

МИКРОБИОЛОГИЧНИ ОПАСНОСТИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВОТО НА ЦВЕТЕН  
ПЧЕЛЕН ПРАШЕЦ. II. МИКРООРГАНИЗМИ ОТ СЕМ. *ENTEROBACTERIACEAE*  
И СЕМ. *PSEUDOMONADACEAE*

Динко Динков

MICROBIOLOGICAL HAZARDS OF FLOWER BEE POLLEN PRODUCTION.  
II. MICROORGANISMS FROM *ENTEROBACTERIACEAE*  
AND *PSEUDOMONADACEAE* FAMILIES

Dinko Dinkov

Department of Hygiene and Technology of Animal Foodstuffs,  
Veterinary legislation and management, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University,  
6000 Stara Zagora, Bulgaria; E-mail: [dinkodinkov@abv.bg](mailto:dinkodinkov@abv.bg)

ABSTRACT

The species-level differentiation of *Enterobacteriaceae* isolates obtained from investigations on dried flower bee pollen from 8 regions of Bulgaria after one-year vacuum-packed cold storage (0-4 °C) did not establish microorganisms that could cause disease in humans. Samples from all studied regions were contaminated with *Pantoea* spp. (*P.agglomerans* and *P.agglomerans* bgp6). Apart *Pantoea* spp. *Citrobacter freundii*, *Prot. vulgaris*, *Prot. mirabilis* and *Serratia odorifera* were detected in the dried flower bee pollen intended for human consumption. Raw bee pollen that is an intermediate product not intended for human consumption contained *Pantoea* spp. (*P.agglomerans* bgp6 and *P.agglomerans*), *Prot. vulgaris*, *Prot. mirabilis*, *Serratia liquefaciens/grimesii*, *E.coli* and *Flavimonas oryzihabitans*. A veterinary sanitary evaluation aimed at prevention of bee pollen contamination with *E. coli* was developed.

**Key words:** *pantoea*, *citrobacter*, *proteus*, *serratia*, *flavimonas*.

**Въведение**

Поради съдържанието на различни хранителни субстанции в случай на неправилни първична обработка и съхранение цветния пчелен прашец дава възможност за развитие на различни микроорганизми (Gonzalez et al., 2005; Medina et al., 2004). Контаминацията на пчелния прашец може да възникне от различни фактори и източници като въздуха, растителните материали, насекомите, хората и провежданите селскостопански обработки (Hani et al., 2012).

Някои автори съобщават за контаминация с различни микроорганизми на пчелния прашец, които могат да компрометират неговата безопасност за консуматорите (Brindza et al., 2010; Belhadj et al., 2014). Установено е също, че химичните и микробиологични характеристики на пчелния прашец зависят от периода на събиране и различията между пчелните семейства (Serra, 1988).

В световен мащаб все още липсват утвърдени специфични критерии и стандарти за микробиологичен анализ на цветния пчелен прашец, предназначен за консумация от човека. Липсват и специфични лабораторни препоръки, с оглед установените микроорганизми при микробиологичното изследване на този продукт.

Извършвани са оскъден брой проучвания за констатиране на микроорганизми в цветния пчелен прашец, предназначен за консумация от човека. Според някои автори в него могат да се установят различни микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae*, които се счита, че попадат в продукта от външната среда (вода, почва и др.), (Bouriche et al., 2011). Следва принципно да се отбележи, че от микроорганизмите от сем. *Enterobacteriaceae* особено опасни за човешкото здраве са тези от род *Salmonella*, редица представители на род *Esherichia* и по-специално *E.coli* и др., изследването на които вече е регламентирано в повечето храни за консумация от човека (Регламент 1441, 2007). При това в настоящите изисквания към храните за консумация от човека не се посочват специфични микробиологични критерии към цветния пчелен прашец.

При интерпретация на резултатите за доказване на общ брой микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* в цветния пчелен прашец се срещат редица затруднения, свързани основно с факта, че сред тези микроорганизми освен колиформите се включват и редица други

микроорганизми, част от които са патогенни като род *Salmonella*, *E.coli* и др., но други са известни като опортюнистични или факултативно патогенни с все още недостатъчно изяснена роля по отношение на възможностите за предизвикване на заболявания при човека (Sanders and Sanders, 1997).

С оглед правилната интерпретация на получените резултати за наличие на микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* в предназначения за консумация от човека изсушен пчелен прашец би следвало да се извършва освен определяне на общия брой на тези микроорганизми и тяхното последващо видово детерминиране за установяване сред тях не само на патогенните, но и на опортюнистични видове микроорганизми, предизвикващи заболявания при намалени защитни сили на организма на човека.

Цел на нашето проучване бе, да се направи видово диференциране на установените при микробиологичния анализ микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* в неизсушен и изсушен цветен пчелен прашец от 8 региона на България, след период на едногодишното съхранение на пробите във вакуумно състояние при ниски температури.

### Материал и методи

През м. юни 2014 г. бяха получени общо 32 броя проби неизсушен и изсушен пчелен прашец от осем региона на страната: Странджа, Сливен, Стара Загора, Шумен, Ловеч, Враца, В. Търново и Карлово. Пробите произхождаха от пчелини, разположени в индустриално незамърсени местности отстоящи на 3 km от площи с интензивно земеделие, пътища и промишлени предприятия (Bogdanov, 2006). При някои от регионите (В. Търново, Ст. Загора и Карлово), не бяха предоставени проби преди изсушаване на пчелния прашец, с което се обяснява по-малкия брой на пробите неизсушен (n=13), в сравнение с изсушения пчелен прашец (n=19).

За установяване на микробиологичните показатели след период на едногодишно съхранение пробите бяха вакуумирани в опаковъчни полиетиленови торбички на 8-ма степен посредством вакуумираща машина miniVac (Vac-Star AG, Switzerland, available: <http://www.vac-star.com/en/p1-miniVAC.html>).

До момента на анализите пробите изсушен пчелен прашец (n=19) бяха съхранявани при хладилни условия (0-4°C), (Наредба № 9, 2005), а пробите неизсушен пчелен прашец (n=13) в замразено състояние при (-)18°C (Dominguez-Valhondo et al., 2011). Микробиологичните изследвания на пробите се извършиха, след тяхното едногодишно съхранение.

### Подготовка на пробите за микробиологичен анализ

Подготвя се основно разреждане като 25 g от пчелния прашец се разреждат с 225 mL буферна пептонова вода, (Merck, Darmshtadt, Germany), след което се хомогенизират за 10 мин при 200 rpm в стомашер. Оставят се за 30 мин. на стайна температура, след което се подготвят и степенни разреждания в стерилен физиологичен разтвор.

### Изолиране на микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* и сем. *Pseudomonadaceae*

Извършва се посевка на по 0,1 mL от основното и степенните разреждания върху повърхността на MacConkey agar и XLD (Xylose Lysine Deoxycholate) agar (Merck, Darmstadt, Germany), последвано от инкубация при 37°C за 24 h. Остатъкът от основното разреждане (1:10) на пчелния прашец се оставя за обогатяване при 37°C за 18 часа. Следва вторично обогатяване чрез прехвърляне на 1 mL от основното разреждане в два обогатителни бульона: селенитов бульон (37°C за 24 h), и среда на Rappaport-Vassiliadis (41°C за 24 h) (Merck, Darmshtadt, Germany). На 42-ия час от обогатителните бульони се извършва посевка върху MacConkey agar и XLD agar (Merck, Darmstadt, Germany), последвано от нова инкубация при 37°C за 24 h.

При констатиране на лактозонегативни или лактозопозитивни колонии на изолати на микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* на 24-ия при първичната посевка или на 66-ия час при препосевката от обогатителните бульони върху MacConkey агара и XLD агара се извършва последващ анализ чрез подготовка и оцветяване на микроскопски препарати по метода на Gram, след което се следва схемата за принципно първично лабораторно диференциране от

някои други важни за безопасността на храните видове микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* (род *Salmonella*, *E.coli*, *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*). Използвани бяха среда на KLIGLER и среда за доказване на подвижност, индол и H<sub>2</sub>S (Merck, Darmshtadt, Germany), както и салмонелни серуми (Sifin Service GmbH, Berliner Allee 317-321, Berlin, Germany, <http://sifin.de/>), (Динков, 2016)

Микроорганизмите от сем. *Pseudomonaceae* бяха изолирани след посявка на по 0,1 mL върху на VRBD Agar (Merck, Darmstadt, Germany).

**Идентификация на изолатите от сем. *Enterobacteriaceae* и сем. *Pseudomonadaceae* чрез система BioLog (Biolog, Hayward, USA).**

За последващо доказване до вид бяха събрани по 9 бр. изолати от регион с идентични колониални и първични биохимични характеристики, първоначално определени като представители на сем. *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonadaceae*. Те бяха запазени и съхранени до следващите анализи при - 18°C в епруветки тип епендорф с TSB (Tryptone Soy Broth), (Merck, Darmshtadt, Germany) с добавен 20% глицерол. За видово диференциране изолатите бяха култивирани върху кръвен агар, с оглед постигане на растеж на единични колонии, което бе последвано от инкубация за 24 часа при 37°C. На така подготвените чисти култури се извършиха анализи за видово диференциране посредством идентификационната система BioLog Gen III microplates (BioLog, Hayward, USA).

Накратко изследването чрез системата BioLog Gen III microplates (BioLog, Hayward, USA) включваше вземане на отделни колонии от чистите култури с помощта на специален тампон със заострен връх, които се поставяха и хомогенизираха в епруветки със специална среда IF-A за суспендиране на микроорганизми за плаки GEN III. Във всяка от ямките на плаките GEN III към системата бяха поставяни по 100 µL от суспензията на микроорганизма. Впоследствие плаките се инкубираха при 33 °C за 24 часа. Отчитането на резултатите се извършваше визуално по промяната на цвета в ямките, сравнено с положителната и отрицателните контроли като интерпретацията на резултатите се извършваше чрез софтуера OmniLog на системата BioLog Gen III microplates (Biolog, Hayward, USA).

Анализите бяха проведени в изпълнение на задачите по научен проект 07/2014 на ВМФ при Тракийски университет в лабораторията на катедра Хигиена, технология и контрол на хранителните продукти, ветеринарно законодателство и мениджмънт на ВМФ при Тракийски университет.

**Резултати и обсъждане**

На табл. 1 са представени резултатите за степен на контаминация и видове микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* и сем. *Pseudomonaceae*. Видно е, че в изследваните 32 броя проби от 8 региона на страната бяха доказани повечето представители на колиформите и някои други представители на сем. *Enterobacteriaceae*, до момента неконстатирани в този продукт, предназначен за консумация от човека.

**Табл. 1. Степен на контаминация\* с микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonaceae* в цветен пчелен прашец от РБългария (n=32)**

Изолирани видове	Проби изсушен пчелен прашец (n = 19)		Проби неизсушен пчелен прашец (n = 13)	
	Бр. контаминиран и проби	Степен на контаминация (%)	Бр. контаминирани проби	Степен на контаминация (%)
<i>Pantoea species</i>				
<i>Pantoea agglomerans</i>	13 (Всички региони без рег. Шумен)	68,4	3 (рег. Враца и рег. Сливен)	23

## Science & Technologies

<i>Pantoea agglomerans</i> bgp 6	6 (рег. Шумен)	31,6	10 (рег. Странджа и рег. Шумен)	77
<b><i>Citrobacter species</i></b>				
<i>Citrobacter freundii</i>	9 (рег. Ловеч, Шумен и Стара Загора)	47	-	-
<b><i>Proteus species</i></b>				
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (рег. Сливен)	5,3	10 (рег. Странджа и рег. Шумен)	77
<i>Proteus mirabilis</i>	6 (рег. Шумен)	31,6	6 (рег. Шумен)	46
<b><i>Serratia species</i></b>				
<i>Serratia odorifera</i>	3 (рег. В. Търново)	15,8	-	-
<i>Serratia liquefaciens/grimesii</i>	-	-	4 (рег. Странджа)	31
<b><i>E.coli species</i></b>				
<i>E.coli</i>	-	-	8 (рег. Враца и рег. Шумен)	62
<b><i>Pseudomonas species</i></b>				
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	-	-	2 (рег. Враца)	15

\*Степента на контаминация се изчислява като броят на позитивните проби изсушен, респ. неизсушен пчелен прашец се разделя на общия брой на пробите, след което се умножава по 100.

Установено бе, че във всички региони, както при неизсушения, така и при изсушения пчелен прашец се доказват микроорганизми от *Pantoea* spp (100%). Най-висока степен на контаминираност в пробите изсушен пчелен прашец от всички региони, без тези от рег. Шумен, бе констатирана с микроорганизма *Pantoea agglomerans* (68,4%). Установено бе, че другия доказан микроорганизъм от това семейство - *Pantoea agglomerans* bgp 6 се констатира само в пробите изсушен пчелен прашец от рег. Шумен (31,6%). При пробите неизсушен пчелен прашец най-висока степен на контаминираност с *Pantoea agglomerans* bgp 6 бе установена при пробите от рег. Странджа и рег. Шумен (77%), следвани от тези от рег. Враца и рег. Сливен (23%), при които бе констатирана *Pantoea agglomerans* (табл. 1).

Известно е, че *Pantoea agglomerans* (преди – *Enterobacter agglomerans*), който е от сем. *Enterobacteriaceae*, е използван в селското стопанство като биологичен антагонист на гъбичните заболявания при растенията (Nunes et al., 2001). Според някои автори по пчелите и в пчелните продукти от кошерите се установяват предимно *Pantoea* spp. (Loncaric et al., 2009). Има сведения, че този микроорганизъм е бил изолиран от различни растения от региона на Черно море (Mudryk, 2012). Напоследък някои автори причисляват *P. agglomerans* към опортюнистичните патогени криеци опасност главно за имуносупресирани организми. Микроорганизмът е доказан в абсцеси (Rodrigues et al., 2009), артрити (Kratz et al., 2003), и като причинител на отделни септицемични случаи при новородени (Bergman et al., 2007).

В тази връзка следва да се посочи, че опортюнистичните микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae*, към които се причисляват и *Pantoea* spp., рядко са причина за заболявания при здрави хора (Sanders and Sanders, 1997). Според нашите резултати по-често (68,4%) в

изсушения пчелен прашец се среща *Pantoea agglomerans*, а в неизсушения продукт - *Pantoea agglomerans* bgp 6 (77%). Констатираното по-високо разпространение на втория вид в неизсушения пчелен прашец и намаляването му в изсушения продукт води до хипотезата, че вторият вид би могъл да се инхибира в по-висока степен при изсушаването на пчелния прашец (табл.1). В предложенията за европейски микробиологични критерии към цветния пчелен прашец не фигурира *P.agglomerans* (Campos et al. 2008). Въз основа на нашите резултати препоръчваме извършването на допълнителни проучвания и в други географски ширини, с оглед определяне на нива на контаминираност. Допълнителните проучвания на антибиотичната чувствителност на 5 бр. щамове *P.agglomerans* и *P.agglomerans* bgp 6 изолирани от неизсушен и изсушен цветен пчелен прашец от четири от обследваните региони (рег. Шумен, рег. Странджа, рег. Сливен и рег. Карлово) по отношение на тяхната чувствителност спрямо представители на основните групи антибиотици, прилагани за терапия на бактериални заболявания в хуманната медицина: β-лактамни антибиотици (amoxicillin + clavul. acid: 20/10 µg), аминогликозиди (gentamycin), амфениколи (chloramphenicol), тетрациклини (doxycyclin), хинолони (enrofloxacin) и цефалоспорини (cephalotin), водят до извода за несъществен риск от трансфер на антибиотична бактериална резистентност чрез установените в цветния пчелен прашец *P.agglomerans* (Динков, 2016).

На второ място, след микроорганизмите от *Pantoea* spp. при пробите изсушен пчелен прашец се нарежда *Citrobacter freundii*, който бе доказан в пробите от рег. Ловеч, рег. Шумен и рег. Стара Загора (47%). Следва да се посочи, че този вид микроорганизъм не бе установен в пробите неизсушен пчелен прашец от същите региони (табл.1). Микроорганизми от род *Citrobacter* (*Citrobacter diversus*), са констатирани в пчелния прашец (Belhadj et al. 2014). До момента липсват данни за установяването на *Citrobacter freundii*, който бе доказан в 47% от пробите изсушен пчелен прашец от рег. Ловеч, рег. Шумен и рег. Стара Загора (табл. 2). Следва да се посочи, че микроорганизмите от род *Citrobacter*, както и *Pantoea* spp. не представляват опасност за здрави хора и често се срещат в околната среда. Те също се причисляват към опортюнистичните видове, доказани като причинители на неонатални менингити и абсцеси при хората (Joaquin et al., 1991).

Микроорганизмите от род *Proteus* заемат трето място по степен на контаминираност при изсушения и се нареждат на второ място при неизсушения пчелен прашец. Най-често при пробите изсушен пчелен прашец бе доказан *Prot. mirabilis* (31,6%), което обаче бе установено само при пробите от един от изследваните региони (рег. Шумен). Чувствително по ниска степен на контаминираност при изсушения пчелен прашец бе установена с *Prot. vulgaris* (5,3%), който бе констатиран само в рег. Сливен. При пробите неизсушен пчелен прашец по-висока степен на контаминираност с микроорганизми от род *Proteus* бе установена с вида *Prot. vulgaris*, който бе доказан при пробите от рег. Странджа и рег. Шумен (77%). Съответно *Prot. mirabilis* бе установен само в пробите неизсушен пчелен прашец от рег. Шумен (46%).

*Proteus vulgaris* също е причисляван към групата на опортюнистичните или факултативно патогенните микроорганизми, които предизвикват заболявания при наличие на предразполагащи причини като имунна недостатъчност, фиброза на бъбреците или заболявания от НИФ (Steinkamp et al., 2005). Установено е също, че при съответни предразполагащи инфекцията условия *Prot. vulgaris* може да предизвика инфекции на уринарния тракт, кожни и раневи инфекции (Berg et al., 2005). Има данни, че *Prot. mirabilis* е установяван по-често в чревното съдържимо на хора с диарични признаци в сравнение със здрави хора и според някои автори това би могло да се свърже с ролята му като причинител на чревни заболявания при човека (Müller, 1986). При интерпретация на получените от нас резултати следва да се има пред вид до момента недостатъчно изяснената роля на *P. mirabilis* като доказано опасен за човека чрез консумацията на пчелен прашец, както и липсата на необходимост от изследването му в предложенията за микробиологични критерии към пчелния прашец (Campos et al., 2008). Не на последно място можем да посочим и факта, че *Prot. mirabilis* е установен само в пробите неизсушен и изсушен пчелен прашец от един от

обследваните региони (рег. Шумен), (табл.1).

Микроорганизмите от род *Serratia* бяха констатирани само в пробите пчелен прашец от два от обследваните региони. В пробите изсушен пчелен прашец от рег. В. Търново бе доказана *Serratia odorifera* (15,8%), а в неизсушения пчелен прашец от рег. Странджа бе установена *Serratia liquefaciens/grimesii* (31%). Микроорганизмът *Serratia liquefaciens/grimesii* също се включва към потенциално патогенните за човека микроорганизми, който се среща по редица растения (Berg et al., 2005). В достъпните литературни източници не бяха установени данни за ролята на микроорганизма *Serratia odorifera*, констатиран в 15,8% от пробите изсушен пчелен прашец, като причинител на заболявания при човека (табл.1).

При пробите неизсушен пчелен прашец също само в два от обследваните региони (рег. Враца и рег.Шумен), бяха установени *E.coli* (62%). При пробите изсушен пчелен прашец не бяха констатирани *E.coli*, което е в съгласие с предложенията за изискване за липса на тези микроорганизми в предназначения за консумация от човека изсушен пчелен прашец (Campos et al., 2008).

Единствено при пробите неизсушен пчелен прашец от рег. Враца бяха констатирани микроорганизми от сем. *Pseudomonadaceae*. Бе доказана 15%-на контаминираност с *Flavimonas oryzihabitans* (табл. 1). Известно е, че този микроорганизъм първоначално е изолиран от ориз откъдето произлиза и неговото наименование (Kodama et al., 1985). До момента в достъпните ни литературни източници липсват данни за установяването в цветен пчелен прашец на микроорганизма *Flavimonas oryzihabitans*. Известно е, че *Pseudomonas* spp. могат да предизвикат предимно кожни и раневи инфекции. Те също се включват в групата на опортюнистичните микроорганизми (Berg et al., 2005). Някои автори посочват *Flavimonas oryzihabitans* като причинител на следоперативни септицемични инфекции при новородени (Freney et al., 1988) и на перитонити, възникващи след проведена перитонеална диализа (Bending et al., 1989). В бъдеще би следвало да се установи връзката на събирания от пчеларите от прашецоуловителите пчелен прашец с евентуалната възможна поява при тях на кожни инфекции при наличие на нарязвания по ръцете, което налага препоръките при първичната обработка на този продукт да са свързани не само с постигане на по-висока хигиена при преработката, но и за използване на еднократни ръкавици при работа с прашецоуловителите и при последващата първична обработка на цветния пчелен прашец, с оглед гарантиране на безопасност за работниците.

На второ място по контаминираност на неизсушения цветен пчелен прашец, след *Pantoea* spp. се нареждат *E.coli* (62%), които бяха установени само в два от обследваните региони (рег. Враца и рег. Шумен). Констатирано бе също, че след последващото изсушаване и едногодишно съхранение във вакуумирано състояние при (-)18°C на пробите изсушен пчелен прашец в изсушения продукт не се установяват *E.coli* (табл.1). Тези данни ни дават основание да препоръчаме превантивното изследване за наличие на *E.coli* на неизсушения пчелен прашец преди съхранението му в замразено състояние и предлагането на специфична ветеринарно-санитарна преценка по отношение на превенцията от наличие на *E.coli* в пчелния прашец за консумация от човека.

### Заклучения

В изсушения цветен пчелен прашец от 8 региона на страната не са констатирани регламентирани в законодателството за изследване на продуктите от животински произход (Регламент 1441, 2007), причинители на заболявания при хората от сем. *Enterobacteriaceae*.

Най-висока степен на контаминираност при всички изследвани проби (100%), бе установена с микроорганизми от *Pantoea* spp (*P.agglomerans* и *P.agglomerans* bgp6). Препоръчва се извършването и на допълнителни проучвания в други географски ширини, с оглед определяне на нива на контаминираност с *P. agglomerans* на цветния пчелен прашец, предназначен за консумация от човека. Това би спомогнало за обосноваване на включването на този микроорганизъм в микробиологичните критерии, с оглед обективна оценка на безопасността на цветния пчелен прашец за консумация от човека. Освен *Pantoea* spp. в

неизсушения пчелен прашец се срещат и род *Proteus* (*Prot. vulgaris*, *Prot. mirabilis*), *Serratia* (*Serratia liquefaciens/grimesii*), *E.coli* и *Flavimonas* (*Flavimonas oryzihabitans*) а в изсушения пчелен прашец *Citrobacter* (*Citrobacter freundii*), *Proteus* (*Prot. vulgaris*, *Prot. mirabilis*) и *Serratia* (*Serratia odorifera*), (табл. 1).

Предлага се следната ветеринарно-санитарна преценка, с оглед превенция от *E.coli* на цветния пчелен прашец:

- Задължително изследване за доказване наличието на *E.coli* в предназначения за търговска реализация изсушен цветен пчелен прашец, както и на неизсушения междинен продукт, преди неговото замразяване за последващо съхранение в замразено състояние.
- При липса на *E.coli* в изсушения пчелен прашец той се счита безопасен за консумация от човека.
- При лабораторно установяване на *E.coli* в неизсушен пчелен прашец той следва да се подложи на незабавно изсушаване, след което да се извърши повторен микробиологичен анализ.
- При повторно констатиране, след изсушаване или при доказване на *E.coli* в изсушен пчелен прашец, предназначен за търговска реализация, същият се бракува и се насочва за консумация от животни.

### Литература

1. Наредба №9 от 22 юни 2005 г. за условията и реда за одобряване и регистрация на предприятията за преработка на восък и производство на восъчни основи, както и на предприятията за производство и търговия с пчелен мед и пчелни продукти, Издадена от министерство на земеделието и горите (Обн., ДВ, бр. 54 от 01.07.2005 г.).
2. Регламент (ЕО) №1441/2007 на комисията от 5 декември 2007 година за изменение на Регламент (ЕО) № 2073/2005 относно микробиологичните критерии за храните.
3. Динков, Д., 2016, Диференциране и антибиотична чувствителност на *Pantoea agglomerans* изолирана от цветен пчелен прашец, *Eastern Academic Journal*, Issue 1, pp. 99-108.
4. Belhadj H., D. Harzallah, S. Dahamna, S. Khennouf, 2014. Microbiological quality control of marketed pollen, *Der Pharmacia Lettre*, 6 (2):37-42.
5. Bending JWA, Mayes PJ, Eyers DE, Holmes B, TTL Chin, 1989. *Flavimonas oryzihabitans* (*Pseudomonas oryzihabitans*, CDC Group Ve-2): an emerging pathogen in peritonitis related to continuous ambulatory peritoneal dialysis, *J Clin Microbiol*, 27:217-8.
6. Berg G.,L. Eberl, A. Hartmann, 2005. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria, *Environmental Microbiology* 7 (11): 1673–1685.
7. Bergman K.A., Arends J.P., Schölvinc E.H., 2007. *Pantoea agglomerans* septicemia in three newborn infants, *Pediatric Infectious Disease Journal*, 26(5): 453–454.
8. Bogdanov, S. 2006. Contaminants of bee products, Review article, *Apidologie*, 37,1–18.
9. Bouriche H., Karnouf N., Belhadj H., Dahamna S., Harzalah D., A. Senator, 2011. Free Radical, Metal-chelating and Antibacterial Activities of Methonolic Extract of *Capparis Spinosa* buds. *Adv. Environ. Biol.*, 5(2): 281-287.
10. Brindza, J., Grof, J., Bacigalova, K., Ferienc, P., D. Toth, 2010. Pollen microbial colonization and food safety. *Acta Chimica Slovaca*, 3: 95-102.
11. Campos, M.G.R., S. Bogdanov, L.B. Almeida-Muradian, T. Szczesna, Y. Mancebo, C. Frigerio, F. Ferreira, 2008. Pollen composition and standardization of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 47(2): 156-163.
12. Dominguez-Valhondo, D., D. B. GIL, M. T. Hernandez □ D. Gonzalez-Gomez (2011). Influence of the commercial processing and floral origin on bioactive and nutritional properties of honeybee-collected pollen. *International Journal of Food Science and Technology*, 46 (10). 2204-2211.
13. Freney J, Hansen W, Etienne J, Vandenesch F, J. Fleurette, 1988. Postoperative infant septicemia caused by *Pseudomonas luteola* (CDC Group Ve-1) and *Pseudomonas oryzihabitans* (CDC Group Ve-2). *J Clin Microbiol*, 26: 1241-3.

14. Gonzalez, G., Hinojo, M. J., Mateo, R., Medina, A., M. Jimenez, 2005. Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 1-9.
15. Hani, B., Dalila, B., Saliha, D., Daoud, H., Mouloud, Gh., Kh. Seddik, 2012. Microbiological Sanitary Aspects of Pollen, *Advances in Environmental Biology*, 6(4): 1415-1420.
16. Joaquin A., Khan S., Russel N., N.al Fayez, 1991. Neonatal meningitis and bilateral cerebellar abscesses due to *Citrobacter freundii*. *Pediatr. Neurosurg.* 17:23–24.
17. Kodama K, Kimura K, Komagata K., 1985. Two new species of *Pseudomonas*: *P. oryzihabitans* isolated from a rice paddy, and *P. luteola* isolated from clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol*, 35:467 - 74.
18. Kratz A., Greenberg D., Barki Y., Cohen E., M. Lifshitz, 2003. *Pantoea agglomerans* as a cause of septic arthritis after palm tree thorn injury; case report and literature review, *Archives of Disease in Childhood*, 88: 542–541.
19. Loncaric, I., Heigl, H., Licek, E., Moosbeckhofer, R., Busse, H.J., R. Rosengarten, 2009. Typing of *Pantoea agglomerans* isolated from colonies of honey bees (*Apis mellifera*) and culturability of selected strains from honey. *Apidologie*, 40:40–54.
20. Medina, A., Gonzalez, G., Saez, M. R., M. Jimenez, 2004. Bee pollen, a substrate that stimulates ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Systematic and Applied Microbiology*, 27: 261- 267.
21. Mudryk, M., 2012. Plant-isolated *Pantoea agglomerans*-new look into potential pathogenicity, *Мікробіол. журн*, ISSN 0201-8462, 74(6): 53-57.
22. Müller H. E., 1986. Occurrence and pathogenic role of *Morganella-Proteus-Providencia* group bacteria in human feces. *J. Clin. Microbiol.* 23:404–405.
23. Nunes C., Usall J., Teixidó N., Viñas I. , 2001. Biological control of postharvest pear diseases using a bacterium *Pantoea agglomerans* (CPA-2) , *Int. J. Food Microbiology*, 70, Iss. 1-2: 53–61.
24. Rodrigues A.L., Lima I.K., Koury A.-Jr, de Sousa R.M. & L.C. Meguins., 2009. *Pantoea agglomerans* liver abscess in a resident of Brazilian Amazonia, *Tropical Gastroenterology*, 30 (3): 154–155.
25. Sanders, W.E., Jr., Sanders, C.C., 1997. *Enterobacter* spp.: Pathogens poised to flourish at the turn of the Century. *Clin. Microbiol. Rev.* 10: 220-241.
26. Serra, B. J. , 1988. Plant origin of honeybee-collected pollen produced in Spain. *Annals of the Association of Spanish Language palynologists*, 4: 73-78
27. Steinkamp, G., Wiedemann, B., Rietschel, E., Krahl, A., Giehlen, J., Barneier, H., F. Ratjen, 2005, Prospective evaluation of emerging bacteria in cystis fibrosis. *J Cyst Fibros*, 4: 41–48.