



# СЪДЪРЖАНИЕ

Центърът за оценка на риска по хранителната верига в служба на потребителите и контролните органи по безопасност на храните  
**Risk assessment center on food chain in service of consumers and food safety authorities.....8**

Националната референтна лаборатория по генетично модифицирани организми чества 10 години от създаването си  
**National reference laboratory for genetically modified organisms celebrates 10 years of existence.....13**

Насърчаване на научното сътрудничество чрез нови видове грантове и инструменти за обмен на информация  
**Promoting scientific cooperation through new grant types and information exchange tools.....15**

Използване на Comprehensive European Food Consumption Database на EFSA при извършване на оценки на хранителната експозиция и приема на хранителни вещества в областта на генетично модифицираните храни  
**Use of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database in performing dietary exposure and nutrient intake assessments in the area of genetically modified foods.....17**

Предизвикателства при изпълнението на национални рамки за биосигурност при безопасността на храни и фуражи в определени страни от Източна Европа и Централна Азия: опит и изводи от проектите на FAO  
**Challenges in implementing national biosafety frameworks on food and feed safety in selected countries from Eastern Europe and Central Asia: experiences and outcomes from FAO projects.....20**

Работа в мрежи – трансгранично средство за осигуряване на безопасността на храните  
**Networking – a tool for Food Safety across borders.....21**

*Listeria monocytogenes* – патоген в храните (обзор)  
**Listeria monocytogenes – a foodborne pathogen (review).....21**

*Прилагане на следващо поколение секвениране (NGS) за определяне на неразрешени генно модифицирани организми в храни и фуражи*  
***Application of Next Generation Sequencing (NGS) in characterisation of unauthorised GMO in food and feed.....23***

*Сравнителен анализ на фитохимичния състав и фармакологичен потенциал на ароматичните продукти от българската Rosa alba L. и Rosa damascena Mill*  
***Comparative phytochemical analysis and pharmacological potential of aromatic products from bulgarian Rosa alba L. and Rosa damascena Mill.....24***

*Нови подходи за бърза детекция на Yersinia enterocolitica и наблюдение в свине за клане*  
***New approaches for fast detection of Yersinia enterocolitica and surveillance in slaughter pigs.....27***

*Зооноза и заплаха: хепатит Е при свине и в България*  
***A zoonotic threat: Hepatitis E virus in pigs and in Bulgaria.....29***

*Предизвикателства и проблеми при регулиране на хранителни добавки*  
***Challenges and problems of food supplement legislation.....31***

*Генни ваксини – приложение във ветеринарната медицина*  
***Gene vaccines – application in veterinary medicine.....32***

*Оценка на биологичния риск при добива на диви черноморски миди*  
***Biological risk assessment of in the production of wild Black Sea mussels .....35***

*Микробиологично доказана кожна форма на човешки антракс*  
***Microbiologically proven human cutaneous anthrax.....41***

*Кой херпес вирусна инфекция в рибовъдните ферми, превенция и оценка на риска*  
***Koi herpesvirus disease (KHVD) in European aquaculture, prevention and risk assessment.....42***

*Нови техники в селскостопанската биотехнология в светлината на европейското законодателство за генно-модифицираните организми*  
***New techniques in agricultural biotechnology in the light of European GMO directives.....44***

*Нови методи за селекция при растенията – има ли разумни причини да спрем познанието?*  
***New plant breeding techniques – are there rational reasons to stop knowledge?.....45***

*Код „лилаво” за конзервационния статус на един интергласиален реликт в Североизточна България*  
***An example of code “purple” for the conservation status of interglacial relict plant species from Northeast Bulgaria.....46***

*Влиянието на логистиката върху качеството и безопасността в хранителната индустрия*  
***The impact of logistics on quality and safety in the food industry.....48***

*Ретроспективен, организационно-правен, епизоотологичен и икономически анализ на ефективността на мерките за диагностициране, локализиране и ликвидиране на шапно огнище през 1977 г. в граничната зона на югоизточна България*  
***Retrospective, organizational, legal, epizootological and economic analysis on the effectiveness of the measures applied for diagnostics, localization and eradication of Foot-and-mouth disease outbreak in 1977 at the border area of South Eastern Bulgaria.....52***

## ***Постерна сесия Poster session***

*Биоконверсия на азота по веригата дажба – крайна животинска продукция*  
***Nitrogen bioconversion into diet – food chain.....54***

*Разделяне на четири авермектина с течна хроматография и флуоресцентно детектиране*  
***Liquid chromatographic separation with fluorescence detection of four avermectins.....56***

*Възможности за използване на граха (*Pisum sativum* L. ) за храна и фураж*  
***Possibility of using pea (*Pisum sativum* L.) for food and feed.....58***

Размножаване при <i>in vitro</i> условия на растителен материал от диворастящи видове нахут <i>Cicer montbretii</i> Jaub. & Spach и <i>Cicer echinosperum</i> P. H. Davis .....	59
Проучване върху хелминтофауната на дивата свиня в някои райони на страната <i>Helminthofauna of the wild boar in some regions of the country.....</i>	61
Миграция на меламин от кухненска посуда – първи проучвания за България <i>Migration of melamine from kitchenware - first surveys for Bulgaria....</i>	62
Транс мастни киселини в краве мляко и бяло саламурено сирене <i>Trans fatty acids in cow's milk and white brined cheese.....</i>	63
Възприятия на студентите по ветеринарна медицина относно използването на животните за добив на храна <i>Veterinary students' perceptions on the use of animals in food production .....</i>	65
Сравнително изследване на шест трихинелни вида чрез PCR в реално време <i>A comparative study of six Trichinella species by real-time PCR assay.....</i>	66
Подсладители, хранене, здраве <i>Sweeteners, diet and health.....</i>	67
Защо се нуждаем от магнезий <i>Why do we need magnesium? .....</i>	70
Екстракция на ДНК: микрометод vs. макрометод <i>DNA extraction: micromethod vs. macromethod.....</i>	72
Диагностика на кампилобактериоза чрез съвременни техники – EvaGreen Real-time mPCR <i>Diagnosis of campylobacteriosis by contemporary techniques – EvaGreen Real-time mPCR.....</i>	73
<i>Antioxidant activity of major metabolites in the strains of medicinal mushrooms Cordyceps sinensis and Paecilomyces hepiali.....</i>	76

Стрес при животните – потенциален фактор, повлияващ безопасността по хранителната верига  
***Stress in animals – a potential factor influencing food chain safety..... 77***

Радиационен контрол на питейни води, като част от общия мониторинг в България  
***Radiation control of drinking water as part of the overall monitoring in Bulgaria..... 79***

In vivo изследване на антибактериалната активност на щамове от род *Bacillus* срещу фитопатогенната бактерия *Clavibacter michiganensis* sub. sp. *michiganensis*  
***In vivo study of the antibacterial activity of the strains from genus Bacillus against the phytopathogenic Clavibacter michiganensis sub. sp. michiganensis..... 80***

Изследване генетичните детерминанти определящи антимикробна активност при лактобацили и индуциране синтеза на бактериоцино подобни вещества  
***Estimation of genetic determinants of antimicrobial activity in lactobacilli and induction of bacteriocin-like metabolites..... 82***

Експозиция на йесотоксини и оценка на риска за здравето при консумация на миди от Черно море  
***Exposure to yessotoxins and health risk assessment via consumption of shellfish from the Black Sea..... 84***

Диетични транс мастни киселини и биологично активни субстанции в извара от краве мляко  
***Dietary trans fatty acids and biologically active substances in curd of cow's milk..... 83***

Замърсяване на околната среда от опаковки използвани в ежедневието на хората  
***Environment pollution from a packaging used in the daily life of the people..... 85***

Анализ на данните от системата за бързо предупреждение за храни и фуражи, касаещи неразрешени генетично модифицирани организми за периода 2006-2016 г  
***Analysis of Rapid Alert System for Food and Feed data concerning unauthorized genetically modified organisms, 2006-2016..... 89***

*In vivo* проследяване на ефекта на щамове от род *Bacillus* и род *Lactobacillus* върху разсад на растителен обект *Lycopersicum sativum*  
***In vivo study of the the effect of the strains from genus Bacillus and genus Lactobacillus on the Lycopersicum sativum plant.....90***

Акумулиране на цианотоксини във водните организми и човека  
***Accumulation of cyanotoxins in aquatic organisms and humans.....92***

***Analysis of GMO's situation in Ukraine.....94***

ЦЕНТЪРЪТ ЗА ОЦЕНКА НА РИСКА ПО ХРАНИТЕЛНАТА  
ВЕРИГА В СЛУЖБА НА ПОТРЕБИТЕЛИТЕ И КОНТРОЛНИТЕ  
ОРГАНИ ПО БЕЗОПАСНОСТ НА ХРАНИТЕ  
**RISK ASSESSMENT CENTER ON FOOD CHAIN IN SERVICE  
OF CONSUMERS AND FOOD SAFETY AUTHORITIES**

доц. Я. Иванов, проф. Б. Ликов, проф. Г. Георгиев и д-р И. Костов  
**Dr. Y. Ivanov, prof. B. Likov, prof. G. Georgiev and dr. I. Kostov**

Център за оценка на риска по хранителната верига, МЗХГ  
**Risk assessment center on food chain, MAFF**

***Ключови думи:** Център за оценка на риска по хранителната верига (ЦОРХВ), Европейски орган по безопасност на храните (ЕОБХ), Европейската организация по растителна защита (ЕРРО), научна мрежа на ЕОБХ по здравеопазване и хуманно отношение към животните.*

**Резюме:**

Центърът за оценка на риска по хранителната верига (ЦОРХВ) е компетентният орган в Република България по смисъла на чл. 22, параграф 7 от Регламент (ЕО) № 178/2002 на Европейския парламент и на Съвета от 28 януари 2002 година за установяване на общите принципи и изисквания на законодателството в областта на храните, за създаване на Европейски орган за безопасност на храните (ЕОБХ) и за определяне на процедури относно безопасността на храните (ОВ L 31, 1.2.2002), (Регламент (ЕО) № 178/2002), и е част от мрежа на организации, работещи в области от компетентността на ЕОБХ, съгласно чл. 36, параграфи 1 и 2 от Регламент (ЕО) № 178/2002.

Центърът за оценка на риска по хранителната верига работи в тясно сътрудничество с ЕОБХ, компетентните органи в държавите членки и трети страни, изпълняващи сходни с неговите функции.

Центърът за оценка на риска по хранителната верига играе ключова роля в оценката на риска по отношение на безопасността на храните и фуражите и свързаните с тях области, като зоонозите, болестите при дивите и домашните животни, хуманното отношение към животните и здравето на растенията. В тясно сътрудничество с научноизследователски институти, висши учебни заведения, лаборатории и водещи учени от различни направления, както и с националните компетентни органи по опазване здравето на хората,



животните, растенията, околната среда и биоразнообразието и в открити консултации със заинтересованите страни, ЦОРХВ изготвя независими научни становища и съобщения относно съществуващи и възникващи рискове.

Центърът за оценка на риска по хранителната верига докладва на ЕОБХ обобщените на национално ниво данни по отношение на регистрираните случаи на:

- зоозоози, причинители на зоозоози, взривове на хранителни токсикоинфекции, популацията от продуктивни животни, антимикробна резистентност, регистрирана при бактерии, изолирани от хранителни продукти и фуражи;
- данни за остатъците от ветеринарно медицински продукти (ВМП) в хранителни продукти от животински произход, регистрирани по Националната мониторингова програма за контрол на остатъците (НМПКО);
- от 2012 г. контактната точка за докладване на резултати от лабораторни изпитвания за химични замърсители в храни и фуражи е в структурата на ЦОРХВ. Докладването на данните от лабораторни изпитвания за химични замърсители в храни и фуражи се осъществява ежегодно в периода 01 юли – 30 септември;
- през 2014 г. е създадена Национална база данни за химични замърсители, съгласно определените стандарти на ЕОБХ след успешно изпълнен съвместен проект между ЦОРХВ и ЕОБХ. Към настоящия момент са подадени успешно всички получени лабораторни резултати;
- ЦОРХВ извършва оценка на риска от пестицидни остатъци в храни, посредством разработения от ЕОБХ PRIMo модел и изготвя становища за оценка на риска за консуматора. От 2016 г. контактната точка за докладване на пестициди също е в ЦОРХВ.

Центърът за оценка на риска по хранителната верига е:

- Член на научната мрежа на ЕОБХ по здраве на растенията (Scientific Network for Risk Assessment in Plant Health);
- Член на мрежата на ЕОБХ за мониторинг на пестицидни остатъци (Network on Pesticide Monitoring);
- Член на Панела по общи стандарти към Европейската организация по растителна защита (EPPO Panel on General Standards);

- Член на научната мрежа на ЕОБХ по здравеопазване и хуманно отношение към животните и на други научни мрежи на ЕОБХ.

В ЦОРХВ се намира представителя за България в Консултативния съвет на ЕОБХ и Българският контактен център на ЕОБХ, който е ”посланикът“ между ЕОБХ и националните органи по безопасност на храните, научно-изследователските институти и всички останали заинтересовани страни. Дейността на контактната точка на ЕОБХ се отчита ежегодно чрез изготвяне на технически доклад за календарната година.

Центърът за оценка на риска по хранителната верига чрез дирекция „Продукти за растителна защита, активни вещества, антидоти и синергисти“ извършва оценка на продукти за растителна защита, активните вещества, антидоти и синергисти съгласно Регламент (ЕО) № 1107/2009 и Закона за растителна защита в следните направления:

- оценка на продуктите за растителна защита относно разрешаването на пускането им на пазара;
- оценка на активни вещества за одобрение и подновяване на одобрението, съгласно Регламент (ЕО) № 1107/2009;
- участва в работните групи на Постоянния комитет по растенията, животните, храните и фуражите, на Европейския съвет и други международни организации;
- участва в Съвета за продукти за растителна защита;
- взаимодейства с други органи, индустрията и неправителствените организации по въпроси, свързани с дейността.

**Keywords:** *Risk Assessment Center on the Food Chain, the European Food Safety Authority (EFSA), the European Plant Protection Organization (ERRO Panel on General Standards), EFSA AHAW Network on Animal Health and Welfare.*

### **Summary:**

The Risk assessment center on food chain (RACFCH) is the competent authority of the Republic of Bulgaria within the meaning of Art. 22, paragraph 7 of Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority (EFSA) (OJ L 31, 1.2.2002), (Regulation (EC) No

178/2002), and is part of a network of organizations working in the areas of competence of the European Food Safety Authority (EFSA) under Article 36, (1) and (2) of Regulation (EC) No 178/2002.

Risk assessment center on food chain works in close cooperation with EFSA, the competent authorities in the Member States and third parties with similar functions.

The Center plays a key role in the risk assessment of food and feed safety, zoonoses, diseases in wild and domestic animals, animal welfare and plant health. The Center works in close collaboration with research institutes, universities, laboratories and leading scientists from different fields, as well as national competent authorities for protection of human, animal, plant health, environment and biodiversity. The Center prepares scientific opinions and communications on existing and emerging risks in open consultation with the relevant stakeholders.

The Center reports summarized data to EFSA about registered cases of:

- zoonoses, zoonotic agents, outbreaks of food bourn outbreaks, the population of productive animals, antimicrobial resistance recorded in bacteria isolates from food and feed;
- data on residues of veterinary medicinal products (VMPs) in products from animal origin registered under the National Monitoring Program for Residue Control (NMPRC);
- since 2012, the contact point for reporting laboratory test results for chemical contaminants in food and feed is part of the structure of RACFCH. Reporting of data from laboratory tests for chemical contaminants in food and feed is carried out annually during the period 01 July - 30 September;
- in 2014, a National chemical occurrence database was developed, according to the established EFSA standards, after the implementation of a successful joint project between RACFCH and EFSA. To date, all the laboratory results obtained have been successfully submitted to EFSA;
- RACFCH carries out risk assessment of pesticide residues in food by applying the PRIMo model developed by EFSA, and performs scientific opinions on assessing the risk for the consumers. Since 2016, the contact point for pesticide reporting is also situated in RACFCH.

Risk assessment center on food chain is a:


- member of EFSA Scientific Network for Plant Health;
- member of EFSA Pesticide Monitoring Network;

- member of the General Standards Panel of the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO);
- member of EFSA Animal Health and Animal Welfare Network and other EFSA scientific networks.

The representative of Bulgaria at EFSA Advisory forum and the Bulgarian focal point of EFSA are also part of the Center. The Bulgarian focal point of EFSA acts as an interface between EFSA and national food safety authorities, research institutes and other stakeholders. The Bulgarian focal point`s activities shall be reported annually by preparing a technical report for the calendar year.

The RACFCH`s directorate for ‘Plant protection products, active substances, safeners and synergists’ provides assessment in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 and the Plant Protection Law in the following areas:

- evaluation of plant protection products as regards their authorization of placing on the market;
- evaluation of active substances for approval and renewal of approval under Regulation (EC) No 1107/2009;
- participation at the working groups of the Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed, the European Council and other international organizations;
- participation at the meetings of the Council for Plant Protection Products;
- cooperation with other authorities, industry and non-governmental organizations on issues related to its activity.



НАЦИОНАЛНАТА РЕФЕРЕНТНА ЛАБОРАТОРИЯ ПО  
ГЕНЕТИЧНО МОДИФИЦИРАНИ ОРГАНИЗМИ ЧЕСТВА 10  
ГОДИНИ ОТ СЪЗДАВАНЕТО СИ

**NATIONAL REFERENCE LABORATORY FOR GENETICALLY  
MODIFIED ORGANISMS CELEBRATES 10 YEARS OF  
EXISTENCE**

Цвета Георгиева, Видка Николова  
**Tzveta Georgieva, Vidka Nikolova**

Национален център по общественото здраве и анализи  
**National Center of Public Health and Analyses**

**Ключови думи:** *генно модифицирани организми, национална референтна лаборатория*

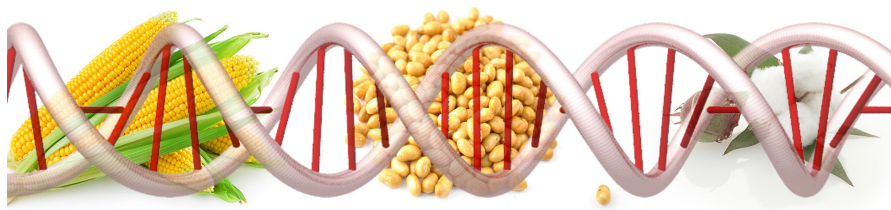
**Резюме:**

Лабораторията започва своята дейност през февруари 2007 г и е създадена със заповед на директора на Националния център по опазване на общественото здраве към Министерство на здравеопазването в рамките на Twinning PHARE Project BG/2004/IB/EC/01 между Министерство на Здравеопазването на България и Федерална Агенция по Околна Среда на Австрия “Strengthening of health control on chemical substances, preparations and products, novel foods and new food ingredients, GM foods and GM food ingredients, irradiated foods and food components” 2005 – 2007. От октомври 2017 е пълноправен член на Европейската мрежа на ГМО лабораториите (ENGL) Изпълнява аналитична, научно-приложна и обучителна дейност в областта по прилагане на законодателството за ГМО. Участва в научната мрежа за оценка на риска от ГМО към Европейския орган по безопасност на храните (EFSA). Участва във валидирането на официалните метод за контрол на Европейския пазар, като част от регистрацията на нови ГМО. Подпомага лабораториите участващи в официалния контрол в Р България. Ролята на НРЛ се определя от Регламенти (ЕС) № 882/2004, № 1829/2004 и № 120/2014 г.

**Key words:** *genetically modified organisms, national reference laboratory*

**Summary:**

The laboratory started its activity in February 2007 and was established by an order of the Director of the National Center for Public Health Protection at the Ministry of Health within Twinning PHARE Project BG / 2004 / IB / EC / 01 between the Ministry of Health of Bulgaria and the Federal Environment Agency of Austria „Strengthening the health control of chemical substances, preparations and products, novel foods and novel food ingredients, GM foods and GM food ingredients, irradiated foods and food components“ 2005 – 2007. Since October 2017 become a full member of the European Network of GMO Laboratories (ENGL). The laboratory performs analytical, scientific and training activities in the field of application of GMO legislation. Participates in the European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Network for Risk Assessment of GMOs. Participates in the validation procedure of the official control methods in European union, as part of the registration of new GMOs. Helps laboratories involved in official control in the Republic of Bulgaria. The role of the NRL is determined by Regulations (EC) No 882/2004, No 1829/2004 and No 120/2014.



# PROMOTING SCIENTIFIC COOPERATION THROUGH NEW GRANT TYPES AND INFORMATION EXCHANGE TOOLS

**Sérgio Potier Rodeia**

**European Food Safety Authority**

***Keywords:** cooperation, grants, article 36, information exchange, knowledge junction*

## **Summary:**

EFSA was established to assess and communicate on risks associated with the food chain, thereby contributing to ensure food safety for Europe's 500 million consumers. Cooperation with partners in MS and internationally has been important since EFSA's inception and EFSA's Management Board identified it as one of EFSA's strategic priority areas to further enhance the EU risk assessment capacity. Among other tools, scientific projects are supported by EFSA through grants and public procurement. Organisations can send proposals for grants following the publication of calls for proposals (open to Article 36 organisations only), send offers following publication of calls for tenders (open to all applicants according to the specifications of the call), and register an interest in being invited to submit an offer to forthcoming negotiated procedures. Article 36 of EFSA's Founding Regulation sets the basis for networking with and among MS organisations that operate in the fields within EFSA's mission. Accordingly, EFSA's Management Board established and updates the Article 36 List – a list of competent organisations which are eligible to apply to EFSA's Article 36 grants. Recently, EFSA has been investing in new types of grants such as Framework Partnership Agreements, Thematic Grants, a Fellowship Programme, Partnering Grants and Tasking Grants. These aim to facilitate the implementation of the European Risk Assessment Agenda and /or build risk assessment capacity at European level.

The sharing of data and information is at the heart of scientific cooperation. This process should be supported by robust and user-friendly tools, enabling a clear, efficient, well-structured, and, when possible, open-source information exchange. The Knowledge Junction is a curated community in the Zenodo repository for research sharing. Zenodo is an open source product, built on the foundation of the CERN Invenio digital library. It is used by the OpenAIRE project, and was commissioned by



the European Commission (EC) to support their nascent Open Data Policy by providing a catch-all repository for EC funded research. This community enables the exchange of evidence and supporting materials used in food and feed safety risk assessments, with the goal of improving transparency, reproducibility and evidence reuse. Submissions of evidence (reports, datasets, images, videos, laboratory outputs, etc.) and supporting materials generated during risk assessment (software, tools, models, code, protocols, appraisal schemes, FAQs etc.) in all file formats are welcome from any registered user of Zenodo. Member State organisations, EEA/EFTA countries and Pre-Accession countries are encouraged to upload in this Community, through their national representatives, all information relevant to risk assessment activities, including risk assessment mandates, outputs (opinions, reports, statements, guidance documents), national workplans related to risk assessment, relevant technical reports, and any other relevant document, data and software.





# USE OF THE EFSA COMPREHENSIVE EUROPEAN FOOD CONSUMPTION DATABASE IN PERFORMING DIETARY EXPOSURE AND NUTRIENT INTAKE ASSESSMENTS IN THE AREA OF GENETICALLY MODIFIED FOODS

**Jose Angel Gomez Ruiz**

**European Food Safety Authority**

**Key words:** *EFSA Comprehensive European Food Consumption Database, genetically modified foods, dietary exposure, nutrient intake*

## **Summary:**

The EFSA Comprehensive European Food Consumption Database (EFSA Comprehensive Database) was first released in 2010.<sup>1</sup> It contains information on food consumption data at individual level from the most recent national dietary surveys in different EU Member States, together with additional food consumption data for children obtained through the EFSA Article 36 project “Individual food consumption data and exposure assessment studies for children (EXPOCHI)”.<sup>2</sup> The latest version of the EFSA Comprehensive Database contains results from a total of 51 different dietary surveys carried out in 23 different Member States with 94,532 individuals, covering different age classes: infants, toddlers, children, adolescents, adults, elderly and very elderly.

Dietary exposure assessment is one of the pillars of the risk assessment together with hazard identification, hazard characterization and risk characterization. The EFSA Comprehensive Database plays a key role in EFSA in the evaluation of risks related to possible hazards in food, being used in different food safety domains such as contaminants, food contact materials, flavourings, additives, novel foods, and also genetically

1 European Food Safety Authority; Use of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database in Exposure Assessment. *EFSA Journal* 2011;9(3):2097. [34 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2097. Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm)

2 Huybrechts, I., Sioen, I., Boon, P.E. et al. Dietary exposure assessments for children in Europe (the EXPOCHI project): rationale, methods and design. *Arch Public Health* (2011) 69: 4. <https://doi.org/10.1186/0778-7367-69-4>

modified (GM) foods. In addition, nutrient intake assessment carried out in EFSA also involves the use of the EFSA Comprehensive Database in combination with the Food Composition database, an area that is also covered in the risk assessment of GM foods. Concretely, Implementing Regulation (EU) No 503/2013 on applications for authorisation of GM food and feed requires that dietary exposure assessment is carried out on the basis of representative consumption data; both short- and long-term exposure should be considered to adequately characterise the dietary exposure to compounds present in GM foods. The same Regulation also requires a nutritional assessment to demonstrate that the GM food is nutritionally equivalent to its conventional counterpart, taking natural variation into account (comparative assessment).

The dietary exposure assessment to components present in GM foods possesses its own particularities as compared to other food domains. Since no specific consumption data on GM foods are available, the first step when estimating dietary exposure is to assume full replacement of conventional foods by their GM counterparts; the use of this approach undoubtedly leads to an overestimation of the dietary exposure. Although information on the levels of particular compounds in processed commodities is sometimes provided, the concentrations, most commonly, are determined in raw agricultural commodities (e.g. maize grains rather than popcorns). In GMO applications, when estimating dietary exposure, these data are usually linked to consumption data obtained from FAO food balance sheets derived from data on production, imports, exports, domestic supply, etc.; in other occasions the consumption data come from the Pesticide Residues Intake Model (PRIMO), a model based on summary statistics of raw agricultural commodity consumption. While these approaches permit the use of the levels determined in the raw agricultural commodities, the dietary exposure estimates may be in certain occasions rather inaccurate (e.g. there is no possibility to discriminate between different food products).

The EFSA Comprehensive Database contains individual consumption data with high level of details on the different consumed foods what allows the identification of those that are relevant for the exposure estimations (e.g. excluding oil when estimating exposure to proteins). Summary statistics from the Comprehensive Database on chronic and acute consumption are publicly available (<https://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database>), and are starting to be used to estimate dietary

exposure in the most recent applications. By considering different processing factors and recipes when using the Comprehensive Database further refinement can be done if needed, e.g. when dietary exposure exceeds a health based guidance value. EFSA is at the moment working on the development of a database on consumption of raw agricultural commodities based on the consumption data contained in the Comprehensive Database. This database, developed applying a standard methodology through all dietary surveys when disaggregating the consumption data of processed foods into raw agricultural commodities, will allow a direct linkage with the concentration data submitted by the applicants.

As commented above, Implementing Regulation (EU) No 503/2013 also requires a nutritional assessment to demonstrate that the GM food is nutritionally equivalent to its conventional counterpart, taking natural variation into account (comparative assessment). In this context the Comprehensive Database plays again a key role since nutrient intake assessments are carried out combining food composition data (e.g. from the EFSA food composition database <https://www.efsa.europa.eu/en/data/food-composition>) with consumption data from the Comprehensive Database.

# CHALLENGES IN IMPLEMENTING NATIONAL BIOSAFETY FRAMEWORKS ON FOOD AND FEED SAFETY IN SELECTED COUNTRIES FROM EASTERN EUROPE AND CENTRAL ASIA: EXPERIENCES AND OUTCOMES FROM FAO PROJECTS

Nevena Alexandrova-Stefanova

Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Europe and Central Asia

*Key words: biosafety regulations, food/feed safety, thresholds, Eastern Europe and Central Asia*

## Summary:

Agricultural research has enabled a growing populace to avoid mass starvation by increasing much-needed food supplies, reducing hunger and alleviating poverty. Nonetheless, agricultural production will need to increase by 60% worldwide and double in the developing countries by 2050. In order to maximize the benefits and minimize the risks of the technology and in response to public concerns related to possible biodiversity loss or potential health issues, the Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention of Biological Diversity (CBD), was internationally agreed in 2000 and entered into force in 2003. The Protocol contains procedures and guidance that assists countries to deal with transboundary movement of living modified organisms (LMOs) while countries adopt their national legislations on biosafety, the latter being obligation to the Parties of the CBD. The WHO-FAO Codex Alimentarius is also providing useful guidelines to countries that enable developing and implementing the food and feed safety legal requirements related to GMOs. The recent FAO surveys and projects reveal the current challenges that countries with economies in transition face in setting up biosafety and food safety regulations, inspections, thresholds, low level and adventitious presence. Very often, EU models are used as best practice instead of international standards and agreements.



## NETWORKING - A TOOL FOR FOOD SAFETY ACROSS BORDERS

Cristina Aleixo

**Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária Unidade de Tecnologia e Inovação Laboratório de Microbiologia Agro-Industrial**

**Key words:** *harmonization, Food safety, Quality, Network*

### **Summary:**

In this presentation I would like to share what was the experience and the importance of participating in the European network of GMO laboratories and the impact, which has nowadays, to our lab for emerging challenges on issues such as Food Safety, Quality and Laboratory Accreditation.



**LISTERIA MONOCYTOGENES – ПАТОГЕН В ХРАНИТЕ (обзор)**

**LISTERIA MONOCYTOGENES – A FOODBORNE PATHOGEN (review)**

Десислава Бангиева и Валентин Русев  
**Desislava Bangieva and Valentin Rusev**

Отдел Хигиена, Технология и контрол на животинските храни, ветеринарно законодателство и мениджмънт, Ветеринарен факултет, Тракийски университет, Стара Загора, България

**Department of Hygiene, Technology and Control of Animal Foodstuffs, Veterinary Legislation and Management, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria**

**Ключови думи:** *Listeria monocytogenes, сурово мляко, листериоза, обществено здраве, хранителни рискове*

### **Резюме**

*Listeria monocytogenes* е патогенен микроорганизъм,

причиняващ тежки заболявания по хората и животните, което определя и голямата му значимост за хуманната и ветеринарната медицина. Той е широко разпространен в околната среда и като психротроф е способен да се намножава в контаминираните храни дори при хладилно съхранение. Това е сериозна предпоставка за възникване на заболявания с разнообразна клинична симптоматика и висок леталитет. Множество данни свидетелстват за честотата на проявление на листериозата при различните рискови и възрастови групи, но остават недиагностицирани или недокладвани случаи. Този обзор обобщава по-съвременни данни от проучванията върху опасните серотипове *Listeria monocytogenes*, рискови за човешкото здраве и основните източници за заразяване на хората.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, raw milk, listeriosis, public health, food hazards

### Summary

*Listeria monocytogenes* is a pathogenic microorganism causing severe diseases in humans and animals, which determines its great importance for human and veterinary medicine. It is widely distributed throughout the environment and as a psychrotroph is able to multiply in contaminated foods even under cold storage. This is a serious precondition for the occurrence of diseases with diverse clinical symptoms and high lethality. Numerous data sources indicate the incidence of listeriosis at different risk and age groups but still some cases remain undiagnosed or unreported. This review summarizes more recent data from studies on the hazardous *Listeria monocytogenes* serotypes risky for human health and the main sources of human infection.

# APPLICATION OF NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) IN CHARACTERISATION OF UNAUTHORISED GMO IN FOOD AND FEED

N. Papazova, M.-A. Fraiture, S. De Keersmaecker, N. H. Roosens

Scientific Institute of Public Health Platform Biotechnology and molecular Biology GMO lab

*Key words: GMO detection, PCR, molecular biology*

## Summary:

In the EU placing on the market of products derived from GMO is strictly regulated. Each GMO event needs to pass a procedure for authorisation requiring availability of qPCR event-specific method. The food and feed products on the market are subsequently controlled by the Control Authorities for the presence of authorised GMO and for determination of their quantity in order to control the compliance with the labelling legislation (ref).

However, several cases in the last 10 years demonstrated that GM events that are not authorised in the EU can occur on the EU market in products imported from third countries (e.g. Bt10 maize, LL601 and Bt63 rice). Moreover, these could be GM events that have never been authorised even out of the EU and with limited knowledge on their structure and transgenic elements present (e.g. GM events in rice products from China). The current detection system aimed at detection of authorised GMO relies on the detection of common transgenic elements and authorised GM events by using real-time PCR. This analytical strategy works fine for the control in function of labelling, but has limitations in regard to the detection of unauthorised GMOs.

Next Generation Sequencing (NGS) in combination with PCR based strategies can be a powerful tool for detection of unauthorised GMOs in food and feed as it can be applied with limited a priori knowledge on the GM sequence. Here, several examples of detection of application of NGS in detection and characterisation of unauthorised GMOs will be presented.



СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА ФИТОХИМИЧНИЯ СЪСТАВ И  
ФАРМАКОЛОГИЧЕН ПОТЕНЦИАЛ НА АРОМАТИЧНИТЕ  
ПРОДУКТИ ОТ БЪЛГАРСКАТА ROSA ALBA L. И ROSA  
DAMASCENA MILL.

COMPARATIVE PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND  
PHARMACOLOGICAL POTENTIAL OF AROMATIC  
PRODUCTS FROM BULGARIAN ROSA ALBA L. AND ROSA  
DAMASCENE MILL.

Алмира Георгиева<sup>1</sup>, Елина Цветанова<sup>1</sup>, Албена Александрова<sup>1</sup>, Анна  
Добрева<sup>2</sup>, Милка Милева<sup>3</sup>

**Almira Georgieva<sup>1</sup>, Elina Tzvetanova<sup>1</sup>, Albena Alexandrova<sup>1</sup>, Anna  
Dobрева<sup>2</sup>, Milka Mileva<sup>3</sup>**

Лаборатория „Свободни радикални процеси“, направление  
„Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“,  
Институт по Невробиология, Българска Академия на науките, 2  
Институт по розата и етеричномаслените култури – Казанлък, 3  
Лаборатория „Модификатори на биологичния отговор и патогенеза  
на вирусните инфекции“, направление „Вирусология“, Институт по  
Микробиология „Стефан Ангелов“, БАН

**Institute of Neurobiology, BAS, Department “Biological Effects of  
Natural and Synthetic Substances”**

**Ключови думи:** *Rosa alba L., Rosa damascena Mill., ароматични  
продукти, антирадикална и антимикробиална активност  
Rosa alba L.*

**Резюме:**

Розовото масло, вода и абсолю съдържат важни ароматни и летливи съединения, поради които са сред най-ценните суровини в хранителната, парфюмерийната, козметичната и фармацевтична промишленост. В хранително-вкусовата промишленост те се използват в производството на сладкарски изделия и напитки, поради вкусовете и ароматни им свойства. Целта на настоящето изследване



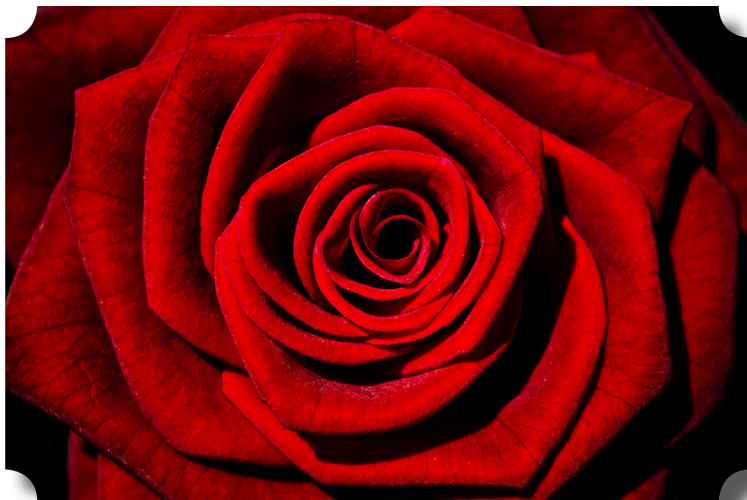
беше да се сравни хроматографския профил, антимикробните и антиоксидантните активности на розовата вода, масло и абсолю на българската *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill. Материали и методи: Етеричните масла и хидрозоли бяха получени чрез хидродестилация, а абсолюто от двете рози чрез селективна екстракция. Анализът на състава им бе направен чрез GC/MS. Резултати: Въз основа на GC-MS анализа, компонентите на маслата се разделиха в следните групи: монотерпени, въглеродороди с дължина на веригата C15 – C31, фенилпропаноиди и тритерпеноиди. Хидрозолът от бялата роза съдържаше почти три пъти повече полифеноли в сравнение с хидрозола на *Rosa damascena*. Скевинджър потенциалът на маслото от *Rosa alba* L. спрямо DPPH радикалите беше значително по-висок от този на *Rosa damascena* Mill, също така потенциалът на розовата вода от *Rosa alba* L. като водоразтворим антиоксидант беше по-голям от хидрозола на *Rosa damascena* Mill. Антимикробният ефект, изразен като минимална инхибиторна концентрация (МИК), показва, че етеричните масла от двете рози и техните инградиенти имат по-слаба активност спрямо Грам-положителните *Enterococcus faecalis* в сравнение със *Streptococcus mutans*, но по-висока активност спрямо Грам-отрицателните патогени *Agregibacter actinomycetemcomitans*. Бе определена МИК на масло от *Rosa alba* L. - 0.45 mg.mL<sup>-1</sup>, и МИК на стандартния антимикробен агент Vancomycin - 1.8 µg.L<sup>-1</sup>. Заключение: Резултатите показаха възможност за приложението на ароматичните продукти от *R. alba* L. and *R. damascena* Mill. в хранително-вкусовата промишленост като нетоксични антиоксиданти и антибактериални агенти.

**Key words:** *Rosa damascena* Mill., aromatic products, antiradical and antimicrobial activity

### Summary:

Containing important aromatic and volatile compounds, rose oil, rose water and rose absolute are among the most valuable raw materials of food, perfume, cosmetic, and pharmaceutical industries. In the food industry they are used in the production of biscuits, cakes, confectionery products, and beverages due to its taste and aromatic qualities. Aim: In the present study, we compared the chromatographic profile, antimicrobial and antioxidant activities of rose water, rose oil and rose absolute from Bulgarian

*Rosa alba* L. and *Rosa damascena* Mill. Materials and Methods: Essential oils and hydrosols were prepared by hydrodistillation and analyzed by GC/MC. Rose absolutes were prepared by selective extraction. Results: Based on GC-MS analysis of the components of the oils could be divided into the following groups: monoterpenes, hydrocarbons with chain length C15 - C31, phenylpropanoids and triterpenoids. Hydrosol of the white rose was almost three times richer in polyphenols compared to *Rosa damascena*. The potential of *Rosa alba* L. oil to scavenge DPPH radicals were significantly higher than *Rosa damascena* Mill., as well the potential of hydrosol of *Rosa alba* L. as water-soluble antioxidant was higher too. Antimicrobial effects of both oils expressed as minimum inhibitory concentration (MIC) indicated that aromatic products and their ingredients were less active against Gram-positive *Enterococcus faecalis* as compared to *Streptococcus mutans*. They showed higher activities against Gram-negative pathogen *Agregibacter actinomycetemcomitas*, MIC of *Rosa. alba* L. essential oil was 0.45 mg.mL<sup>-1</sup>, and MIC of standard antimicrobial agent Vancomycin - 1.8 µg.L<sup>-1</sup>. In conclusion, the results suggested a possibility for applying *R. alba* L. and *R. damascena* Mill. aromatic products as nontoxic antioxidants, as well antibacterial agents in food industry.



НОВИ ПОДХОДИ ЗА БЪРЗА ДЕТЕКЦИЯ НА *YERSINIA ENTEROCOLITICA* И НАБЛЮДЕНИЕ В СВИНЕ ЗА КЛАНЕ

NEW APPROACHES FOR FAST DETECTION OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* AND SURVEILLANCE IN SLAUGHTER PIGS

Мая Захариева, Мая Ангеловска, Людмила Димитрова, Ива Цветкова, Виктория Тенева, Елз ван Коли, Марк Хейндрикс, Христо Миладинов Найденски

**Maya Zaharieva, Maya Angelovska, Lyudmila Dimitrova, Iva Tsvetkova, Victoria Teneva, Els van Collie, Mark Heyndricks, Hristo Miladinov Najdenski**

Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН

**The Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences**

*Ключови думи:* йерсиниоза, свине за клане, бърза детекция, LAMP, наблюдение на *Y. enterocolitica*

**Резюме:**

Йерсиниозата е третата най-често докладвана зооноза в ЕС от 2014 г. насам. Основен причинител в регистрираните случаи при хора и животните е *Yersinia enterocolitica* (serotypes O:3, O:9, O:5,27). Само няколко страни-членки на ЕС докладват данни от наблюдение на *Yersinia*. Стандартните бактериологични методи са времеемки и трудоемки, докато конвенционалните молекулярно-биологични тестове са с ниска чувствителност. В това изследване ние направихме скрининг на проби от кланични прасета за наличието на *Y. enterocolitica* и разработихме специфичен, чувствителен и евтин LAMP-базиран протокол за бърза детекция на патогена.

Методите, използвани в това изследване включваха бактериология (BS EN ISO 10273-2003); директно изолиране на ДНК от проби; PCR за селективност на праймерите; TaqMan-qPCR; Примково медирана ДНК амплификация (LAMP). ДНК бече изолирана от 16

щамата *Y. enterocolitica* (6 патогенни, серотипове O:3, O:5, O:8, O:9 и 10 непатогенни) и 16 други Грам (-) и Грам (+) бактериални видове. От общо 276 проби, 19 бяха позитивни за *Y. enterocolitica*. Бяха изпрани праймери, комплементарни на гена *phoP*, които показаха висока селективност за патогенни щамове *Y. enterocolitica*. Чувствителността на LAMP беше тествана с чиста ДНК в концентрация от 1 до 10 ДНК копия на реакция. Чувствителността на LAMP теста в изкуствено контаминирани проби, определена с цветна реакция и гел електрофореза, беше идентична с тази на TaqMan-qPCR метода и беше по-висока от тази на конвенционалния PCR подход.

В заключение, нашите резултати показват, че изследваните групи свине за клане носят патогенни бактерии *Y. enterocolitica* в тонзилите по време на клането и могат да представляват риск за консуматорите. Методът LAMP е надежден, бърз и селективен, като повишаването на неговата чувствителност в кланични проби зависи от оптимизацията на протоколите за директно изолиране на ДНК.

**Key words:** *Yersiniosis, slaughter pigs, fast detection, LAMP, Y. enterocolitica surveillance*

### Summary:


Yersiniosis is the third most commonly reported zoonosis in the EU since 2014. The main causative agent in human cases and animals is *Yersinia enterocolitica* (serotypes O:3, O:9, O:5,27). Only few EU states report data for *Yersinia* surveillance. The standard bacteriological methods for detection are time consuming and laborious; the conventional molecular biology tests have low sensitivity. In this study, we carried out a screening of slaughter pig's samples for the presence of *Y. enterocolitica* and established a specific, sensitive and inexpensive LAMP protocol for fast detection.

The methods applied in this study included: bacteriology (BS EN ISO 10273-2003); direct DNA isolation from pig's samples; PCR for primers selectivity; TaqMan-qPCR; Loop mediated DNA amplification (LAMP). DNA was isolated from 16 *Y. enterocolitica* strains (6 pathogenic, serotypes O:3, O:5, O:8, O:9 and 10 nonpathogenic) and 16 other Gram (-) and Gram (+) bacterial species.

Out of 276 pig samples 19 were positive for *Y. enterocolitica*. The primer set used was complementary to the gene *phoP* and showed high

selectivity for pathogenic *Y. enterocolitica* strains. The sensitivity of LAMP performed with pure DNA input was 1 to 10 DNA copies per reaction. The sensitivity of the LAMP reactions in contaminated samples determined through direct dye visualisation and gel electrophoresis corresponded to that of the TaqMan-qPCR method and was higher than the conventional PCR.

In summary, our findings indicate that the examined groups of pigs carry pathogenic *Y. enterocolitica* on their tonsils at the time of slaughter which has an importance for the health risk in consumers. The LAMP method is reliable, fast and selective but further optimisation of the DNA isolation protocol is needed in order to enhance the sensitivity of the reaction.



ЗООНОЗА И ЗАПЛАХА: ХЕПАТИТ Е ПРИ СВИНЕ И В  
БЪЛГАРИЯ

**A ZOONOTIC THREAT: HEPATITIS E VIRUS IN PIGS AND IN  
BULGARIA**

Илия Цачев, Мария Пишмишева, Роман Пепович, Магдалена  
Баймакова, Пламен Маруцов, Лилия Пекова

**Iliia Tsachev; Maria Pishmisheva; Roman Pepovich; Magdalena  
Baymakova; Plamen Marutsov; Lilia Pekova**

Ветеринарномедицински факултет -Тракийски университет, Стара  
Загора, Многопрофилна болница за ативно лечение - Пазарджик,  
Факултет по ветеринарна медицина - Лесотехнически университет,  
София Военномедицинска академия, София, Медицински факултет -  
Тракийски университет, Стара Загора

**Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University of Stara Zagora,  
Stara Zagora, Bulgaria Department of Infectious Diseases, Hospital  
of Pazardjik, Pazardjik, Bulgaria Faculty of Veterinary Medicine,  
University of Forestry, Sofia, Bulgaria Department of Infectious  
Diseases, Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria Faculty of  
Medicine, Trakia University of Stara Zagora, Stara Zagora, Bulgaria**

**Резюме:**

Обзорен материал върху хепатит Е вирусната инфекция (HEV) с акцент свине – епидемиология, етиология, клинична картина и диагностика. Предоставят се най-новите данни за хепатит Е и при хора, включително и в България. Обръща се особено внимание на констатитираните в България за първи път случаи на инфекцията при свине през 2017 г. от два различни научни колектива. Колективът на Мазаловска и сътр. доказва инфекцията в 34 кръвни серуми от изследвани 45 (75.5%). Авторите получават рекомбинантния протеин HEV 110-610 в растението *Nicotiana benthamiana* и го препоръчват да бъде използван като диагностичен антиген при ELISA за определяне на анти-HEV серумни антитела – човешки и свински. Колективът на Пишмишева и сътр. прави първото сероепидемиологично изследване /район на Пазарджик и Сливен/ и установява в 4 от изследвани 5 свинеферми (80%) антитела на HEV. Фермите са със серопревалентност при отбитите прасета 50% (n=44), при подрастващите 29.2% (n=41), или средна серопревалентност от 40% (n=85).

**Key words:** *hepatitis E, pigs, Bulgaria*

**Summary**

Current knowledge on hepatitis E virus infection (HEV) with an accent on pigs - epidemiology, etiology, clinical signs and diagnosis. Presented is the latest data on hepatitis E in humans as well, including in Bulgaria. Emphasis is placed on the first cases of swine HEV in 2017 from two different scientific teams in Bulgaria. The team of Mazalovska et al., 2017 confirmed the infection in 34 blood sera from the 45 examined (75.5%). The authors received the recombinant HEV 110-610 protein from the *Nicotiana benthamiana* plant and recommended it to be used as a diagnostic antigen in ELISA to determine anti-HEV serum antibodies - human and porcine. The team of Pishmisheva et al., 2017 made the first seroepidemiological study /region of Pazardzhik and Sliven/ and found HEV antibodies in 4 of the 5 farms (80%) tested. Farms are seroprevalent in the weaned piglets 50% (n=44), in the fattening pigs 29.2% (n=41) or mean seroprevalence of 40% (n=85).



ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА И ПРОБЛЕМИ ПРИ РЕГУЛИРАНЕ НА  
ХРАНИТЕЛНИ ДОБАВКИ  
CHALLENGES AND PROBLEMS OF FOOD SUPPLEMENT  
LEGISLATION

Веселка Дулева  
Vesselka Duleva

Национален център по обществено здраве и анализи  
**National Center of Public Health and Analyses**

**Ключови думи:** *хранителни добавки, законодателство, витамини, минерали, растения, здравни претенции*

Резюме:

Значителното търсене и употребата на хранителни добавки повишават изискванията към осигуряване на безопасността им. Свободната търговия, лоялната конкуренция на пазара и опазване здравето на потребителите са приоритет на хармонизираното европейско законодателство. Представени са основните законодателни изисквания в Европейския съюз към производство и предлагане на хранителни добавки. Очертани са аспектите на хармонизиране и транспониране на европейското законодателство, съществуващите проблеми при прилагането му и бъдещите потребности за по-пълно хармонизиране на нерешени към момента елементи на регулиране като определяне на максимални нива на витамини и минерали и списък с разрешени растения за използване при производство на хранителни добавки.

**Key words:** food supplements, legislation, vitamins, minerals, herbs, health claims

**Summary:**

Significant demand and use of food supplements increase requirements to ensure their safety. Free trade of goods, fair competition in the market and consumer health is the main priority of harmonized European Food law. The basic European legislative requirements for production and marketing of Food supplements are presented. Outlines the main aspects of harmonization and transposition of EU Food Law,

problems of implementation and future needs for harmonization of currently unresolved elements of legislation of Food supplements such as the setting of maximum levels of vitamins and minerals and a list of plants that are authorized for use in the production of Food supplements.

ГЕННИ ВАКСИНИ – ПРИЛОЖЕНИЕ ВЪВ ВЕТЕРИНАРНАТА  
МЕДИЦИНА  
**GENETIC VACCINES – APPLICATION IN VETERINARY  
MEDICINE**

Райко Пешев  
**Rayko Peshev**

Национален диагностичен научноизследователски  
ветеринарномедицински институт, ”проф. д-р. Г. Павлов”, гр. София

**National Diagnostic Research Veterinary Medical Institute, “Prof. Dr.  
G. Pavlov “, Sofia**

***Ключови думи:** ваксини, вируси, рекомбинантна ДНК технология*

**Резюме:**

Ваксините представляват живи или инактивирани (убити) имунопрофилактични продукти, използвани за протекция на животните от инфекциозни заболявания. Основавайки се на биологичните свойства на ваксиналните продукти и на особеностите, свързани с безопасността, ваксините за ветеринарна употреба се разделят на: I група, която включва нежизнеспособни или убити продукти, които представляват незначителен риск за околната среда, II група ваксини, съдържащи живи микроорганизми, модифицирани чрез добавяне или делетиране на един или повече гени, III група, при които се използват живи вектори за пренасяне на рекомбинантни чужди гени, които кодират имунизирещите антигени.

Живите ваксини се приготвят от слабо вирулентни теренни изолати на бактерии или вируси, или чрез тяхното пасиране през лабораторни животни, клетъчни култури или кокоши ембриони. За борба с шапаях разработени, т.нар. високо пречистени ваксини.



Чрез използване на процедурите на рекомбинантната ДНК технология се осигуриха възможности за производство на генни ваксини. Маркерните ваксини са получени чрез делеция на определени гени, или вмъкване на гени, които кодират специфичните имунизирани антигени от микроорганизма.

Векторни ваксини, са получени чрез използване на вируси с голям геном (шаркови, херпесни и аденовируси) като вектори, в които са експресирани определени протеини от прицелните вируси. Чрез използване на бакуловирусна система или вируси на шарката или свинския херпесвирус 1 е разработена субединична ваксина срещу чумата по свинете. Разработени са и ДНК ваксини, при които директно в клетките на гостоприемника се вкарва бактериална плазмидна ДНК, която кодира имунизирателен антиген. Други много перспективни за бъдещо използване са т.н. “ядливи ваксини“, при които растения експресират различен брой чужди протеини и различен брой трансгени по едно и също време. Благодарение на обратната генетика особено при вируси с негативни РНК вериги е възможно клониране на целия вирусен геном и конструиране на РНК вируси чрез рекомбинантна технология. Този подход се използва за разработване на атенуирана ваксина срещу вируса на инфлуенцата по птиците чрез отстраняване на основния аминокиселинен остатък от мястото на разцепването на хемаглутининовия ген.

При прилагането на всички ваксини е необходимо да се направи оценка на риска за околната среда и здравето на животните и човека, особено при използването на ваксини срещу зооозни заболявания. Европейският съюз е изготвил действаща директива 2001/18/за използването на живи рекомбинантни векторни ваксини за ветеринарна употреба.

**Key words:** *vaccines, viruses, recombinant DNA technology*

### **Summary:**

Vaccines represent live or inactivated (killed) immuno-prophylactic products used to protect animals from infectious diseases. Based on the biological properties of the vaccine products and the safety features, veterinary vaccines are divided into: I group that includes non-viable or killed products that pose a minor risk to the environment, II group of vaccines containing living microorganisms, modified by the addition

or deletion of one or more genes and third group using live vectors for transferring recombinant foreign genes encoding the immunizing antigens. Live vaccines are prepared from mildly virulent field isolates of bacteria or viruses or by their passage through laboratory animals, cell cultures or hen embryos. To combat foot-and-mouth disease have been developed, so-called highly purified vaccines.

By using the recombinant DNA technology procedures, opportunities have been provided for the production of gene vaccines.

Marker vaccines are obtained by deletion of certain genes or insertion of genes that encode specific immunizing antigens from the microorganism.

Vector vaccines are produced by using large genome viruses (poxviruses, herpes and adenoviruses) as vectors in which certain proteins from the target viruses are expressed. By using a baculovirus system, poxviruses or swine herpesvirus 1, a subunit vaccine against classical swine fever has been developed. DNA vaccines have been developed in which bacterial plasmid DNA is directly inserted into host cells which encodes an immunizing antigen. Other very promising for future use are so called “Edible vaccines,” in which plants express a different number of foreign proteins and a different number of transgenes at the same time. Thanks to reverse genetics, especially in viruses with negative RNA chains, it is possible to clone the entire viral genome and construct RNA viruses by recombinant technology. This approach is used to develop an attenuated avian influenza virus vaccine by removing the major amino acid residue from the cleavage site of the haemagglutinin gene.

When applying all vaccines, it is necessary to assess the risks to the environment and animal and human health, especially when using vaccines against zoonotic diseases. The European Union has drafted an existing Directive 2001/18 / EC on the use of live recombinant vector vaccines for veterinary use.

ОЦЕНКА НА БИОЛОГИЧНИЯ РИСК ПРИ ДОБИВА НА ДИВИ  
ЧЕРНОМОРСКИ МИДИ  
**BIOLOGICAL RISK ASSESSMENT OF IN THE PRODUCTION  
OF WILD BLACK SEA MUSSELS**

проф. д-р Йордан Гогов, гл. ас. д-р Гергана Крумова-Вълчева  
**Professor Yordan Gogov,**  
**chief assistant Gergana Krumova-Valcheva**

Българска асоциация на акредитираните лаборатории за анализ и  
диагностика Национален диагностичен научноизследователски  
ветеринарномедицински институт  
**Bulgarian association of accredited laboratories for research and  
diagnostics/National Diagnostic and research Veterinary medical  
Institute**

**Ключови думи:** *оценка на риска, биологичен риск, черноморски миди,  
E. coli*

**Резюме:**

В акваторията на българското черноморско крайбрежие има благоприятни условия за развитие на морските мекотели. Сред тях водещо място заемат мидите от вида *Mytilus galloprovincialis*. Освен тях определено промишлено значение имат и някои представители от родовете *Mytilaster*, *Mya*, *Donax*, *Chamella* (*Venus*) и др. Добивът на диви миди от естествените им местообитания, както и отглеждането на култивирани миди в специално изградени ферми е регламентиран със специални разпоредби в европейското и национално законодателството в областта на храните. Мидите са двучерупчести мекотели с филтърно хранене, при което в организма им освен хранителни вещества постъпват и редица замърсители, намиращи се във морската вода, пясъка, тинята, фитопланктона и др. Обилното замърсяване на черноморското крайбрежие в определени акватории с непречистени отпадъчни води от промишлени обекти, както битовата и канализационна мрежа в урбанизираните територии, създават условия за възникване на биологичен, химичен/токсикологичен и физически риск при добива на черноморски миди. Съществено място при оценката на риска се отдава на биологичните опасности, които са

определени като водещи в системата за управление на безопасността на двучерупчестите мекотели, предлагани на пазара. Първите стъпки в България относно контрола върху качеството и безопасността при добива на живи черноморски миди от естествените им местообитания са направени в края на 60-те и началото на 70-те години на миналия век. В БДС 7800-75 са въведени конкретни изисквания към живите миди от вида *Mytilus galloprovincialis*, предназначени за консумация и преработка. Освен, че трябва да са уловени в райони с чиста морска вода, мидите следва да са живи, добре почистени от пясък и други замърсявания. Задължително е да са прекарвали период на самоочистване след улова в чиста подсолена или морска вода в слой до 20-25 см и температура от 4 до 15°C за 48 часа в басейн или 24 часа в морска вода. Общият брой на аеробните микроорганизми в пречистените миди не трябва да превишава 80 000, колититърът да бъде над 1, и патогенни микроорганизми да не се установяват. В актуалното европейско законодателство са въведени строги разпоредби относно добива, реализацията и официалния контрол на живите двучерупчести мекотели. Компетентният орган е задължен да определи местоположението и границите на производствените зони, класифицирани в 3 категории – А, В и С в зависимост от степента на фекално замърсяване с *E.coli*. За целта е необходимо да се изготви план за пробовземане от производствените райони, географското разпределение на местата за вземане на проби, честотата на пробовземане, с която да се гарантира представителност на данните за съответния производствен район. При разработване на плановете трябва да се отчитат колебанията в микробния статус/фекалното замърсяване, наличието на токсичен фитопланктон в морската вода и др. фактори, определящи биологичната безопасност на мидите. При класифициране на производствените райони задължително се прави опис на източниците на биологичните опасности от човешки и животински произход, характеристиката на замърсяванията от биологичен произход, тяхната циркулация въз основа на морските течения, батиметрията, цикъла на приливите и отливите в съответния район. Когато резултатите от анализите показват, че здравните стандарти за мекотелите не са изпълнени и здравето на потребителя е изложено на риск, компетентният орган следва да затвори съответната производствена зона и да спре събирането на живи двучерупчести мекотели. В Регламент (ЕО) № 2073/2005 са въведени микробиологични

критерии за оценка на живите двучерупчестите мекотели, пуснати на пазара и в срока им на годност – изследват се 5 единици, всяка от които се състои най-малко от 10 отделни миди. Съгласно въведените критерии при изследване на 5 единици двучерупчестите мекотели не се допуска наличие на *Salmonella* в 25 g от продукта (месо и вътречерупкова течност). Съдържанието на *E.coli* не трябва да превишава 230 MPN в 100 g месо и вътречерупкова течност. В една от 5-те изследвани единици обаче се допуска количеството на *E. coli* да бъде в границите между 230 и 700 MPN в 100 g месо и вътречерупкова течност. Живите двучерупчести мекотели трябва да бъдат изследвани и за наличие на морски биотоксини. Съгласно здравните стандарти в ЕС количеството на морските биотоксини не трябва да превишава определените норми за съответния вид биотоксини. В микробиологичните критерии за сега не са включени изисквания за други патогени като халофилни вибриони, норовируси, хепатитни вируси и др., но проучванията на експертите показват, че тези болестотворни причинители са честа находка в дивите двучерупчести мекотели /миди и стриди/ и при определени условия може да предизвикат тежки хранителни разстройства. Установената добра практика за добив, реализация и контрол на живи двучерупчести мекотели като аквакултури създава определени гаранции за здравната безопасност на крайния продукт, предлаган на пазара. Същевременно добивът на диви миди от неклассифицирани райони и нерегламентирани събирачи по българското черноморско крайбрежие е факт, който буди тревога. Дивите мидите най-често се събират в места, богати на органични субстрати, в близост до зауствания на непречистени канализационни и отпадни води, край ваканционни селища, селски и градски колектори, пристанищни и индустриални обекти. Известно е незадоволителното състояние на пречиствателните станции край черноморското крайбрежие, недостатъчният им капацитет /особено през активния туристически сезон/ и невъзможността за ефективно пречистване на големият обем отходни води. Проверките на компетентните органи в различни точки на северното и южно черноморие показват на много места свободно изтичане на фекални води в крайбрежните акватории. Нерегламентираното събиране на диви миди без задължително пречистване и амбулатната търговия с тях край плажовете, пътищата и заведенията за обществено хранене създава реален здравословен риск за консуматора. Напоследък все по-актуален е въпросът за добива,

реализацията и контрола на дивата бяла пясъчна мида в българската акватория на Черно море. Тази мида формира различни по-големина струпвания в плитките /прибойни/ морски води на дълбочина 10-20 m и представлява доходен бизнес край морето. За съжаление уловът на бяла пясъчна мида у нас не е правно регулиран. Като се има предвид местообитанието на този вид дребни пясъчни миди, биологичното замърсяване на крайбрежните морски води и пясъчно дъно, както и отсъствието на процедури за пречистване при нерегламентирания улов, е налице потенциален биологичен риск от увреждане здравето на потребителя.

**Key words:** *risk assessment, biological risk, black sea mussels, E.coli*

### **Summary:**

In the water area of the Bulgarian Black Sea coast has favorable conditions for the development of mollusks. *Mytilus galloprovincialis* has a leading position among them. The genus *Mytilaster*, *Mya*, *Donax*, *Chamella* (*Venus*) and others have some industrial significance too. The production of wild mussels from their natural habitats and their cultivation in specially mussels farms is regulated by special EU and national food legislation. The mussels are filter feeding organisms and they except with nutrients a number of contaminants, present in seawater, sand, mud, phytoplankton and others. The severe pollution of the Black Sea coast with untreated waste water from industrial sites, as well as the domestic and sewerage networks in the urbanized territories, create conditions for the biological, chemical / toxicological and physical risk of harvesting Black Sea shellfish. Significant place in the risk assessment is given to biological hazards have been identified as leaders in the management of the safety of bivalve mollusks on the market. The first steps in Bulgaria on quality control and safety in the production of live Black Sea mussels from their natural habitats are made in the late 60s and early 70s of last century. Specific requirements of live mussels of the species *Mytilus galloprovincialis*, intended for consumption and processing were introduced in BDS 7800-75. Except that should have been caught in areas with clean sea water, mussels should be alive and well cleaned from sand and other contaminants. It is mandatory to have spent a period of self-cleaning after the catch in pure salted or sea water in a layer up to 20-25 cm and temperature from 4 to 150C for 48 hours in a swimming pool or 24 hours in seawater. The total

number of aerobic microorganisms in purified mussels should not exceed 80,000, the coli titer to be above 1, and pathogenic microorganisms not to be detected. In current European legislation have been introduced strict regulations on the harvesting, and official control of live bivalve mollusks. The competent authority is required to determine the location and boundaries of production areas classified into 3 categories - A, B and C depending on the degree of E. coli and fecal contamination. For this purpose it is necessary to draw up a sampling plan from the production areas, the geographical distribution of the sampling sites, the sampling frequency to ensure representativeness of the data for the production area concerned. In developing plans must take account of variations in microbial status/ fecal contamination, the presence of toxic phytoplankton in seawater and other factors determining the biological safety of shellfish. There should be made concerned an inventory of sources of biological hazards of human and animal origin, the characteristics of pollutants of biological origin, their circulation on the basis of sea currents, bathymetry, the tidal cycle in the area when classifying production areas. The competent authority should close the relevant production area and stop harvesting live bivalve mollusks, where the results of the analyzes show that the health standards for mollusks are not met and the health of the consumer is at risk. Regulation (EO) № 2073/2005 introduced microbiological criteria for assessment of live bivalve mollusks placed on the market in their lifetimes - are studied 5 units, each of which consists at least 10 individual mussels. According to the introduced criteria, the study of 5 units of bivalve mollusks does not allow the presence of Salmonella in 25 g of the product (meat and intra-valvular liquid). The content of E. coli should not be exceed 230 MPN per 100 g of meat and intra-valvular liquid. However, in one of the 5 tested units, the amount of E. coli may be in the range between 230 and 700 MPN in 100 g of meat and intra-valvular liquid. Live bivalve mollusks should be tested for the presence of marine biotoxins. The amount of marine biotoxins should not be exceed the limits for the respective species of biotoxins according to EU health standards. The microbiological criteria do not include requirements for other pathogens such as halophilic vibriions, noroviruses, hepatitis viruses, etc., but science research show that these pathogens are a common finding in wild bivalve mollusks and under certain conditions can cause severe food outbreaks. Established good practice for the harvesting and control of live bivalve mollusks such as aquaculture creates certain guarantees for the health safety of the



final product available on the market. At the same time, the production of wild mussels from unclassified regions and unregulated collectors on the Bulgarian Black Sea coast is a alarming fact. The wild mussels are often collected in places rich in organic substrates, near discharges of untreated sewage, near to holiday villages and city collectors, harbor and industrial sites. It is known unsatisfactory state of treatment plants near to the Black Sea coast, insufficient capacity /especially during tourist season/ and the inability to effectively purify large volumes of sewage. The checks by the competent authorities in different parts of the northern and southern coast show in many places free flow of sewage into coastal waters. Unauthorized harvesting of wild mussels without mandatory clearing and trading near the beaches, roads and catering, creates a real health risk for consumers. Recently, more and more topical is the issue of production and monitoring of wild white sand clam in Bulgarian waters of the Black Sea. This clam forms a variety of clusters in shallow /surfing/ seawater at a depth of 10-20 m and is a profitable business by the sea. Unfortunately, the catch of white sand mussel in our country is not legally regulated. The habitat of this species of small sand mussels is the biological pollution of coastal seawater and the sandy bottom, and the absence of purification procedures for unregulated production, there is a potential biological risk to the health of the consumer.



МИКРОБИОЛОГИЧНО ДОКАЗАНА КОЖНА ФОРМА НА  
ЧОВЕШКИ АНТРАКС  
MICROBIOLOGICALLY PROVEN HUMAN CUTANEOUS  
ANTHRAX

Р. Ненова<sup>1</sup>, Е. Кубратова<sup>2</sup>, И Иванов<sup>1</sup>, И. Томова,<sup>1</sup> В. Толчков<sup>1</sup>, Т  
Кантарджиев<sup>1</sup>

**R. Nenova<sup>1</sup>, E. Kubratova<sup>2</sup>, Ivanov<sup>1</sup>, I. Tomova<sup>1</sup>, V. Tolchkov<sup>1</sup>, T  
Kantardzhiev<sup>1</sup>**

1 Национална Референтна Лаборатория „Особено опасни  
бактериални инфекции”, София  
2 МБАЛ „Св. Иван Рилски”, Разград  
**1 National Reference Laboratory  
„High Medical Risk Infections“, Sofia  
2 MBAL – Razgrad**

**Ключови думи:** *Bacillus anthracis*, антракс, кожна форма,  
микробиологична диагностика

**Резюме:**

Антракът е особено опасна зоонозна инфекция в епидемичната веригата на която при определени условия може да бъде включен и човекът. През последното десетилетие в България се регистрират спорадични случаи на това заболяване сред хора. Проучването им сочи, че те възникват главно в резултат на пряк контакт с болни животни. Представяме резултати за първият през 2017 г. потвърден случай на кожна форма на антракс при мъж на 45 г. от с.Трапище, Разградска област. Причинителят на инфекцията е изолиран в микробиологичната лаборатория на МБАЛ – Разград и потвърден като *Bacillus anthracis* в Националната Референтна Лаборатория „Особено опасни бактериални инфекции” към Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), гр. София.

**Key words:** *Bacillus anthracis*, cutaneous anthrax, microbiological diagnosis

**Summary:**

Anthrax is a highly dangerous zoonotic infection in which epidemic

chain, under certain conditions, humans can also be included. Over the past decade, sporadic cases of this disease have been reported in Bulgaria. Their investigation indicates that they arise mainly as a result of direct contact with sick animals. We present results for the first confirmed case of cutaneous anthrax for 2017 in a 45-year-old man from the village of Trapishte, Razgrad district. The causative agent was isolated by the Microbiological Laboratory of MBAL - Razgrad and confirmed as *Bacillus anthracis* by the National Reference Laboratory „High Medical Risk Infections“ at the National Center for Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD) in Sofia.

**КОЙ ХЕРПЕСВИРУСНА ИНФЕКЦИЯ В РИБОВЪДНИТЕ ФЕРМИ,  
ПРЕВЕНЦИЯ И ОЦЕНКА НА РИСКА  
KOI HERPES VIRUS DISEASE (KHVD) IN EUROPEAN  
AQUACULTURE, PREVENTION AND RISK ASSESSMENT**

Ваня Чикова, Светлина Кирова, Екатерина Милева  
**Chikova V., S. Kirova, E. Mileva**

НДНИВМИ, БАБХ  
**National Diagnostic & Rsearch Veterinary Institute, BFSА**

**Ключови думи:** аквакултури, шаран, *Koi herpes virus*, оценка на риска

**Резюме:**

В нашата страна, шарана (*Cyprinus carpio*) е най-широко отглежданата сладководна риба за консумация, докато кои шарана (*Cyprinus carpio koi*) се използва само за декоративни цели. От 1998 г. има данни за широко разпространение при тези видове на силно заразно заболяване с етиологичен агент Кoi Herpes Virus (KHV). Тази инфекция причинява значителна заболеваемост и между 80-100% смъртност при възприемчиви популации. Клиничните признаци на заболяването най-често се проявяват при температура на водата между 22° и 27° С.

Кoi херпесвирусна инфекция е нанесла значителни икономически загуби на аквакултурното производство в Азия (Тайван, Индонезия, Япония), Израел, Канада, САЩ и Европа. През 2007 г. заболяването е включено в нотификационния списък на Световната

организация за здравеопазване на животните (ОИЕ). По последни данни на ОИЕ случаи на избухване на заболяването има в Румъния, Словения и Испания.

В тази статия са обобщени данни за глобалната ситуация и последните научни разработки за Кои херпесвирусна инфекция със специално внимание относно оценка на риска за българската аквакултура и евентуални последици от нейното предполагаемо разпространение у нас и стратегии за превенция и контрол.

**Key words:** *aquaculture, carp, Koi herpes virus, risk assessment*

**Summary:**

Common carp (*Cyprinus carpio*) is a widely cultivated freshwater fish for human consumption in our country, while koi carp (*Cyprinus carpio koi*) and ghost carp (*Cyprinus carpio goi*) used only for ornamental purposes. Aquatic animal diseases are a major constraint for increasing aquaculture production. Since 1998, both species are affected by a highly contagious viral disease called as Koi herpes virus disease (KHVD). This disease may cause significant morbidity and between 80-100% mortality in susceptible populations. Clinical signs of disease most commonly being expressed when water temperatures are between 22° and 27°C.

KHVD has decimated major carp populations in Asia (Taiwan, Indonesia Japan), Israel, Canada, USA and in the European aquaculture. Since 2007, has been listed as a notifiable disease by the World Organisation for Animal Health. Most recently KHVD outbreaks have been reported to the OIE from Romania, Slovenia and Spain.

In this article, latest scientific developments on KHV are summarized with a view to carry out risk assessment for Bulgarian aquaculture and possible implications on its presumed entry in our country.

НОВИ ТЕХНИКИ В СЕЛСКОСТОПАНСКАТА БИОТЕХНОЛОГИЯ  
В СВЕТЛИНАТА НА ЕВРОПЕЙСКОТО ЗАКОНОДАТЕЛСТВО ЗА  
ГЕННО-МОДИФИЦИРАНИТЕ ОРГАНИЗМИ  
NEW TECHNIQUES IN AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY IN  
THE LIGHT OF EUROPEAN GMO DIRECTIVES

доц. д-р Геновева Начева  
Assoc. Prof. Genoveva Nacheva

Институт по молекулярна биология „Академик Румен Цанев”, БАН  
Institute of Molecular Biology “Roumen Tsanev”, Bulgarian  
Academy of Sciences

**Ключови думи:** *нови техники за генетична модификация, Директива 2001/18/ЕС, Директива 90/219/ЕЕС, изключени техники за генетична модификация*

**Резюме:**

В доклада ще бъде направен преглед на техниките за генетична модификация, обект на разглеждане от Работната група за нови техники съгласно Директива 2001/18/ЕС относно съзнателното освобождаване на генетично модифицирани организми в околната среда и Директива 90/219/ЕЕС относно работата с генетично модифицирани микроорганизми в контролирани условия. Техниките олигонуклеотид-насочена мутагенеза, техники базирани на цинк-пръстови нуклеази, цисгенеза, присаждане, агро-инфилтриране, РНК-зависимо ДНК метилиране, обратна селекция и синтетична геномика ще бъдат разгледани в светлината на това, до колко и дали попадат в обхвата на Директивите, какви дискуссионни въпроси поражат и до къде по настоящем е достигнала дискусиата.

**Key words:** *new techniques for genetic modification, Directive 2001/18/EC, Directive 90/219/EEC, Exempted GM techniques*

**Summary:**

The report will provide a review of the genetic modification techniques under consideration by the Working Group on New Techniques under Directive 2001/18/EC on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and Directive 90/219/EEC on the

contained use of genetically modified micro-organisms. The techniques Oligonucleotide Directed Mutagenesis (ODM), ZincFinger Nuclease Technology (ZFN-1, ZFN-2 and ZFN-3), Cisgenesis (comprising also intragenesis), Grafting, Agro-infiltration, RNA-dependent tDNA methylation (RdDM), Reverse Breeding and Synthetic Genomics will be examined in the light of how far and whether they fall within the scope of the Directives, what kind of discussion issues they are generating and where they have reached the discussion at present.

**НОВИ МЕТОДИ ЗА СЕЛЕКЦИЯ ПРИ РАСТЕНИЯТА – ИМА ЛИ  
РАЗУМНИ ПРИЧИНИ ДА СПРЕМ ПОЗНАНИЕТО?  
NEW PLANT BREEDING TECHNIQUES – ARE THERE  
RATIONAL REASONS TO STOP KNOWLEDGE?**

**Красимир Русанов, Даниела Мойанкова, Димитър Джилианов  
Krasimir Rusanov, Daniela Moyankova, Dimitar Djilianov**

**Агробιοинститут, ССА  
Agrobiointitute, Agricultural Academy**

**Ключови думи:** *нови методи за селекция при растенията, CRISPR/Cas9*

**Резюме:**

През последните няколко години стана възможно разработването на високотехнологични методи за редактиране на точно определени области от генома на живите организми, сред които се открояват използването на Talens, Zinc Finger Nucleases и най-вече CRISPR/Cas9. Тези методи предоставят качествено нова платформа за провеждане на селекция основана на задълбоченото познание. За пръв път, човекът е в състояние да променя наследствения материал на живите организми по начин ограничаващ до минимум случайността. И въпреки това, различни обществени кръгове изказват опасения относно морално-етичните, екологичните и дори потенциалните негативни здравословни последици от тяхното приложение. Трябва ли

тези изследвания да ни плашат или да ни вдъхновяват? Тук искаме да представим основните принципи на т. нар. „нови методи за селекция при растенията“ сравнявайки ги с класическите подходи, методите за създаване на генетично-модифицирани организми и постиженията на индуцирания мутагенез.

**Key words:** new plant breeding techniques, CRISPR/Cas9

**Summary:**

Over the past few years advanced high tech methods for targeted editing of genomes of living organisms have been developed of which the most popular became Talens, Zinc Finger Nucleases and particularly CRISPR/Cas9. These methods are practically new platform for plant breeding based on in-depth knowledge. For the first time man is able to edit living organisms' genome in a way limiting to a minimum the accidental deviations. Nevertheless, various members of the society share worries about potential ethical, ecological or even health risks related to the application of these techniques. Fear or inspiration? Here we present the basic principles of the so called New Plant Breeding Techniques, comparing them with classical breeding, GMO development and induced mutagenesis.

КОД „ЛИЛАВО“ ЗА КОНСЕРВАЦИОННИЯ СТАТУС НА ЕДИН  
ИНТЕРГЛАЦИАЛЕН РЕЛИКТ В СЕВЕРОИЗТОЧНА БЪЛГАРИЯ

**AN EXAMPLE OF CODE “PURPLE” FOR THE CONSERVATION  
STATUS OF INTERGLACIAL RELICT PLANT SPECIES FROM  
NORTHEAST BULGARIA**

<sup>1</sup>Галя Петрова и <sup>2</sup>Стефан Петров

<sup>1</sup>Galya Petrova & <sup>2</sup>Stefan Petrov

**1 Институт по биоразнообразие и екосистемни изследвания,  
БАН, 2 Институт по молекулярна биология, БАН**

**1 Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, BAS, 2 Institute  
of Molecular Biology, BAS**

**Ключови думи:** *Raeonia tenuifolia*, теснолист божур, консервационен статус

## Резюме:

*Paeonia tenuifolia* L. (Paeoniaceae) (теснолист божур) е включен в Червената книга на Република България със статут „Застрашен” и в списъка на защитените растения, съгласно Закона за биологичното разнообразие. Някои от находищата на вида не са потвърждавани от десетилетия, а част от тях попадат в защитени територии или в защитени зони от Европейската екологична мрежа НАТУРА 2000 в България. Въпреки това, едно от най-големите находища между с. Българево и н. Калиакра бе унищожено от ветрогенераторните комплекси в района. Кризата с опрашителите в Добруджа допълнително задълбочава проблема за опазването на *P. tenuifolia*. Наред с тези фактори, разрастващите се изкуствени лавандулови насаждения създават условия за директен вегетативен ефект върху естествената флора. Получените от нас молекулярни данни доказват това и представляват сериозна индикация за необходимостта от стриктно спазване на предприетите мерки за защита на *P. tenuifolia* и на други застрашени видове в региона.

**Key words:** *Paeonia tenuifolia*, fernleaf peony, conservation status

## Summary:

*Paeonia tenuifolia* L. (Paeoniaceae) is protected by the Bulgarian Biodiversity Act and included as “Endangered” in the Red Data Book of Bulgaria. Despite conservation measures taken, the species faced extinction, due to a gap between planning and implementation of environmental policies. This is especially true for the wind park projects in northeastern Bulgaria, where one of the largest *P. tenuifolia* population has been destroyed. The combined stress from pollinator loss and growing lavender fields in the area is among the factors threatening the survival of the species in an until recently undisturbed refugia. Although *P. tenuifolia* has proven to be insect pollinated, our data indicate that all investigated plants share identical genotypes, which might be taken as indication for direct vegetative effect on the native flora. Thus, the future conservation efforts will depend on the expansion of protected areas and involvement of private landowners in conservation policies.



ВЛИЯНИЕТО НА ЛОГИСТИКАТА ВЪРХУ КАЧЕСТВОТО И  
БЕЗОПАСНОСТТА В ХРАНИТЕЛНАТА ИНДУСТРИЯ  
**THE IMPACT OF LOGISTICS ON QUALITY AND SAFETY IN  
THE FOOD INDUSTRY**

Мария Воденичарова

**Maria Vodenicharova**

Университет за Национално и Световно Стопанство

**University of National and World Economy**

***Ключови думи:** логистика, качество, безопасност, проследяемост  
хранителна индустрия*

**Резюме:**

Проблемите за безопасността в хранителната индустрия са актуални и с голямо значение както за потребителите, така и за всички елементи на логистичните процеси. Въведени са множество стандарти, нормативни разпоредби и различни методи за контрол, гарантиращи производството на безвредни храни. Докладът разкрива влиянието на логистичните процеси в организациите от хранителната индустрия, което е свързано с осигуряване на качествени и безопасни продукти. Основните направления, които имат съществено влияние върху логистиката в хранителната верига и са свързани с качеството и безопасността са: 1/взаимовръзките на логистиката със системите за качество и безопасност; 2/развитието на концепцията за “студената верига на доставките” (СВД); 3/приложение на системи за проследяване назад (tracking) и напред (tracing) във веригата на доставките. Целта на доклада е да разгледа тези направления като представи възможността на логистиката за осигуряване на безопасност в хранителната индустрия и да осигури ефективна проследяемост напред и назад по веригата на доставките без прекъсване и осигуряване на високо качество на произведената продукция.

**Key words:** logistics, quality, safety, traceability, food industry

**Summary:**

Food safety issues are topical and important for both consumers and all elements of logistics processes. Several standards, regulations and different control methods have been introduced to ensure the production of harmless

foods. The report reveals the impact of logistics processes in organizations in the food industry, which is related to providing quality and safe products. The main directions that have a significant impact on logistics in the food chain and are related to quality and safety are: 1) the interconnections of logistics with the quality and safety systems; 2) the development of the „cold supply chain“ (CSC) concept; 3 /Implementation of tracking and tracing systems in the supply chain. The purpose of the report is to examine these trends by presenting the logistics capability of ensuring food safety and ensuring effective traceability back and forth through the supply chain without interruption and ensuring high quality production.



РЕТРОСПЕКТИВЕН АНАЛИЗ ЗА ЕФЕКТИВНОСТТА НА  
МЕРКИТЕ ЗА ОГРАНИЧАВАНЕ И ЛИКВИДИРАНЕ НА ШАПНО  
ОГНИЩЕ ПРЕЗ 1977 Г. В БЪЛГАРИЯ  
RETROSPECTIVE ANALYSIS ON THE EFFECTIVENESS  
OF THE MEASURES APPLIED FOR CONTROL AND  
ERADICATION OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE OUTBREAK  
IN 1977 IN BULGARIA

доц. Д-р. Янко Иванов<sup>1</sup>, проф. Иван Божков<sup>2</sup>, проф. Бойко Ликов<sup>1</sup>,  
проф. Георги Георгиев, д.в.м.н<sup>1</sup>, д-р Илиян Костов<sup>1</sup>, д-р Евгени  
Макавеев, д-р Донка Попова<sup>1</sup>

**Assoc. Prof. Dr. Yanko Ivanov<sup>1</sup>, Prof. Dr. Ivan Bozhkov<sup>2</sup>, Prof. Dr.  
Boyko Likov<sup>1</sup>, Prof. Georgi Georgiev DVSci, Dr. Ilian Kostov<sup>1</sup>, Dr.  
Evgeni Makaveev<sup>1</sup>, Dr. Donka Popova<sup>1</sup>**

1. Център за оценка на риска по хранителната верига към МЗХГ

2. Тракийски университет, гр. Стара Загора

1. **Center for Risk Assessment of the Food Chain of the Ministry of  
Agriculture and Food, Sofia**

2. **Thracian University, Stara Zagora**

***Ключови думи:** шап, противоепизоотична бариера, нормативна  
уредба, икономически щети*

**Резюме:**

През последните 45 години в Република България са констатирани 23 бр. шапни огнища, 21 бр. от които - в югоизточната част от страната в граничните области с Република Турция. (Б. Ликов и сътр.) и само две на северната ни граница (1972 и 1979 г.).

С настоящето проучване се прави научно-обусловен ретроспективен анализ предприетите мерки на общинско, областно и национално ниво от НВМС, както и от държавните институции и стопански организации за локализирането и ликвидирането на шапно огнище, констатирано през 1977гв с. Сламено – Ямболски регион.

На база на автентични архивни източници (заповеди, инструкции, констативни протоколи, а също така и лични наблюдения) са анализирани временните рестриктивни действия на съответните компетентни органи свързани с откриването, диагностицирането, локализирането и ликвидирането на шапно огнище.

Обръща се специално внимание на строгостта на предприетите предпазни мерки, както и на взаимодействието между съответните ведомства (МВР и МНО) за тяхното практическо осъществяване.

Прави се икономически анализ на понесените щети от ограничителните мероприятия, ликвидирани животни, унищожено мляко, разходи за ФРЗ на командированите специалисти, я така също и на загубите на месокомбинатите за извършваното санитарно клане на животните.

На база на извършеното проучване се правят съответните изводи и препоръки, които трябва да се имат предвид при новите условия и реалности в страната като член на ЕС и защитна противоепизоотичния бариера на континента.

**Key words:** *foot-and-mouth disease, anti-epizootic barrier, regulatory framework, economic damage*

#### **Summary:**

During the last 45 years 23 Foot-and-mouth disease (FMD) outbreaks have been registered in the Republic of Bulgaria. 21 of them were located in the southeastern part of the country near to the border with the Republic of Turkey (B. Likov et al.) and only two in the northern Bulgaria (1972 and 1979).

The present study is based on the scientific retrospective analysis of the measures undertaken by the National Veterinary Service at the municipal, regional and national level as well as by the government institutions and business operators to control and eradicate the FMD outbreak in 1977 in the village of Slameno - Yambol region.

Based on authentic archive sources (administrative orders, instructions, protocols and personal observations), the temporary restrictive actions of the relevant authorities involved in the detection, diagnosis, localization and eradication of the outbreak were analyzed.

Particular attention is paid to the severity of the biosecurity measures as well as to the interinstitutional cooperation between the Ministry of Agriculture; Ministry of Internal Affairs and Ministry of Defense.

The economic analysis shows the economic losses by the imposed restrictive measures, culling of the animals, destroyed milk, additional expenses paid to the specialists, as well as the losses of the slaughterhouses associated with the sanitary slaughter of the animals.

On the basis of this study, relevant conclusions and recommendations are made, which should be taken into account in line with the new conditions and realities in the country as an EU member and its role as an anti-epizootic barrier for the continent.



**„ПОСТЕРНА СЕСИЈА“  
“POSTER SESSION”**



БИОКОНВЕРСИЯ НА АЗОТА ПО ВЕРИГАТА ДАЖБА - КРАЙНА  
ЖИВОТИНСКА ПРОДУКЦИЯ  
NITROGEN BIOCONVERSION INTO DIET – FOOD CHAIN

Марин Йосифов  
Marin Yossifov

отдел «Хранене на селскостопански животни и технология на фуражи», Институт по животновъдни науки -  
Костинброд, 2232, България

**Dept. „Animal nutrition and feed technologies”, Institute of Animal  
Science - Kostinbrod, 2232, Bulgaria**

*Ключови думи: дажба за угояване на преживни животни, рапичен шрот, биоконверсия, баланс на азот*

**Резюме:**

Азотът (N) играе роля на основен и скъпоструващ компонент в храненето на селскостопанските животни. Това изисква способност за управление на потоците от N цикъл по веригата дажба - крайна животинска продукция чрез повлияване на неговите механизми при прехода от начални/междинни/крайни потоци по системата. Това неминуемо ще позволи бъдещи приложения в условията и продуктивността на интензивното животновъдство. Преживните животни се характеризират с ниска степен на N ефективност, което налага да се търсят варианти за повишаване на биоконверсията при този вид. Производството на животинска продукция в глобален план, както и възможностите за управление на N усвояване изискват прецизно балансиране на потоците N, както и да се регулира циркулирането и ефективността по веригата от създаване на рецептура и композиране на дажба до реализиране на крайна животинска продукция (месо), като прецизно се залага на намаляване на N загуби в животновъдството, т.ч. подчертаване на N каскада и еко-ефективността в агро-екосистемите. Нашето проучване проследи възможностите за влагане на алтернативни източници на дажбен N чрез резултатна стратегия за хранене и прецизно балансиране на дажбените фракции неразградим протеин в търбуха на преживните животни, в зависимост от условията на нивото на продуктивност. Чрез връщане на оборската тор в орната



земя се залага на рециклиране на остатъчния N поток от дажбите на животните. По този начин са представени възможности за моделиране на потоците от хранителни вещества и интермедиерни метаболити по хранителната верига чрез регулиране на вход/междинен/изходния отговор. Целта бе да се дискутира N цикъл по веригата - дажба (суров протеин-CP), амоняк в търбуха (NH<sub>3</sub>-N), микробиален N, видима смилаемост в целия храносмилателен тракт (Cd), абсорбция и телесни пулове (BUN), екскреция (Ne) с урина (Nur) и фекалии (Nf), както и ретенция (Nr) в условията на продуктивна хранителна система с модел преживни животни, хранени със зърнена концентратна смеска на базата на различни белтъчни фуражи. Изследваните параметри илюстрират процесите на N биотрансформация, както и възможностите на преживните животни да превръщат дажбения N в краен продукт (месо). В цялост, предложената постановка показва, че рапичния шрот (RSM) от опитната дажба оптимизира N ефективност. Въпреки това, във връзка с настоящите фермерски практики в условия на устойчиви локални екосистеми с направления месо- и млекодаино, са необходими по-задълбочени изследвания за по-пълно изясняване на N биоконверсия по веригата дажба - крайна животинска продукция, при преживните животни, с цел да се повиши продуктивността в икономически и екологичен аспект.

**Key words:** *ruminant feedlot diet, rapeseed meal, bioconversion, nitrogen balance*

### **Summary:**

Nitrogen (N) is an essential and expensive dietary nutrient, and the ability to manipulate the flows of N cycling in diet – food chain by influencing transformation mechanisms at input/intermediate/output flow through system may have further implications in terms to intensive livestock production systems. Ruminants have low N efficiency, so ruminant-mediated bioconversion must be raised. Global animal production and management options for improving N utilization required balancing N flow, cycling and efficiency from diet to meat and management to reduce N losses in animal production, e.g. enhancing N cascade and eco-efficiency in agro-ecosystems. We evaluated the potential for alternative dietary N through efficient feeding strategy and preciser diet balancing for rumen undegradable protein according to productive performance. The

recyclation of the flow of dietary N from manure back to arable land for plant production is expected. Modeling nutrient and metabolite flows in the food chain in the adjustment of the input/intermediate/output response is presented. The aim of this paper is to discuss N cycling between diet (CP), rumen ammonia (NH<sub>3</sub>-N), microbial N yield, apparent total tract digestibility (Cd), absorption and body pools (BUN), excretion (Ne, Nur and Nf) and retention (Nr) in ruminant food production system fed cereal-based diets supplemented with rapeseed meal (RSM). These parameters depicted N biotransformation processes and how ruminants bioconverted dietary N into animal product. Overall, this demonstrated that RSM supplemented feedlot diets optimized N efficiency. However, further detailed research is required to fully understand the N bioconversion into diet – food chain at ruminant species in regards to nowadays animal feedlot and dairy farming practices for sustainable local ecosystem gaining economically and ecologically beneficial animal products.

РАЗДЕЛЯНЕ НА ЧЕТИРИ АВЕРМЕКТИНА С ТЕЧНА  
ХРОМАТОГРАФИЯ И ФЛУОРЕСЦЕНТНО ДЕТЕКТИРАНЕ  
**LIQUID CHROMATOGRAPHIC SEPARATION WITH  
FLUORESCENCE DETECTION OF FOUR AVERMECTINS**

инж. Милена Фунева-Пейчева, хим. д-р Надежда Стоилова\*, доц.

Д-р Тодорка Янковска-Стефанова д.в.м.,

доц. д-р инж. Михаил Камбуров

**eng. Milena Funeva-Peycheva, Chem. Nadezhda Stoilova PhD,  
Assoc Prof. Todorka Yankovska-Stefanova DVM, Assoc. Prof. Mihail  
Kamburov, PhD**

Централна лаборатория по ветеринарно санитарна експертиза и  
екология

**Central laboratory of veterinary control and ecology**

**Ключови думи:** *абамектин, дорамектин, моксидектин, ивермектин,  
хроматографско разделяне, дериватизация, ВЕТХ/Флуоресцентно  
детектиране*

**Резюме:**

Представя се изследване относно разделяне и идентифициране

на четири представителя от групата на авермектините (абамектин, дорамектин, моксидектин и ивермектин) с течна хроматография. Високоэффективната течна хроматография (ВЕТХ) в комбинация с флуоресцентно детектиране е съвременен, бърз и надежден метод за доказване на ветеринарно медицински препарати в остатъчни количества. Ефективността на разделяне е изследвана с нови видове хроматографски колони. Разработени са подходящи условия за елуиране, съобразно вида на използваната хроматографска колона. Прилага се високо специфична и селективна химична реакция на дериватизация. Създаденият метод с високо-ефективна течна хроматография с флуоресцентно детектиране позволява разделяне и определяне на компонентите за по-малко от 10 минути. Разработеният хроматографски метод е с гранични стойности за идентифициране и определяне под препоръчваните лимити за тези вещества.

**Key words:** *abamectin, doramectin, moxidectin, ivermectin, chromatographic separation, derivatization, HPLC/FL*

### **Summary:**

Liquid chromatography separation (HPLC) was studied as a versatile tool for fast and reliable determination of four different avermectins: abamectin, doramectin, moxidectin and ivermectin. The separation efficiency of newly available chromatographic columns were studied in liquid chromatography – with fluorescence detection (HPLC/FL) analysis. Appropriate elution conditions were designed for columns. A high specific and selective derivatization reaction was used for selective determination of the compounds. HPLC/FL allowed separation and determination in less than 10 min. The chromatographic method showed detection limits below recommended limits for the analytes.

ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ НА ГРАХА  
(*PISUM SATIVUM L.*) ЗА ХРАНА И ФУРАЖ

POSSIBILITY OF USING PEA (*PISUM SATIVUM L.*) FOR FOOD  
AND FEED

Мария Събева, Сийка Ангелова  
Mariya Sabeva, Siyka Angelova

Институт по растителни генетични ресурси „К. Малков“ – Садово  
Institute of Plant Genetic Resources “K. Malkov”- Sadovo

**Ключови думи:** грах (*Pisum sativum L.*), качество на зърното, направление на използване

**Резюме:**

Статията е обзорен анализ за възможностите на използване на граха в различни направления. Представени са кратки исторически факти за отглеждането и значението му като културно растение. Изнесените факти, показват, че той е ценно растение от групата на протеиновите култури и има многостранно използване: за храна на хора и животни; като суровина по хранителната верига; важен предшественик на земеделските култури за подобряване на почвеното плодородие.

Грахът е богат на скорбяла -45-50 %, суров протеин -25-30 % и съдържа от 1,4 до 1,8 % лизин. По хранителни вещества и калоричност зрелите грахови семена превъзхождат месото почти 3 пъти; рибата - 4 пъти; ръжения и пшеничен хляб - 1,5 пъти; картофите - 3,5 пъти; а зелето- почти 6 пъти. Грахът е важен резерв на растителен протеин.

В публикацията е включена и информация за националната колекция от грах, съхранена в ИРГР- Садово, която е изключително разнообразна по фено и гено тип. Направената оценка по съдържание на суров протеин и някои други показатели в сухото зърно и свежата маса, позволява на всички ползватели да изберат най- подходящият сорт, в зависимост от техните интереси: научно- теоретични, селекционни и производствени.

**Key words:** *Pea (Pisum sativum L.), grain quality, direction of use*

### **Abstract**

The article is an overview analysis on the opportunities for using pea in different directions. Short historical facts for its growing are presented and its significance as a cultural plant. The facts show that pea is a valuable plant from the group of protein crops and has multilateral use: for food for human and animals; as a food chain source; an important precursor on agricultural crops for improving the soil fertility.

The pea is rich in starch – 45%-50%, crude protein – 25%-30% and contains from 1,4% up to 1,8% lysine. The matured pea seeds nutrients and caloricity exceed the meat over 3 times; the fish – 4 times; the rye and wheat bread – 1,5 times; potatoes – 3,5 times; and cabbage – over 6 times. The pea is an important source of plant protein.

The publication contains information about the national collection from pea, stored in the Institute for Plant and Genetic Resources – Sadovo, which is exclusively diverse in phenotype and genotype. The carried out assessment on crude protein content and some other indicators in dry seed and fresh mass allows to all users to choose the most suitable variety, depending on their interest: scientific-theoretical, breeding and production.

**РАЗМНОЖАВАНЕ ПРИ *IN VITRO* УСЛОВИЯ НА РАСТИТЕЛЕН  
МАТЕРИАЛ ОТ ДИВОРАСТЯЩИ ВИДОВЕ НАХУТ -  
*CICER MONTBRETII* JAUB. & SPACH И  
*CICER ECHINOSPERUM* P.H.DAVIS  
INTRODUCTION IN VITRO OF WILD CICENT MONTTRETII L.  
AND CICENT ECHINOSPERUM L**

**Станислава Статева, София Петрова, Гергана Дешева  
Stanislava Stateva, Sofia Petrova, Gergana Desheva**

Институт по растителни генетични ресурси, гр. Садово,  
бул. Дружба №2  
**Institute of Plant Genetic Resources - Sadovo, Plovdiv, Bulgaria**

**Ключови думи:** *in vitro* размножаване, *Cicer montbretii* Jaub. & Spach,

**Резюме:**

Целта на настоящото изследване е чрез биотехнологичните методи да се извърши *in vitro* размножаване на двата диви вида нахут - *Cicer montbretii* Jaub. & Spach и *Cicer echinospermum* P.H.Davis. Установено е положителното действие на стерилизиращият агент натриев хипохлорид при въвеждането *in vitro* на два диви вида нахут (*C. montbretii* Jaub. & Spach и *C. echinospermum* P.H.Davis). Стерилизацията е успешна за всичките семена. Отчетено е влиянието на растежните регулатори 2,4 D и BAP при добавянето им в хранителната среда на Murashige & Skoog (1962).

**Key words:** *in vitro* propagation, *Cicer montbretii* Jaub. & Spach, *C. echinospermum* P.H.Davis, regeneration, 2,4-D, BAP

**Summary:**

The aim of the present study is to use *in vitro* techniques for propagation of two wild species of chickpeas - *Cicer montbretii* Jaub. & Spach and *Cicer echinospermum* P.H.Davis. The positive effect of sodium hypochlorite sterilizing agent on the *in vitro* administration of two wild species of chickpea (*C. montbretii* Jaub. & Spach and *C. echinospermum* P.H.Davis) was found. Sterilization is successful for all seeds. The influence of the 2.4 D and BAP growth regulators on their addition to the Murashige & Skoog (1962) nutrient medium is documented.





ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ ХЕЛМИНТОФАУНАТА НА ДИВАТА СВИНЯ  
В НЯКОИ РАЙОНИ НА СТРАНАТА  
**HELMINTHOFAUNA OF THE WILD BOAR IN SOME REGIONS  
OF THE COUNTRY**

Василена Дакова; Мариана Панайотова-Пенчева; Делка Салкова  
**Vassilena Dakova, Mariana Panayotova-Pencheva, Delka Salkova**

Институт по експериментална морфология,  
патология и антропология с музей  
**Institute of experimental morphology, pathology and anthropology  
with museum – BAS**

**Ключови думи:** дива свиня, хелминти, еймерии, България

**Резюме:**

Изследвани са копропроби и вътрешни органи от диви свине, произхождащи от райони на Краище, Витоша, Западни Родопи и Лудогорие. Открити са паразити от 10 хелминтни рода: *Metastrongylus*, *Strongyloides*, *Oesophagostomum*, *Hyostrongylus*, *Globocephalus*, *Nematodirus*, *Ascaris*, *Ascarops*, *Trichuris* и *Macracanthorhynchus* и един протозоен род: *Eimeria*. Най-широко е разпространен род *Metastrongylus*.

**Key words:** wild boar, helminths, eimeria, Bulgaria

**Summary:**

Internal organs and fecal samples of wild boars from Kraishite, Vitosha, Western Rhodopes and Ludogorie are examined. Parasites of 10 helminth genera (*Metastrongylus*, *Strongyloides*, *Oesophagostomum*, *Hyostrongylus*, *Globocephalus*, *Nematodirus*, *Ascaris*, *Ascarops*, *Trichuris* and *Macracanthorhynchus*) and one protozoa (*Eimeria*) are found out. The most common genus is *Metastrongylus*.





МИГРАЦИЯ НА МЕЛАМИН ОТ КУХНЕНСКА ПОСУДА – ПЪРВИ  
ПРОУЧВАНИЯ ЗА БЪЛГАРИЯ  
MIGRATION OF MELAMINE FROM KITCHENWARE - FIRST  
SURVEYS FOR BULGARIA

Светла Чавдарова, Тери Вrabчева  
Svetla Chavdarova, Terry Vrabcheva

Национален център по обществено здраве и анализи  
National Center for Public Health and Analysis

*Ключови думи:* меламинови кухненски изделия, миграция, влияние на температурата

**Резюме:**

Меламин-формалдехидните смоли се получават при взаимодействие на меламин с формалдехид. Меламинът проявява ниска остра токсичност при експериментални животни. Доказана е неговата токсичност за бъбреците и връзката му с повишен риск от рак на бъбреците. Няма данни за генотоксичност, канцерогенност и тератогенност на меламина. Има неблагоприятни ефекти върху мъжката репродуктивна система, включително върху тестисите и морфологията на сперматозоидите. Проблемът с меламиновите изделия – купи, чинии, чаши, кутии за съхранение на храна, домакински прибори за сервиране, с които е зает българския пазар, е сериозен поради повишената миграция на меламин. Заради високата си водоустойчивост и термостабилност, те често се използват за съхранение на гореща храна или за употреба в микровълнови печки. В такива случаи е възможна засилена миграция на меламин в храната. Верифициран е метод за специфична миграция на меламин от меламинови изделия и е изследвано влиянието на температурата върху миграцията на меламин от кухненска меламинова посуда. Получените резултати от експеримента за миграцията на меламин показват, че продължителността на контакт на моделния разтвор с изделието не оказва съществено влияние върху стойностите на миграция. Влияние върху миграцията оказва температурният режим на употреба на изделията, като се наблюдава увеличаването ѝ с повишаване на температурата.

**Key words:** *melamine kitchen utensils, migration, temperature influence*

**Summary:**

Melamine formaldehyde resins are prepared by reacting melamine with formaldehyde. Melamine exhibits low acute toxicity in experimental animals. Its kidney toxicity and its relationship to an increased risk of kidney cancer have been proven. There is no evidence of genotoxicity, carcinogenicity and teratogenicity of melamine. There are adverse effects on the male reproductive system, including sperm testicles and morphology. The problem with melamine products - cups, plates, cups, food storage boxes, household utensils serving the Bulgarian market is serious due to the increased migration of melamine. Due to their high water resistance and thermostability, they are often used for storing hot food or for use in microwave ovens. In such cases, increased melamine migration into the food is possible. A method for the specific migration of melamine melamine products has been verified and the effect of temperature on melamine migration from kitchen melamine utensils has been investigated. The results of the melamine migration experiment show that the duration of contact of the model solution with the device does not significantly affect the migration values. Influence on migration results in the temperature of the products being used, as the increase in temperature increases.

ТРАНС МАСТНИ КИСЕЛИНИ В КРАВЕ МЛЯКО И БЯЛО  
САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ  
**TRANS FATTY ACIDS IN COW'S MILK AND WHITE BRINED  
CHEESE**

Силвия Иванова, Любомир Ангелов  
**Silviya Ivanova, Ljubomir Angelov**

Институт по криобиология и хранителни технологии  
**Institute of Cryobiology and Food Technology**

**Ключови думи:** *краве мляко, сирене, транс мастни киселини*

**Резюме:**

Целта на настоящото изследване е да се установи съдържанието на естествени транс мастни киселини (TFA), биологично активни

и антиканцерогенни компоненти в краве мляко (порода Българска родопска говеда) и производството на бяло саламурено сирене през периода на лактация и да се оцени съставът на мастните киселини в млечните мазнини, като важен източник за здравословното хранене на хората. Производството на сирене не води до съществени промени в състава на мастните киселини в резултат на добре проведена и спазена технологична обработка. Изследваното краве мляко се характеризира като продукт с ниско съдържание на трансмастни киселини (от 0,11 до 0,21 g / 100 ml продукт) и високо количество наситени мастни киселини, а получените резултати от сиренето са различни - млечен продукт с високо съдържание на транс мастни киселини (от 0.68 до 5.25 g / 100 g продукт) и високо съдържание на наситени мастни киселини (от 13.05 до 18.90 g / 100 g продукт).

**Key words:** cow's milk, cheese, trans fatty acids

### Summary:

The aim of the present study was to establish the content of natural trans fatty acids (TFA), biologically active and anticancerogenic components in the cow's milk (Bulgarian Rhodope Cattle breed) and the production of white brined cheese during the lactation period. On the other hand to evaluate the fatty acid composition of milk fat, as important source for the healthy human nutrition. The production of cheese does not lead to substantial changes in the fatty acid composition resulting from well-conducted and respected technological processing. The investigated cow's milk was characterized as product with a low content of trans fatty acids (from 0.11 to 0.21 g / 100 ml product) and high amount of saturated fatty acids, and the results obtained of cheese were different- dairy product with high content of trans fatty acids (from 0.68 to 5.25 g / 100 g product) and a high amount of saturated fatty acid content (from 13.05 to 18.90 g / 100 g product).



ВЪЗПРИЯТИЯ НА СТУДЕНТИТЕ ПО ВЕТЕРИНАРНА  
МЕДИЦИНА ОТНОСНО ИЗПОЛЗВАНЕТО НА ЖИВОТНИТЕ ЗА  
ДОБИВ НА ХРАНА  
**VETERINARY STUDENTS PERCEPTIONS ON THE USE OF  
ANIMALS IN FOOD PRODUCTION**

Гергана Николова Балиева  
**Gergana Nikolova Balieva**

Тракийски университет - Стара Загора, Ветеринарномедицински  
факултет, «Ветеринарно законодателство и мениджмънт»  
**Trakia University - Stara Zagora, Faculty of Veterinary Medicine,  
„Veterinary legislation and management“ Unit**

***Ключови думи:** хуманно отношение към животните; защита  
правата на животните; продуктивни животни; храна от  
животински произход; етика*

**Резюме:**

Съвременните граждански общества в развитите страни признават, че животните са съзнателни същества и могат да изпитват удоволствие и болка. Това поражда сериозна етична дилема доколко е морално оправдано да се отглеждат и експлоатират определени животински видове за получаване на храна от тях. Във връзка с формираните противоположни нагласи за етичността на човешката намеса при отглеждането на продуктивни животни, настоящата разработка проучва мнението на студенти по ветеринарна медицина от Тракийски университет – Стара Загора, за да установи тяхното отношение към експлоатацията на селскостопански животни за добива на храна. Правят се изводи относно етичната позиция на респондентите като бъдещи ветеринарни лекари и като потребители към двете основни тенденции – стратегията за хуманно отношение и подхода за защита правата на животните.

***Key words:** animal welfare; animal rights protection; production animals;  
food from animal origin; ethics*

**Summary:**

Abstract Modern societies in developed countries recognize

animals as sentient beings, capable of feeling pleasure and pain. This fact raises a serious ethical dilemma among the society to what extent it is morally justifiable to breed and exploit certain animal species to obtain food from them. Regarding the controversial attitudes towards the ethical aspects of human intervention in production animals breeding, the present study examines the opinion of the veterinary medicine students at Trakia University - Stara Zagora in order to establish their attitude towards the exploitation of farm animals for food production. Conclusions are made about the ethical position of the respondents as future veterinarians and consumers towards the two main approaches - the animal welfare strategy and the approach for animal rights protection.

СРАВНИТЕЛНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ШЕСТ ТРИХИНЕЛНИ ВИДА  
ЧРЕЗ PCR В РЕАЛНО ВРЕМЕ  
A COMPARATIVE STUDY OF SIX TRICHINELLA SPECIES BY  
REAL - TIME PCR ASSAY

Валерия Дилчева, Ивелин Владов, Светлозара Петкова  
**Valeria Dilcheva, Ivelin Vladov, Svetlozara Petkova**

Институт по експериментална морфология, патология и  
антропология с музей- Българска Академия на Науките  
**Institute of experimental morphology, pathology and anthropology  
with museum - Bulgarian Academy of Sciences**

*Ключови думи:* паразитология, трихинелоза, PCR в реално време, HRM анализ

**Резюме:**

Шест трихинелни изолата (ISS03, ISS13, ISS10, ISS02, ISS029, ISS035) бяха определени чрез real-time PCR. Ct стойностите при анализа на топене на получените криви позволи видово определяне още в самото начало на реакцията, като анализът на топене на кривите с висока резолюция установи индивидуални криви на топене за всеки от изследваните видове. Така изобразените индивидуални криви могат да се използват за геномни контроли при следващи диагностични изследвания. Получените резултати определят real-time

PCR метода като чувствителен, прецизен и подходящ при изследване на трихинелозата. Данните от това изследване дават допълнителна информация и хвърлят нова светлина върху досега натрупаната такава, на базата на което може да се разработи нов подход при превенция и борба със заболяването.

**Key words:** *parasitology, trichinellosis, real-time PCR, HRM analysis*

**Summary:**

Six *Trichinella* isolates (ISS03, ISS13, ISS10, ISS02, ISS029, ISS035) were detected by real-time PCR. Ct values connected with melting curve analysis allowed a distinct species identification from the beginning of the reaction and HRM curve analysis showed individual melting curve for each of the studied species which can be used for genomic control on subsequent diagnostic tests. Obtained results determined the method as sensitive, accurate and appropriate for prevention of trichinellosis. The data of this study provide an additional and re-evaluate the existing information through which can be accomplished a new preventative and disease-fighting approach.

ПОДСЛАДИТЕЛИ, ХРАНЕНЕ, ЗДРАВЕ  
**SWEETENERS, DIET AND HEALTH**

Радостина Александрова, Таня Живкова, Десислав Динев, Милена  
Главчева, Здравка Петрова  
**Radostina Alexandrova, Tanya Zhivkova, Desislav Dinev, Milena  
Glavcheva, Zdravka Petrova**

Институт по експериментална морфология, патология и  
антропология с музей, Българска академия на науките, София,  
България

**Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology  
with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria**

**Ключови думи:** *естествени и изкуствени подсладители, хранене,  
диета, здраве, диабет*

## Резюме:

Един от основните медицински и социални проблеми на нашето време е фактът, че милиони хора по света консумират предимно преработени храни, богати на добавени захари и мазнини. В резултат на това нараства броят на хората с наднормено тегло и затлъстяване, които са с повишен риск от развитие на диабет тип 2 и сърдечно-съдови заболявания. Вследствие на тази тревожна ситуация възниква нуждата от промяна в стила на живот на населението и създаване на навици за здравословно хранене. Необходимо е търсенето и прилагането на „алтернативи“ на захарта. Подсладителите са съединения, които могат да бъдат използвани не само за придаване на подходящ вкус на храни и напитки, но и за повлияване върху здравето на потребителите, което ги прави важни компоненти на диетата. Подсладителите могат да бъдат класифицирани въз основа на различни признаци, като произход (естествени или синтетични), текстура (прахове или сиропи), хранителна стойност (със или без съдържание на калории) и др. Специално внимание заслужава *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae) - многогодишен храст, произхождащ от Южна Америка, който в продължение на дълги години е използван от индианците от племето Гуарана от Парагвай и Бразилия за лечение на диабет. Растението съдържа некалорични подслаждащи съставки, така наречените стевииолови гликозиди (сред които в най-голямо количество са стевииозид и ребаудиозид А), които са стабилни при висока температура (до 200 °С), както и в кисела и алкална среда (рН 3 - 9). Предполага се, че антиоксидантните свойства на тези съединения са отговорни за техните интригуващи биологични ефекти, включително за способността им да поддържат нивата на кръвната захар. Създадени са и различни изкуствени подсладители, които са одобрени за приложение при производството на храни и напитки - аспартам, ацесулфам-К, сукралоза, захарин, цикламат, неотам, алитам и др. Благодарност: Проучването е проведено с финансовата подкрепа на проект № ДФНИ Б 02-30/12.12.2014, Фонд „Научни изследвания“, Министерство на образованието и науката, България.

**Key words:** *natural and artificial sweeteners, diet, nutrition, health, diabetes*



## Summary:

One of the major medical and social challenges of our time is the fact that millions of people use predominantly processed foods rich in added sugars and solid fats. As a result there is increasing number of people with overweight and obesity who are prone to the development of non-communicable diseases such as diabetes type 2 and cardiovascular diseases. This alarming situation prompted the change in the population life style and creating of healthy eating habits. That is why the demand and application of sugar alternatives is needed. Sweeteners are compounds that have a sweet taste and can be used not only to impart the proper taste of foods and beverages but also to influence on consumers' health and are important components of human diet. Sweeteners can be classified based on different criteria such as origin (natural or synthetic), texture (powders or syrups), nutritional value (caloric or non-caloric), etc. Special attention deserves *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae) – a perennial shrub originating from South America, that has been used for many years by the Guarani Indians of Paraguay and Brazil to treat diabetes. This plant is the source of non-caloric sweetening compounds, i.e. steviol glycosides (the most abundant among which are stevioside and rebaudioside A) that are stable in high temperature (up to 200oC) as well as in acidic and alkaline medium (pH 3 – 9). It has been suggested that the antioxidant properties of these compounds are responsible for their intriguing biological effects including the ability to maintain blood-glucose levels. In addition, various artificial sweeteners have been developed and approved for application in food and beverages such as Aspartame, Acesulfame-K, Sucralose, Saccharin, Cyclamate, Neotame, Alitame, etc. Acknowledgement: The study was supported by Grant № DFNI Б 02 30/12.12.2014, Fund “Scientific Research”, Bulgarian Ministry of Education and Science.



## ЗАЩО СЕ НУЖДАЕМ ОТ МАГНЕЗИЙ? WHY DO WE NEED MAGNESIUM?

Радостина Александрова<sup>1</sup>, Бойка Андонова-Лилова<sup>1</sup>, Лора Дякова<sup>2</sup>,  
Абдулкадир Абудалех<sup>1</sup>, Орлин Александров<sup>3</sup>  
**Radostina Alexandrova<sup>1</sup>, Boyka Andonova-Lilova<sup>1</sup>, Lora Dyakova<sup>2</sup>,  
Abedulkadir Abudalleh<sup>1</sup>, Orlin Alexandrov<sup>3</sup>**

1. Институт за експериментална морфология, патология и антропология с музей – Българска академия на науките, София,

2. Институт по невробиология -

Българска академия на науките, София, България

3. Здравна служба, Горна Малинва, България

**1. Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia**  
**2. Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia,**  
**3. Health Service, Gorna Malina, Bulgaria**

*Ключови думи: есенциални елементи, магнезий, хранене, здраве*

### **Резюме:**

Магнезият (Mg) е есенциален елемент за биологичните системи и е четвъртият най-застъпен минерал в човешкия организъм. Той е кофактор на > 300 ензими, участващи в ключови биохимични реакции, включително метаболизма на аденозин трифосфата; синтеза на ДНК, РНК и белтък; контрола на кръвната захар; регулиране на кръвното налягане; нервна и невромускулна проводимост. В тялото на възрастен човек се съдържат ~ 24 g Mg. Приблизително 60% от него се намира в костите, 20% в скелетната мускулатура и 19% в меките тъкани, като <1% от този елемент се открива в кръвта. Екскрецията на метала се регулира основно от бъбреците. Съветът по храни и хранене в САЩ препоръчва дневният прием на Mg за мъже да е 420 mg, а за жени - 320 mg за жени. Според наличните данни, значителен брой хора са с недостиг на Mg поради ниското минерално съдържание в почвите, използвани за отглеждане на селскостопански култури, и западната диета, която съдържа предимно преработени храни (80-90% от Mg се губят при преработката на храната). Ниските нива на Mg се свързват с редица хронични и възпалителни заболявания, като сърдечно-

съдови заболявания (напр. инсулт), метаболитен синдром, диабет тип 2, остеопороза, хронична обструктивна белодробна болест, болест на Алцхаймер, хиперактивно разстройство с дефицит на внимание, мигренозно главоболие, умора и др. Основният източник на Mg са зелените листни зеленчуци (поради съдържащия се в тях хлорофил). Други храни, които са с високо съдържание на Mg, са кисело мляко и кефир, бадеми, черен боб, авокадо, тъмен шоколад, банани, съомга, кориандър, козе сирене и др. Съдържащи Mg съединения се използват широко за медицински цели и като хранителни добавки. Благодарност: Проучването е проведено с финансовата подкрепа на проект № ДФНИ Б 02-30/12.12.2014, Фонд „Научни изследвания”, Министерство на образованието и науката, България.

**Key words:** *essential elements, magnesium, nutrition, health*

### **Summary:**

Magnesium (Mg) is an essential element in biological systems and is the 4th most abundant mineral in the human body. It is known to be a cofactor for > 300 enzymes that are involved in key biochemical reactions including adenosine triphosphate metabolism; DNA, RNA and protein synthesis; blood sugar control; blood pressure regulation; nerve transmission and neuromuscular conduction. In human adults whole body Mg content is ~ 24 g. Approximately 60% of it is present in bone, 20 % - in skeletal muscle, 19% -in soft tissues, with < 1% present in blood. Mg excretion is mainly regulated by the kidney. The USA Food and Nutrition Board recommends a daily intake of 420 mg Mg for man and 320 mg for women. There are data that a significant number of people are Mg-deficient due to low mineral content in soils used for agriculture and Western diet that contains more refined grains and processed food (80-90% of Mg is lost during food processing). Low levels of Mg have been associated with a number of chronic and inflammatory diseases such as cardiovascular disease (e.g. stroke), metabolic syndrome, type 2 diabetes, osteoporosis, chronic obstructive pulmonary disease, Alzheimer's disease, attention deficit hyperactivity disorder, migraine headaches, chronic fatigue, etc. The main source of Mg are green leafy vegetables (due to the chlorophyll contained therein). Other foods that are high in Mg include yogurt or kefir, almonds, black beans, avocado, dark chocolate, banana, salmon, coriander, goat cheese, etc. Mg compounds are widely used as medicinal and dietary

supplements. Acknowledgement: The study was supported by Grant № DFNI Б 02 30/12.12.2014, Fund “Scientific Research”, Bulgarian Ministry of Education and Science.

## ЕКСТРАКЦИЯ НА ДНК: МИКРОМЕТОД VS. МАКРОМЕТОД DNA EXTRACTION: MICROMETHOD VS. MACROMETHOD

Диана Христатијева, Донка Димбарева, Станимира Арсова,  
Цвета Георгиева

**Diana Hristakieva, Donka Dimbareva, Stanimira Arsova, Tzveta  
Georgieva**

Национален център по обществено здраве и анализи  
**National Center of Public Health and Analyses**

**Ключови думи:** екстракция, ДНК, микрометод, макрометод,  
царевица

### **Резюме:**

Проведена е екстракция на три различни сорта царевица чрез два относително бързи и евтини метода (микрометод и макрометод). И двата метода включват три основни стъпки: лизис на клетъчната мембрана, екстракция на геномна ДНК и последваща приципитация. Концентрацията на ДНК се определя спектрофотометрично. Резултатите получени от двата метода са съпоставени.

**Key words:** extraction, DNA, micromethod, macromethod, maize

### **Summary:**

DNAs from 3 different sorts of maize are extracted through two relatively quick and inexpensive protocols (micromethod and macromethod). Both methods involve three main steps: lysis of the cell membrane, extraction of the genomic DNA and its precipitation. The concentration of DNA is determined by spectrophotometry. The results obtained from both protocols are juxtaposed.

ДИАГНОСТИКА НА КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА ЧРЕЗ  
СЪВРЕМЕННИ ТЕХНИКИ  
**EVAGREEN REAL-TIME MPCR DIAGNOSIS OF  
CAMPYLOBACTERIOSIS BY CONTEMPORARY  
TECHNIQUES- EVAGREEN REAL-TIME MPCR**

Мария Павлова, Елина Добрева, Катюша Иванова, Мирослав Карагеоргиев, Иван Николаев Иванов, Петър Петров, Валери Велев, Ивелина Томова, Атанас Мангърров, Тодор Кантарджиев  
**Maria Pavlova, Elina Dobрева, Katusha Ivanova, Miroslav Karageorgiev, Ivan Nikolaev Ivanov, Peter Petrov, Valeri Velev, Ivelina Tomova, Atanas Mangarov, Todor Kantardjiev**

Национален център по заразни и паразитни болести  
**National center of infectious and parasitic diseases**

**Ключови думи:** *Real-time mPCR, Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, диария, ентероколит, чревни инфекции, кампилобактериоза, диагностика*

**Резюме:**

Диагностика на кампилобактериоза чрез съвременни техники- EvaGreen Real-time mPCR М. Павлова<sup>1</sup>, Е. Добрева<sup>1</sup>, К. Иванова<sup>1</sup>, М. Карагеоргиев<sup>1</sup>, Ив.Н. Иванов<sup>1</sup>, П. Петров<sup>1</sup>, В. Велев<sup>2</sup>, И.Томова<sup>2</sup>, А. Мангърров<sup>2</sup>, Т. Кантарджиев<sup>1</sup> 1. Национален център по Заразни и Паразитни болести, София 2. СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“, МУ София Инфекциите предизвикани от *Campylobacter* sp. се предават чрез контаминирани храни и води, като най-засегната група са деца на възраст 0–5 години. Кампилобактериозата най- често се причинява от термофилните видове *C. jejuni* и *C. coli*, като *C. jejuni* е чест причинител на епидемични взривове в Европа. Цел. Разработване, оптимизиране и прилагане на Real-time mPCR за идентификация на *Campylobacter* и видово разграничаване на *C. jejuni* и *C.coli* директно в проба фецес. Материали и методи. В периода май 2015г – октомври 2016г са изследвани 98 клинични материала от хоспитализирани пациенти с диария на възраст 0-12 години. Фекалните проби са изследвани с конвенционални микробиологични методи. Изолатите са биохимично идентифицирани чрез хидролиза на натриев хипурат

и индоксил ацетат. ДНК е екстрахирана от всички фекални проби чрез QIAampRDNA Blood Mini kit (QIAGEN). Проведен е Real-time mPCR анализ, базиран на родовоспецифичния camp F2/R2 ген и видово специфичните sj041 за *C. jejuni* и респективно seuE за *C. coli*. Праймерите амплифицират специфични региони от sj041 ген 74bp за *C. jejuni*, от seuE ген 72bp за *C. coli*, и 108bp от родов ген за *Campylobacter* spp. Резултати. Културелно са изолирани 45 щама *Campylobacter* spp., 12/45 фенотипно бяха определени като *C. coli* и 33/45 *C. jejuni*. След mPCR анализа 68/98 фекални проби бяха потвърдени като положителни за *Campylobacter* като 6/68 *C. coli* и 60/68 *C. jejuni*. Две от фекалните проби притежаваха едновременно видовете гени за *C. jejuni* и *C. coli*, което ги определя като смесен тип инфекция, за разлика от фенотипната им идентификация като *C. jejuni*. Дванайсет от пробите, генетично потвърдени като *C. jejuni*, културелно бяха отрицателни, като 8/12 бяха замразени и 4/12 стари (на повече от 5 часа). При 6 от фенотипно определените изолати като *C. coli* след mPCR анализ пробите бяха определени като положителни за *C. jejuni* поради амплификация на специфичният видов ген sj041. Заключение. Резултатите от сравнителния анализ показват, че Real-time mPCR методът е точен и надежден за диагностициране на кампилобактериози и видово разграничаване на етиологичния им причинител- *C. jejuni* и *C. coli*.

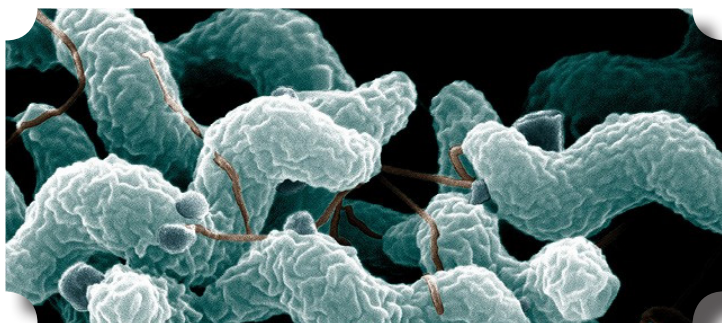
**Key words:** *Real-time mPCR, Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, diarrhea, enterocolitis, intestinal infections, campylobacteriosis, diagnosis*

### Summary:

Diagnosis of Campylobacteriosis by Contemporary Techniques- EvaGreen Real-time mPCR M. Pavlova<sup>1</sup>, E. Dobрева<sup>1</sup>, K. Ivanova<sup>1</sup>, M. Karageorgiev<sup>1</sup>, I. N. Ivanov<sup>1</sup>, P. Petrov<sup>1</sup>, V. Velev<sup>2</sup>, I. Tomova<sup>2</sup>, A. Mangarov<sup>2</sup>, T. Kantardjiev<sup>1</sup> 1. National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia 2. University Hospital for Infectious Diseases „Prof. Iv. Kirov“, Medical University of Sofia Infections caused by *Campylobacter* sp. are transmitted through contaminated food and water, as the most affected group are children aged 0-5 years. Campylobacteriosis is most commonly caused by thermophilic *C. jejuni* and *C. coli*, and *C. jejuni* is a common cause of epidemic outbreaks in Europe. Objective. Evaluation, optimization and application of EvaGreen Real-time mPCR method for



identification of *Campylobacter* sp. and differentiation between *C. jejuni* and *C. coli* direct in stool. Materials and methods. For the period May 2015r – October 2016 98 clinical samples originating from 0- 12 aged hospitalized patients with diarrhea have been tested. Fecal samples were investigated with conventional microbiological methods. Isolates were identified biochemically using hydrolysis of sodium hippurate and indoxyl acetate tests. DNA from all fecal samples has been extracted using the QIAampRDNA Blood Mini kit (QIAGEN). The conducted mPCR analysis was based on the genus-specific camp F2/R2 gene as well as the species-specific cj041 for *C. jejuni* and ceuE for *C. coli* respectively. Primers amplify specific regions of cj041 gene 74bp of *C. jejuni*, ceuE gene 72bp of *C. coli* and 108bp of genus-specific gene. Results. Forty-five *Campylobacter* spp. isolates have been obtained from cultures, 12/45 were biochemically identified as *C. coli* and 33/45 *C. jejuni*. Following mPCR analysis, 68/98 faecal samples were confirmed positive for *Campylobacter* as 6/68 *C. coli* and 60/68 *C. jejuni*. Two of the fecal samples possessed simultaneously the genes for *C. jejuni* and *C. coli*, which identified them as a mixed type of infection, in contrast to their phenotypic identification as *C. jejuni*. Twelve samples, genetically confirmed as *C. jejuni*, were culture negative, with 8/12 frozen and 4/12 old (more than 5 hours). Six of the phenotypically identified isolates such as *C. coli* after mPCR analysis, the samples were identified as positive for *C. jejuni* due to amplification of the specific cj041 gene. Conclusion. The comparative analysis of results has proved that EvaGreen mPCR method is relevant and reliable for the diagnosis of campylobacteriosis and species differentiation of their etiological agent - *C. jejuni* and *C. coli*.





## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MAJOR METABOLITES IN THE STRAINS OF MEDICINAL MUSHROOMS *CORDYCEPS SINENSIS* AND *PAECILOMYCES HEPIALI*

Jarmila Harvanová, Lucia Ungvarská Maľučká, Anna Uhrinová,  
Martin Pavlík, Martin Rajtar

1University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Department of Chemistry, Biochemistry and Biophysics, Institute of Pharmaceutical Chemistry, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic, 2Technical University in Zvolen, Faculty of Forestry, Department of Integrated Forest and Landscape Protection, T. G. Masaryk 2117/24, 960 53 Zvolen, Slovak Republic, 3Mykoforest – Martin Rajtar, Velčice 133, 951 71 Velčice, Slovak Republic;

**Key words:** *antioxidant activity, metabolites, medicinal mushrooms, Cordyceps sinensis, Paecilomyces hepiali*

### Summary:

Species of the genus *Cordyceps* (Fr.) Link are mushrooms that live on larvae, pupae and imagoes of insects as well as on the elaphomyces of the tubers of the genus *Elaphomyces*. The best-known representative of this genus is the *Cordyceps sinensis* known not only from traditional Chinese medicine, but also from the latest research on the medicinal properties of these mushrooms. Currently, the price per kilogram of this mushroom is around \$ 32,000 / kg. *Cordyceps sinensis* has traditionally been used in impotence, neurasthenia, back pain, and as an opiate poisoning antibody. As part of the traditional Chinese medicine, *Cordyceps* is used in respiratory problems, kidney, liver and heart problems, hyposexuality, hyperlipidemia, and weakening of the immune system. Currently, they are also used as a complement to modern cancer treatments (chemotherapy, irradiation and post-surgery). Modern pharmaceutical studies show that *Cordyceps sinensis* actually has a beneficial effect on several biological systems, immune system, cardiovascular, respiratory, glandular and other. Similarly, this positive effect is used in the antitumor therapy, AIDS treatment, in the treatment of asthma, arrhythmia and other cardiac diseases.

СТРЕС ПРИ ЖИВОТНИТЕ – ПОТЕНЦИАЛЕН ФАКТОР,  
ПОВЛИЯВАЩ БЕЗОПАСНОСТТА ПО ХРАНИТЕЛНАТА ВЕРИГА  
STRESS IN ANIMALS - A POTENTIAL FACTOR INFLUENCING  
FOOD CHAIN SAFETY

д-р Александра Даскалова, д-р, Проф. д-р Александър Павлов  
**dr. Aleksandra Daskalova, PhD, Prof. Alexander Pavlov, DSc**

Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет, 6000 -  
Стара Загора, България  
**Trakya University, Faculty of Veterinary Medicine, 6000 - Stara  
Zagora, Bulgaria**

*Ключови думи: стрес при животните, хуманно отношение,  
безопасност на храни от животински произход*

**Резюме:**

През последните почти три десетилетия в европейското законодателство бяха включени редица нормативни документи (регламенти, директиви и др.), определящи минималните стандарти за защитата и хуманното отношение към продуктивните животни на всички етапи от техния жизнен цикъл – отглеждане, транспорт, манипулации, добив на продукти от животински произход, вкл. умъртвяване. Всички тези изисквания се базират на два основни принципа – етичен (предпазване на животните от ненужно страдание и задоволяване на физиологичните им нужди) и икономически (подобряване на качествените и технологичните показатели на добитите продукти чрез избягване на потенциално увреждащи фактори, вкл. стрес). Докато в научната литература съществуват неоспорими доказателства за вредното влияние на стреса върху качеството на получените животински продукти (особено месо), сравнително отскоро стресът при животните се дискутира като един от възможните фактори, повлияващи тяхната безопасност. Различните по вид стресови фактори, както и тяхната интензивност, продължителност или периодична повтораемост, могат да окажат различно влияние (косвено или директно) върху безопасността по хранителната верига (напр. потискане на имунитета, понижена устойчивост към инфекциозни и паразитни патогени, повишено носителство и отделителство на

чревни патогени (вкл. причинители на хранителни заболявания при човека), нарушена бариерна функция на червата и др.). Настоящият литературен преглед обобщава потенциалните ефекти на стреса в резултат на различни фактори (неадекватни условия на отглеждане и експлоатация, транспорт, предкласни процедури и др.) върху безопасността на добитите продукти от животински произход.

**Key words:** *stress in animals, animal welfare, safety of products of animal origin*

### **Summary:**

Over the last three decades, European legislation has included a number of legal acts (regulations, directives, etc.) laying down minimum standards for the protection and welfare of farm animals at all stages of their life cycle – rearing and breeding, transport, handling, obtaining products of animal origin, including slaughter/killing. All these requirements are based on two basic principles – ethical (protecting animals from unnecessary suffering and satisfying their physiological needs) and economic (improving quality traits and technological characteristics of the obtained products by avoiding potentially detrimental factors, such as stress). While in the scientific literature there is undisputable evidence of the adverse impact of stress on the quality of animal products (especially meat), relatively recently stress in animals has been discussed as one of the possible factors affecting their safety. Different stress factors, as well as their intensity, duration or periodic repeatability, may have different impact (indirectly or directly) on food chain safety (e.g. immune suppression, decreased resistance to infectious and parasitic agents, increased carriage and shedding of enteric pathogens (including pathogens causing food-borne diseases in humans), impaired intestinal barrier function, etc.). The present review summarizes the potential effects of stress resulting from a variety of factors (inadequate conditions of rearing, breeding and exploitation, transportation, pre-slaughter procedures, etc.) on the safety of the derived products of animal origin.

РАДИАЦИОНЕН КОНТРОЛ НА ПИТЕЙНИ ВОДИ, КАТО ЧАСТ  
ОТ ОБЩИЯ МОНИТОРИНГ В БЪЛГАРИЯ  
RADIATION CONTROL OF DRINKING WATER AS PART OF  
THE OVERALL MONITORING IN BULGARIA

Радослава Лазарова, Иванка Йорданова, Донка Станева  
**Radoslava Lazarova, Ivanka Yordanova, Donka Staneva**

Институт по почвознание, агротехнологии и защита на растенията  
«Никола Пушкарров»  
**Institute of soil science, agro-technology and plant protection “Nikola  
Pushkarov“**

*Ключови думи: радиоактивност, радиологичен мониторинг,  
замърсяване на води*

**Резюме:**

Осигуряването на безопасността на питейната вода е основен фактор за защитата на общественото здраве. Един от методите за защита здравето на хората от неблагоприятните ефекти от замърсяването на питейната вода е провеждането на постоянен или периодичен мониторинг на качествените показатели на водата. В настоящата работа са представени резултати от проведени анализи на 944 броя водни проби за радиологични показатели за периода 01.01.2014г. до 06.06.2017г. Направено е обобщение по видове показатели и е направена връзка с националното (Наредба № 9 за качеството на водата, предназначена за питейно-битови цели) и европейско (Директива 98/83/ЕС) законодателство в областта. При отбелязано повишено съдържание на естествен уран и обща алфа активност е изчислен процентът на пробите над нормата по тези показатели на годишна база и са анализирани възможните причини.

**Key words:** *radioactivity, radiological monitoring, water contamination*

**Summary:**

Ensuring drinking water safety is a key factor in public health protection. One of the methods for protecting human health from the adverse effects of drinking water contamination is the continuous or

periodic monitoring of water quality indicators. The present work presents the results of 944 water samples radiological analyzes carried out from 01.01.2014. to 06.06.2017. Results are summarized by indicators and a link is made to the national (Ordinance No 9 on water quality intended for drinking and household purposes) and European (Directive 98/83/EC) legislation in the field. Increased content of natural uranium and total alpha activity has been obtained in some of the samples and their percentage is calculated on annual basis. Possible causes are analyzed.

IN VIVO ИЗСЛЕДВАНЕ НА АНТИБАКТЕРИАЛНАТА  
АКТИВНОСТ НА ЩАМОВЕ ОТ РОД *BACILLUS* СРЕЩУ  
ФИТОПАТОГЕННАТА БАКТЕРИЯ *CLAVIBACTER*  
*MICHIGANENSIS* SUB.SP. *MICHIGANENSIS*  
IN VIVO STUDY OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF  
THE STRAINS FROM GENUS *BACILLUS* AGAINST THE  
PHYTOPATHOGENIC *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SUB.  
SP. *MICHIGANENSIS*

Цветана Личева, Марина Бадалова, Боян Дойчев и Валентин Савов  
**Tsvetana Licheva, Marina Badalova, Boyan Doytchev and  
Valentin Savov**

Софийски Университет «Св. Климент Охридски»  
**Sofia University „St. Kliment Ohridski“**

**Ключови думи:** *Bacillus*, *Clavibacter michiganensis*, *Lycopersicum sativum* L., *in vivo*

**Резюме:**

Представители на род *Bacillus* имат способността да инхибират растежа на фитопатогенни бактерии, благоприятствайки растежа и развитието на растителните видове, което от своя страна има важно икономическо и селскостопанско значение. В настоящата работа четири ново изолирани щамове от род *Bacillus* (*Bacillus subtilis* T2, *Bacillus amyloliquefaciens* T3, *Bacillus subtilis* T4 и *Bacillus subtilis* T10) са тествани срещу фитопатогенната бактерия *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Активността на всички тествани щамове срещу

фитопатогенната бактерия се определя чрез агар- дифузионен метод, както и последващи *in vivo* тестове с растителен обект *Licopersicum sativum*. Три от изследваните щамове (*Bacillus subtilis*) тествани чрез агар- дифузионният метод имат антибактериална активност срещу *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Bacillus subtilis* T2- 24mm/ инхибиторна зона, *Bacillus subtilis* T4- 26mm/ инхибиторна зона, *Bacillus subtilis* T10- 22mm/ инхибиторна зона). Най- висока антибактериална активност от изследваните щамове показва щам *Bacillus subtilis* T4 и поради тази причина той е избран за последващите *in vivo* тестове с *Licopersicum sativum*. Опитните растения *Licopersicum sativum* L. третирани с комбинация от изследваният щам *Bacillus subtilis* T4 и фитопатогенната бактерия, както и такива третирани с *Clavibacter michiganensis* и след 24ч. период инокулирани с щам *Bacillus subtilis* T4 и такива третирани с *Bacillus subtilis* T4 и след 24ч. инокулирани с фитопатогена не показват признаци на проява на мокро увяхване в сравнение с контролните растения. От получените данни може да се направи заключението, че изследваните щамове от род *Bacillus* имат потенциал като антибактериални агенти срещу *Clavibacter michiganensis*.

**Key words:** *Bacillus*, *Clavibacter michiganensis*, *Licopersicum sativum* L., *in vivo*

### Summary:

Strains of genus *Bacillus* have the ability to inhibit the growth of phytopathogenic bacteria, which favours the growth of plant species and that has an important economic and agricultural impact. In this work four new isolated strains from genus *Bacillus* (*Bacillus subtilis* T2, *Bacillus amyloliquefaciens* T3, *Bacillus subtilis* T4 and *Bacillus subtilis* T10) were testes against phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. The activity of strains T2, T3, T4 and T10 against the phytopathogenic bacterium was studied by the agar diffusion method and *in vivo* test were made on *Licopersicum sativum*. Three of the *Bacillus subtilis* strains tested by the agar diffusion method have antibacterial activity against the tested phytopathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Bacillus subtilis* T2- 24 mm/ inhibitory zone, *Bacillus subtilis* T4- 26 mm/ inhibitory zone, *Bacillus subtilis* T10- 22 mm/ inhibitory zone). *Bacillus subtilis* T4 showed the highest activity among

all strains and its antibacterial activity was tested in vivo on *Lycopersicon sativum*. The results showed high in vivo activity against phytopathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. The test plants *Lycopersicon sativum* L. treated with a combination of the strain *Bacillus subtilis* T4 and the tested phytopathogenic bacteria, as well as those treated with *Clavibacter michiganensis* and after 24h inoculated with strain T4, and those treated with strain T4 and after 24h inoculated with *Clavibacter michiganensis* showed no signs of wet wilt compared to control plants. From the obtained data it can be concluded that tested *Bacillus* strains has potential as antibacterial agents against *Clavibacter michiganensis*.

ИЗСЛЕДВАНЕ ГЕНЕТИЧНИТЕ ДЕТЕРМИНАНТИ ОПРЕДЕЛЯЩИ  
АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ ПРИ ЛАКТОБАЦИЛИ И  
ИНДУЦИРАНЕ СИНТЕЗА НА БАКТЕРИОЦИНО ПОДОБНИ  
ВЕЩЕСТВА  
**ESTIMATION OF GENETIC DETERMINANTS OF  
ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN LACTOBACILLI AND  
INDUCTION OF BACTERIOCIN-LIKE METABOLITES**

Любов Николова<sup>1</sup>, Емануела Лукач<sup>1</sup>, Диляна Николова<sup>1</sup>, Яна  
Евстатиева<sup>1</sup>, Росица Тропчева<sup>1\*</sup>

**Lyubov Nikolova<sup>1</sup>, Emanuela Lukach<sup>1</sup>, Dilyana Nikolova<sup>1</sup>,  
Yana Evstatieva<sup>1</sup>, Rositsa Tropcheva<sup>1\*</sup>**

Катедра Биотехнология, Биологически факултет, Софийски  
университет „Св. Климент Охридски“

**Department of Biotechnology, Faculty of Biology,  
Sofia University St. Kliment Ohridski**

*Ключови думи: лактобацили, плантарицини, бактериоцино подобни  
вещества, антимикробна активност*

**Резюме:**

Ферментацията на различни хранителни продукти от млечнокиселибактерии е една от най-старите форми на биопрезервация. Днешните потребители са загрижени за намаляване употребата на синтетичните консерванти в храните, затова изследователите



проучват възможностите за приложение на млечнокиселите бактерии и антимикробните им метаболити като потенциални биоконсерванти. Бактериоцините и бактериоцино подобните субстанции са сред антимикробните метаболити с отлична перспектива за внедряване в областта на хранителните производства и тяхната безопасност. Чрез PCR анализ на шест щама *Lactobacillus plantarum* беше установено присъствието на гени за плантарицини E, F, J и K. Положителен резултат за наличие на ген E, F и K се наблюдава при всички тествани щамове: *L. plantarum* C3, *L. plantarum* C4, *L. plantarum* C5, *L. plantarum* C6, *L. plantarum* C7, *L. plantarum* C10, а само един от щамовете - C3, притежава и ген за плантарицин J. При проведените *in vitro* анализи за определяне на антимикробната активност на щамовете срещу тест култури *B. subtilis* и *E. coli*, по изразена такава се наблюдава към *B. subtilis*. Висока антибактериална активност показва експоненциалната култура и безклетъчната супернатанта на щам *L. plantarum* C7, култивирани в MRS с добавен потенциален индуктор на бактериоцинов синтез - триптон (2g/L). От всички изследвани щамове, най-висока антимикробна активност показва експоненциална култура и безклетъчната супернатанта на щам *L. plantarum* C3, култивиран на хранителна среда MRS с индуктор  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2g/L), срещу тест-микроорганизъм *B. subtilis*. Получените резултати показват добър потенциал за възможно приложение на изследваните лактобацилни щамове и/или техни метаболити като биоконсерванти в производството на храни и хранителни добавки.

**Key words:** *lactobacilli, plantaricins, bacteriocin-like substances, antimicrobial activity*

### **Summary:**

Fermentation of various food products from lactic acid bacteria is one of the oldest forms of bio-preservation. Today's consumers are concerned about reducing the use of synthetic preservatives in food chain, so researchers are studying the potential of lactic acid bacteria and their metabolic products as bio-preservatives. Bacteriocins and bacteriocin-like substances are among the antimicrobial metabolites with excellent perspective for an application in the field of food industries and their safety. By PCR analysis of six *Lactobacillus plantarum* strains, the presence of plantaricin E, F, J and K genes were detected in all of the strains: *L.*

plantarum C3, L. plantarum C4, L. plantarum C5, L. plantarum C6, L. plantarum C7, L. plantarum C10, only one of the tested strains - C3 has a gene for planaricin J. In vitro antimicrobial activity against B. subtilis was higher compared to E. coli. Good antibacterial activity was estimated by exponential culture and its cell-free supernatant of L. plantarum C7 strain grown in MRS with added potential inductor of bactericin synthesis - tryptone (2g/L). against the test organism B. subtilis From all of the strains best result was observed by the exponential culture of L. plantarum C3 and its sell-free supernatant, cultivated on MRS broth with inductor KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2g/L),. The results demonstrate a promising potential for an application of the studied lactic acid bacteria and/or their metabolites as bio-preservatives in the production of foods and nutritional supplements.

ЕКСПОЗИЦИЯ НА ЙЕСОТОКСИНИ И ОЦЕНКА НА РИСКА ЗА  
ЗДРАВЕТО ПРИ КОНСУМАЦИЯ НА МИДИ ОТ ЧЕРНО МОРЕ,  
БЪЛГАРИЯ  
**EXPOSURE TO YESSOTOXINS AND HEALTH RISK  
ASSESSMENT VIA CONSUMPTION OF SHELLFISH FROM THE  
BLACK SEA, BULGARIA**

Златина Петева, Бернд Крок, Станислава Георгиева, Анелия  
Герасимова, Мона Станчева, Любомир Македонски  
**Zlatina Peteva, Bernd Krock, Stanislava Georgieva, Anelia  
Gerasimova, Mona Stancheva, Lubomir Makedonski**

Медицински университет «Професор д-р Параскев Стоянов»  
**Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov**

**Ключови думи:** йесотоксини, експозиция, оценка на риска за здравето, миди, Черно море

**Резюме:**

Йесотоксините (YTXs) са фикотоксини, които се акумулират в мидите. Изчислената средна експозиция на YTXs при консумация на миди за мъже и жени в България е съответно 0,3017 и 0,3565 µg YTX<sub>10-3</sub>/kg bw и не надвишава острата референтна доза. Концентрацията на

YTXs варира от 0,007 до 0,9761 mg YTX.10-3/kg мидено месо и е под нормата за ЕС.

**Key words:** yessotoxins, exposure, health risk assessment, shellfish, the Black Sea

**Summary:**

Yessotoxins (YTXs) are phycotoxins which accumulate in shellfish. For Bulgarian population mean exposure to YTX by shellfish consumption of male and female are calculated resp. 0,3017 and 0,3565  $\mu\text{g}$  YTX10-3/kg bw and do not exceed the ARfD. YTX concentrations range from 0,007 to 0,9761 mg YTX.10-3/kg shellfish meat and are beneath the EU limit.

ДИЕТИЧНИ ТРАНС МАСТНИ КИСЕЛИНИ И БИОЛОГИЧНО  
АКТИВНИ СУБСТАНЦИИ В ИЗВАРА ОТ КРАВЕ МЛЯКО.  
**DIETARY TRANS FATTY ACIDS AND BIOLOGICALLY ACTIVE  
SUBSTANCES IN CURD OF COW'S MILK**

Силвия Иванова, Любомир Ангелов  
**Silviya Ivanova, Ljubomir Angelov**

Институт по криобиология и хранителни технологии, гр. София  
**Institute of Cryobiology and Food Technology, Sofia**

**Ключови думи:** *краве мляко, извара, транс мастни киселини*

**Резюме:**

Настоящото изследване има за цел да установи съдържанието на естествени транс мастни киселини (ТФА), биологично активни и антиканцерогенни съставки в извара от краве мляко по време на лактацията и да оцени състава на мастните киселини от млечните мазнини като здравословен източник на човешко хранене. Обезпечаването на добитъка с хранителен ресурс, богат на линолова и алфа линоленова киселина при крави за отглеждане на пасища води до повишаване на качеството на мастната фракция на млякото по отношение на биологично активните мастни киселини - омега-3, омега-6, CLA, транс и цис-мастни киселини и намалява количеството

на наситените мастни киселини. Производството на извара не води до съществени промени в състава на мастните киселини в резултат на добре проведена и уважавана технологична обработка.

**Key words:** *cow's milk, curd, trans fatty acids.*

### **Summary:**

The present study aims to establish the content of natural trans fatty acids (TFA), biologically active and anticarcinogenic components in curd produced by it during the lactation, and to evaluate the fatty acid composition of milk fat as a healthy source of human nutrition. The insurance of livestock with nutritional resource rich of linoleic and alpha linolenic acid on pasture grass rearing cows leads to an increase the quality in the fat fraction of milk in terms of biologically active fatty acids - omega-3, omega-6, CLA, trans and cis-fatty acids and decreases the amount of saturated fatty acids. The production of curd does not lead to substantial changes in the fatty acid composition resulting from well-conducted and respected technological processing.

## **ЗАМЪРСЯВАНЕ НА ОКОЛНАТА СРЕДА ОТ ОПАКОВКИ ИЗПОЛЗВАНИ В ЕЖЕДНЕВИЕТО НА ХОРАТА ENVIRONMENT POLLUTION FROM A PACKAGING USED IN THE DAILY LIFE OF THE PEOPLE**

доц. д-р инж. Ботьо Захаринов, д-р Миглена Пейчинова  
**Ass. Prof. Botyo Zaharinov, Miglena Peichinova, PhD**

Нов български университет, Център за оценка на риска по  
хранителната верига към  
Министерство на земеделието, храните и горите  
**New Bulgarian University, Risk assessment center on food chain,  
Ministry of agriculture, food and forest**

### **Резюме:**

#### **ЦЕЛ**

Известно е, че около 70% от планетата е покрита от вода. Отпадъците, които попадат във водните източници и по-специално пластмасите, представляват заплаха не само за здравето на морските екосистеми, но и за световната икономиката и населението. По-

голямата част от отпадъците във водните системи се генерират от дейности на сушата, а именно в резултат от човешка намеса. Целта на това изследване е да се набрави обобщено литературно проучване върху основните източници на замърсяване на околната среда и да се проследят възможностите за решаване на проблемите свързани с отпадъците попаднали в околната среда.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

За изпълнение на поставената задача е използвана наличната научна информация в различни европейски организации, такива като Европейска агенция по околна среда, Европейска агенция по безопасност на храните, Световна здравна организация, Министерство на околната среда и водите и др.

## ОСНОВНИ РЕЗУЛТАТИ

След проведеното проучване е установено, че около 10 милиона тона отпадъци попадат в световните морета и океани всяка година. Пластмасите и по-специално найлоновите опаковки, бутилки и пликосе за еднократна употреба, са най-разпространеният вид замърсители, срещани в морската околна среда (<http://www.eea.europa.eu/bg/signals/signali-2014-g/v-blizak-kadar/otpadatsite-v-moretata>).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На база проведеното изследване, може да се направи заключението, че различните държави търсят адекватни варианти за справяне с проблемите свързани с замърсяването на околната среда от употребявани опаковки. Такива са: произвеждане на био-разградими опаковки; извършване на периодично събиране на отпадъци в моретата, океаните, реките; почистване на плажовете и бреговете около тях; опазване на реките и др.

## Summary:

### Aim

It is known that about 70% of the planet is covered by water. Waste falling in water sources and in particular plastics pose a threat not only to the health of marine ecosystems, but also for the global economy and population. The majority of the waste in the water systems are generated by the activities on land, namely as a result of human involvement. The aim of this study is to make a summary literature research on major sources of pollution and to pathway opportunities to attend to the problems associated

with waste into the environment.

### **Materials and methods**

For the implementation of the task has been used scientific information available in different european organizations such as the European Environment Agency, European Food Safety Authority, World Health Organization, Ministry of Environment and Waters in Bulgaria, etc.

### **Results**

Following an study has been found that about 10 million tonnes of waste fall into the world's seas and oceans each year. Plastics and especially plastic bags, bottles and bags for single use are the most common type of contaminants found in the marine environment.

### **Conclusions**

Based on this study, it can be concluded that different countries search for sufficient options to address the problems related to environmental pollution from used packaging. These are: the production of biodegradable packaging; make a periodic collection of waste in the seas, oceans, rivers; cleaning of a beaches and seaboard around them; protection of rivers and etc.

АНАЛИЗ НА ДАННИТЕ ОТ СИСТЕМАТА ЗА БЪРЗО  
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ ЗА ХРАНИ И ФУРАЖИ, КАСАЕЩИ  
НЕРАЗРЕШЕНИ ГЕНЕТИЧНО МОДИФИЦИРАНИ ОРГАНИЗМИ  
ЗА ПЕРИОДА 2006-2016 Г.  
**ANALYSIS OF RAPID ALERT SYSTEM FOR FOOD AND FEED  
DATA CONCERNING UNAUTHORIZED GENETICALLY  
MODIFIED ORGANISMS, 2006-2016**

Антония Димитрова  
**Antoniya Dimitrova**

Център за оценка на риска по хранителната верига  
**Risk Assessment Center on Food Chain**

*Ключови думи: ГМО, храни, фуражи*

**Резюме:**

Системата за бързо предупреждение за храни и фуражи (Rapid Alert System for Food and Feed – RASFF) се основава на Регламент (ЕО) № 178/2002, чл.50, а условията и мерките за прилагането ѝ са описани в Регламент (ЕС) № 16/2011. През периода 2006-2016 г. са направени 754 нотификации, касаещи неразрешени ГМО. Най-голям брой са информативните – 355, следвани от тези за недопуснат внос (274) и предупредителните (125). Значително по-голяма част от нотификациите за неразрешени ГМО по системата касаят храни – 704 (93%). По отношение на групите храни, обект на нотификации, от 2006 до 2012 г. преобладават нотификациите за зърнени храни и хлебни изделия – 384 (61% от общия брой). В периода 2013 – 2016 г. най-многобройни са нотификациите в група плодове и зеленчуци. Нотификациите, касаещи фуражи и фуражни добавки, са най-голям брой през 2009 г. (16) и 2014 г. (31). Прегледът на данните от системата RASFF сочи тенденция към намаляване броя на нотификациите, касаещи неразрешени ГМО през разглеждания период.

*Key words: GMO, food, feed*

**Summary:**

The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) is based on



Regulation (EC) № 178/2002, art. 50. The conditions and measures for its implementation are described in Regulation (EU) № 16/2011. During the period 2006-2016, 754 notifications concerning unauthorized GMOs were made. The largest number are informative notifications – 355, followed by border rejections (274) and alerts (125). A significant part of the notifications for unauthorized GMOs in the system concerns food – 704 (93%). In regard to foods' groups subject of notifications, the group of *cereals and bakery products* is predominant – 384 notifications (61% of the total) from 2006 to 2012. Notifications in the *fruit and vegetables* group are the biggest amount between 2013 and 2016. Notifications concerning feed and feed additives are the most numerous in 2009 (16) and 2014 (31). The review of RASFF data shows a tendency to decrease the number of notifications concerning unauthorized GMOs over the period considered.

*IN VIVO* ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ЕФЕКТА НА ЩАМОВЕ ОТ РОД *BACILLUS* И РОД *LACTOBACILLUS* ВЪРХУ РАЗСАД НА РАСТИТЕЛЕН ОБЕКТ *LICOPERSICUM SATIVUM*

*IN VIVO* STUDY OF THE THE EFFECTS OF THE STRAINS FROM GENUS *BACILLUS* AND GENUS *LACTOBACILLUS* ON THE *LICOPERSICUM SATIVUM* PLANT

Вероника Колева, Цветана Личева, Валентин Савов  
Veronika Koleva, Tsvetana Licheva, Valentin Savov

Софийски Университет «Св. Климент Охридски», Биологически  
Факултет  
Sofia University „St. Kliment Ohridski“, Faculty of Biology

**Ключови думи:** *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Licopersicum sativum*, *in vivo*

**Резюме:**

Част от представители на род *Lactobacillus* образуват биофилм върху различни части на растенията, синтезират биологино активни вещества и притежават антагонистично действие срещу фитопатогенни микроорганизми в почвата. Представителите на род *Bacillus* имат доказано фосфат солубилизиращо и антимикробно действие. Съответно представителите и от двата рода благоприятстват

растежа и развитието на растителните видове и имат изразено екологично, икономическо и селскостопанско значение. В настоящата работа четири новоизолирани щама - два от род *Bacillus* и два от род *Lactobacillus* са тествани за ефекта си върху растежа и развитието на растителен обект *Licopersicum sativum*, *in vivo*. Всеки шам е тестван в 21 повторения. При всички изследвани щамове се наблюдава повишаване височината на стъблата (от 3,38% до 11,98%), удължаване на кореновата система (от 8,66% до 13,19%), повишаване на свежата и суха биомаса (от 7,31% до 15,51%) на тест растенията спрямо контролните такива. При два от щамове на род *Lactobacillus* и един от щамовете на род *Bacillus* се наблюдава и увеличаване броя на листата (от 0,88% до 3,3%) при тест растенията спрямо контролните такива. От получените данни може да се направи заключението, че изследваните щамове от род *Bacillus* и род *Lactobacillus* имат потенциал да бъдат прилагани като компоненти на биологични торове имащи са цел увеличаване на биопродукцията.

**Key words:** *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Licopersicum sativum*, *in vivo*

### Summary:

Some of *Lactobacillus* strains form biofilm on different parts of plants, synthesize biologically active substances and have antagonistic effect against phytopathogenic microorganisms in the soil. Strains of genus *Bacillus* have proven phosphate solubilizing and antimicrobial activity. Accordingly, strains of both genera favor the growth and development of plant species and have a high ecological, economic and agricultural importance. In the current work, four newly isolated strains – two from genus *Bacillus* and two from genus *Lactobacillus* - are tested for their effect on the growth and development of the *Licopersicum sativum* plant, *in vivo*, in 21 repetitions. All studied strains showed elevation of stems (from 3,38% to 11,98%), root system extension (from 8,66% to 13,19%), increased fresh and dry biomass (from 7,31% to 15,51%) in test plants compared to control plants. Two of the strains of genus *Lactobacillus* and one of the strains of genus *Bacillus* also showed an increase in the number of leaves (from 0,88% to 3,3%) in the test plants compared to the control ones. From the data obtained it can be concluded that the strains tested from genus *Bacillus* and genus *Lactobacillus* have the potential to be applied as components of biological fertilizers aiming to increase the bioproduction.

АКУМУЛИРАНЕ НА ЦИАНОТОКСИНИ ВЪВ ВОДНИТЕ  
ОРГАНИЗМИ И ЧОВЕКА  
ACCUMULATION OF CYANOTOXINS IN AQUATIC  
ORGANISMS AND HUMANS

Вера Павлова, Мария Митрева  
Vera Pavlova, Maria Mitreva

Национален център по обществено здраве и анализи  
National center of public health and analyses

**Резюме:**

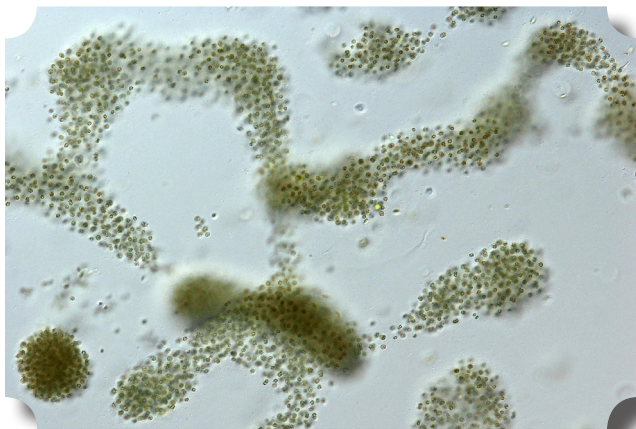
Цианотоксините се продуцират от синьо-зелени водорасли, известни още като цианобактерии. Те биват хепатотоксини, невротоксини, дерматотоксини. При цъфтеж на цианобактерии водните обитатели консумират микроводораслите, чрез които цианотоксините попадат в организмите и се акумулират предимно в мастните тъкани. Чрез консумация на замърсени храни с воден произход цианотоксините попадат в организма на човека и могат да причинят поражения на черния дроб например. Световната здравна организация препоръчва максимално допустима стойност за питейни води 1  $\mu\text{g/l}$  и 20  $\mu\text{g/l}$  за води за къпане на едни от най-опасните цианотоксини – микроцистини.

Първото изследване в България за съдържание на микроцистини, е проведено през 2004 г. от екип на Центъра по обществено здраве и анализи. Проучването обхваща 15 водоема, сред които 3 питейни язовира. Цианобактериални цъфтежи са регистрирани в 6 водни басейни, използвани за риболов и водни спортове. През 2005 г. са изследвани 18 водоема, от които 9 язовира за питейна вода. През последните години Центърът провежда проучвания на водоеми в района на София, които показват, че с нарастване на еутрофикацията се появява и индикация за цъфтежи в питейни язовири. Проучвания за съдържание на цианотоксини в храни с воден произход не е правено в България. Това е необходима стъпка за по-нататъшното разглеждане на проблема с цианотоксините не само като замърсители във водоемите ни, но и като потенциална опасност за екологичното и човешко здраве.

### Summary:

Cyanotoxins are products of blue-green algae, which are known as cyanobacteria. They can be hepatotoxins, neurotoxins, dermatotoxins. When cyanobacterial blooms occur aquatic organisms consume microalgae and cyanotoxins are accumulated mainly in fats. Cyanotoxins can be accumulated in the human organism by contaminated food of aquatic origin and can cause, for example, liver damage. World health organization sets permissible maximal value for one of the most dangerous cyanotoxin: microcystin – LR 1  $\mu\text{g/l}$  about drinking water and 20  $\mu\text{g/l}$  for bathing water. The first investigation for occurrence of microcystins in Bulgaria was done by a team of National center of public health and analyses in 2004. Fifteen water bodies were studied including 3 drinking water reservoirs. Cyanobacterial blooms was found in 6 water basins used for fishing and water sports. In 2005 18 water bodies were investigated including 9 drinking water reservoirs. In recent years the Center has been conducted surveys of reservoirs in the Sofia region. The results show that with the increasing of eutrophication indications for cyanobacterial proliferation in drinking reservoirs were observed.

Studies for presence of cyanotoxins in food of aquatic origin was not provide in Bulgaria. This is a necessary step to further discussion for the problems with cyanotoxin not only as a contaminant in our water bodies but also as a potential dangerous for ecological and human health.



O. Haidei, T. Garkavenko

**State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostic and  
Veterinary Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine**

**Key words:** *GMO's, RT-PCR, monitoring, GM-lines, screening, identification*

### **Summary:**

**Purpose:** The area of implantation of GM-plants in the world is 183.2 million hectares. In view of the fact of GMO's plants spaces increase, interest to this problem will rise more. According to Ukrainian legislation using of GM-plants for growing, food and other purpose before state registration is forbidden. In Ukraine, there is only one registered soya feed GM-line MON40-3-2 with purposiveness for feed. Despite the legislation, GM seeds, GM-containing feed and food are illegally imported into the country. In this regard, the expediency of controlling GMO's in cereals, food and feed has arisen.

**Methods:** For detection GMOs: screening, identification of GM-plants and quantification in raw materials, food and feed were used R-Biopharm real-time PCR diagnostic kits.

**Results:** GMO's were tested in different types of samples: soya, soya feed, canola, canola feed, maize, sunflower feed from different regions of Ukraine. MON40-3-2, MON89788 and GM-canola GT73 in animal's feed were detected as the most widespread GM-lines of soya.

**Conclusion:** Taking into account the GMO situation in the world, monitoring program for food, grain and feed, which will be introduced in 2018 in Ukraine was developed.



\* Център за оценка на риска по хранителната верига не носи отговорност за допуснати фактически и технически грешки в публикуваните материали на външни автори

\*Risk assessment center on food chain is not responsible for any factual or technical errors in the published materials of external authors



**EFSA КОНТАКТЕН ЦЕНТЪР  
БЪЛГАРИЯ**

Български контактен център,  
Център за оценка на риска по хранителната верига  
[EFSAfocalpoint@mzh.government.bg](mailto:EFSAfocalpoint@mzh.government.bg)  
<http://focalpointbg.com>

**Дизайн и предпечат: В.Евтимова,  
[VEvtimova@mzh.government.bg](mailto:VEvtimova@mzh.government.bg)**