изпробва различни повърхности като хранителна среда – коагулирано яйце, албумин, паста от нишесте и асептично отрязан картоф. Към сместа добавя и желатин, но желатинът, за съжаление, има недостатъци – разтапя се при температура над 25 градуса и хранителните среди, поставени в термостат, се размекуват, а някои микроорганизми отделят ензими (желатиназа), които го разграждат. Малко известен факт е, че Кох успява да създаде съвременните, използвани и до днес, твърди хранителни среди, благодарение Фани Хесе – съпруга на един от неговите сътрудници.

Т. Божинова<sup>1</sup>,  
К. Пейдова<sup>1</sup>,  
С. Георгиев<sup>1</sup>,  
А. Цунис<sup>1</sup>,  
Г. Нейкова<sup>1</sup>,  
Я. Симеонова<sup>1</sup>,  
А-М. Ангелова<sup>1</sup>,  
В. Едрева<sup>2</sup>,  
Х. Хиткова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Медицински университет – Плевен, Кръжок по клинична микробиология  
<sup>2</sup>Медицински университет – Плевен, Катедра „Микробиология и вирусология“

## Назално носителство на *Staphylococcus aureus* при пациенти на хронична хемодиализа

**Ключови думи:**  
*S. aureus*, назално носителство, хемодиализа.

Назалното носителство на *Staphylococcus aureus* при пациенти на хронична хемодиализа е важен рисков фактор за развитието на локални и системни инфекции. Целта на проучването е да се определи честотата на назално носителство при такива пациенти за тригодишен период и да се анализира профилът на резистентност на изолираните щамове. Анализът включва 138 пациенти на хронична хемодиализа, провеждана в УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ – Плевен в периода 2020-2022 г. Изследвани са общо 357 клинични материала, от които 268 носни секрети, централни венозни катетри – 3, кожа в инсертното място на катетъра – 53, кръв за хемокултура – 30 и раневи секрети – 3. Назално носителство на *S. aureus* е доказано при 35 (25.6%) от пациентите, като при 21 от тях носителството е било перманентно, а при 14 – интермитентно. В 11 от случаите е налице корелация между назалното носителство и развитието на инфекция. В същото време е наблюдавано развитие на *S. aureus* локална и системна инфекция при неносители. Назалното носителство на *S. aureus* при пациенти на хемодиализа не винаги е пряко свързано с развитието на инфекция. Изолираните щамове са придобити в обществото и показват запазена чувствителност към антибиотици.

**S**taphylococcus aureus може да бъде както нормален обитател на човешкото тяло, така и причинител на сериозни инфекции. Той колонизира кожата и лигавиците при хората и много видове животни. Въпреки че при хората *S. aureus* може да колонизира различни анатомични области, ноздрите и външният нос се приемат за най-честата ниша. Асоциацията между назалното носителство на *S. aureus* и стафилококовите инфекции за пръв път е установена през 1932 г. от норвежкия дерматолог Нилс Данболт (Niels Danbolt), който открива, че при 22 от 24 пациенти с рекурентна фурункулоза се изолират стафилококи с един и същ биохимичен профил в носа и в кожните лезии<sup>[1]</sup>. Други анатомични области, в които може да се открие носителство на *S. aureus* при здрави хора, са

кожата по гърдите, корема, аксилите, ингвиналните гънки, перинеума и стомашно-чревният тракт<sup>[2]</sup>.

Назалното носителство на *Staphylococcus aureus* при пациенти на хронична хемодиализа е важен рисков фактор за развитие на локална или системна инфекция. Според проучване на Центъра за контрол и превенция на заболяванията на САЩ, проведено между 2017 и 2020 г., вероятността за развитие на *S. aureus* инфекция на кръвта е 100 пъти по-голяма при пациенти на хемодиализа, отколкото при пациенти, които не са на диализно лечение<sup>[3]</sup>.

### ЦЕЛ

Да се установи честотата на назално носителство на *S. aureus* при пациенти на хронична хемодиализа и връзката му с развитие на локална или

системна инфекция, както и профили на резистентност на изолираните щамове към антибактериални агенти.

### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Анализът обхваща 138 пациенти на хронична хемодиализа, провеждана в Клиника по нефрология и хемодиализа на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен за тригодишен период (2020-2022 г.). За периода са изследвани 357 клинични материала, от които 268 носни секрета. При пациентите с клинични данни за локална или системна инфекция са изследвани и други материали: секрет от кожата в инсертното място на катетъра – 53; кръв за хемокултура – 30; върхове на централни венозни катетри – 3 и раневи секрети – 3 (Фиг. 1). Култивирането на носните секрети и секретите от кожата в инсерт-