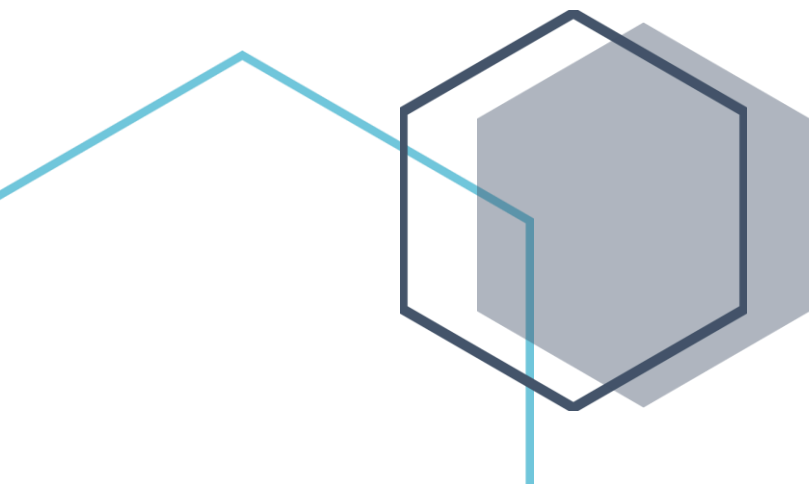


# MIKROBIOLOGIJA 2022

---

Lietuvos mikrobiologų draugijos konferencija

**Pranešimų santraukų knyga**



## Turinys/Contents

|  |           |
|--|-----------|
| Renginio organizatorius ir komitetai/Organizer and committees .....  | 9         |
| Renginio rėmėjai/Sponsors .....  | 10        |
| Konferencijos programa/Conference program .....  | 11        |
| <b>ŽODINIAI PRANEŠIMAI/ORAL PRESENTATIONS .....</b>  | <b>14</b> |
| <b>BENCH-TO-BEDSIDE INFECTIOUS DISEASES TRANSLATIONAL RESEARCH AGAINST MULTIDRUG RESISTANT PATHOGENS: EVERY STEP MATTERS</b>                             |           |
| Vidmantas Petraitis .....  | 15        |
| <b>CELL VIABILITY ASSESSMENT IN <i>C. ALBICANS</i> BIOFILMS BY LASER SPECKLE CONTRAST IMAGING FOLLOWING PROTOPORPHYRIN IX SONOSENSITIZATION</b>          |           |
| Mindaugas Tamošiūnas, Simona Vaitkienė, Greta Rupšytė, Neringa Mikštaitė, Neringa Kuliešienė, Rimantas Daugelavičius .....                               | 16        |
| <b>ATSPARUMO ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS GENŲ PERDAVIMAS PER MOBILIUS GENETINIUS ELEMENTUS <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> PADERMĖSE</b>                      |           |
| Jurgita Aksomaitienė, Aleksandr Novoslavskij, Mindaugas Malakauskas .....  | 18        |
| <b>THE IMPACT OF INTENSIVE FISH FARMING ON THE RESISTOME OF POND SEDIMENT AND FISH GUT MICROBIOTA</b>  |           |
| Julija Armalytė, Radvilė Drevinskaitė, Karolina Sabaitė, Karina Kasperovičiūtė, Vaidotas Valskys, Modestas Ružauskas, Eglė Lastauskienė .....            | 19        |
| <b>PROBIOTICS AND POSTBIOTICS FOR GUT MICROBIAL MODULATION</b>   |           |
| Eric Banan-Mwine Daliri, Toma Balnionyte, Ashwinipriyadarshini Megur, Aurelijus Burokas.....   | 20        |
| <b>SIDABRO NANODALELIŲ IR ELEKTROPORACIJOS POVEIKIS <i>CANDIDA GENTIES</i> MIELĖMS</b>   |           |
| Kotryna Čekuolytė, Estera Žemgulytė, Renata Gudiukaitė, Vitalij Novickij, Andrius Maneikis, Robertas Galinis, Gediminas Galinis, Eglė Lastauskienė ..... | 21        |
| <b>MIKROORGANIZMAI IR LIETUVOS PAJŪRIO REKREACINIŲ VANDENŲ KOKYBĖ</b>  |           |
| Marija Kataržytė, Diana Vaičiūtė, Donata Overlingė, Greta Gyraitė, Greta Kalvaitienė, Eglė Jonikaitė .....   | 22        |
| <b><i>BARTONELLA</i> SPP. IN LITHUANIA</b>   |           |
| Jana Radzijeuskaja, Miglė Razgūnaitė, Dalytė Mardosaitė-Busaitienė, Indrė Lipatova, Birutė Karvelienė, Algimantas Paulauskas .....                       | 23        |
| <b>VIABILITY OF <i>BACILLUS</i> SPECIES IN THE BIOLOGICAL SELF-HEALING CONCRETE WITH DIFFERENT CEMENT TYPES</b>  |           |
| Augusta Ivaškė, Ronaldas Jakubovskis, Jurgita Malaiškienė, Jaunius Urbonavičius .....  | 24        |

|  |    |
|--|----|
| <b>GALVIJUS INFEKUOJANČIŲ <i>SARCOCYSTIS</i> PARAZITŲ PAPLITIMAS IR ĮVAIROVĖ LIETUVOJE</b>   |    |
| Agnė Baranauskaitė .....   | 25 |
| <b>W/O/W DOUBLE EMULSION-LOADED ALGINATE CAPSULES CONTAINING <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> AND LIPOPHILIC SEA BUCKTHORN (<i>HIPPOPHAE RHAMNOIDES</i> L.) POMACE EXTRACT IN DIFFERENT PHASES</b> |    |
| Aušra Šipailienė, Greta Šlimaitė, Sigita Jeznienė, Petras Rimantas Venskutonis, Daiva Leskauskaitė.....  | 26 |
| <b><i>ESCHERICHIA COLI</i> PAPLITIMAS IR ATSPARUMAS ANTIBIOTIKAMS LIETUVIŠKOJE IR LENKIŠKOJE VIŠČIUKŲ BROILERIŲ MĖSOJE</b>   |    |
| Sigita Ramonaitė, Ugnė Trapienė .....  | 27 |
| <b>PRODUKTO SU ANTIGRYBINĖMIS SAVYBĖMIS SUKŪRIMAS IR JO CHARAKTERIZAVIMAS</b>  |    |
| Joana Šalomskienė, Reda Riešutė, Mireta Reminaitė, Silvija Kiverytė, Algimantas Paškevičius .....  | 28 |
| <b><i>FUSARIUM GENTIES</i> GRYBŲ POVEIKIS PIENINĖMS KARVĖMS</b>  |    |
| Rimvydas Falkauskas, Violeta Baliukonienė, Bronius Bakutis, Jurgita Jovaišienė, Vytuolis Žilaitis, Gintarė Vaičiulienė, Gediminas Gerulis .....  | 29 |
| <b><i>ARCOBACTER BUTZLERI</i> BAKTERIJŲ JAUTRUMO SKIRTINGŲ KLASIŲ ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS IR VISO GENOMO SEKŲ YPATUMAI</b>  |    |
| Dainius Uljanovas, Mindaugas Malakauskas .....   | 30 |
| <b>STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF VIRAL ENVELOPE PROTEINS</b>  |    |
| Ieva Vasiliauskaite-Brooks .....   | 31 |
| <b>DIVERSITY OF THERMOPHILIC BACTERIOPHAGES FROM COMPOST HEAPS</b>   |    |
| Eugenijus Šimoliūnas, Gintarė Laskevičiūtė, Monika Šimoliūnienė, Martynas Skapas, Nomedas Kuisienė.....  | 32 |
| <b>SARS-CoV-2 VIRUSAI AUDINIŲ FERMOSE IR JŲ GENOTIPAI LIETUVOJE</b>  |    |
| Algimantas Paulauskas, Simona Pileviciene, Zygmantas Janeliunas, Marius Masiulis.....  | 33 |
| <b>THE UNEXPECTED DIVERSITY AMONG <i>SACCHAROMYCETALES</i> KILLER YEASTS</b>   |    |
| Kristupas Paulius, Aleksandras Konovalovas, Saulius Serva .....  | 34 |
| <b>DIVERSITY OF BACTERIOPHAGES FROM SULFATE-TYPE GYPSUM KARST LAKE ECOSYSTEM</b>   |    |
| Monika Šimoliūnienė, Martynas Skapas, Sigitas Šulčius, Rolandas Meškys, Eugenijus Šimoliūnas.....  | 35 |
| <b>KĄ APIE LIETUVOJE PLITUSĮ SARS-CoV-2 VIRUSĄ ATSKLEIDĖ VISO GENOMO SEKOSKAITOS TYRIMAI?</b>  |    |
| Lukas Žemaitis, Gediminas Alzbutas.....  | 36 |
| <b>BIOKATALIZATORIAI NUKLEOZIDŲ IR NUKLEOTIDŲ SINTEZEI</b>   |    |
| Nina Urbelienė, Martyna Koplūnaitė, Dominykas Špelveris, Kamilė Butkutė, Rasa Rutkienė, Rolandas Meškys.....   | 37 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>DEFENCE, INHIBITION, AND APPLICATION OF TYPE I CRISPR-CAS SYSTEM</b>   |           |
| Tomas Šinkūnas.....   | 38        |
| <b>UNLOCKING THE POTENTIAL OF INDOLE: TO DYE OR NOT TO DYE</b>  |           |
| Mikas Sadauskas, Rolandas Meškys.....   | 39        |
| <b>LIPOLYTIC ENZYMES FROM <i>GEOBACILLUS</i>: ENGINEERING, IMPROVEMENT, APPLICATION</b>   |           |
| Vilius Malūnavičius, Renata Gudiukaitė.....   | 40        |
| <b>STENDINIAI PRANEŠIMAI/POSTER PRESENTATIONS.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>Klinikinė mikrobiologija ir atsparumas antimikrobiniais vaistams/Clinical microbiology and resistance to antimicrobial drugs.....</b>        | <b>42</b> |
| <b>A1. CHAPERONIN <i>CPN60</i> SEQUENCING AND MALDI-TOF PROTEIN PROFILING IN DISCRIMINATION OF GARDNERELLA SPECIES</b>                          |           |
| Aistė Bulavaitė, Thomas Maier, Milda Plečkaitytė.....   | 42        |
| <b>A2. THE FORMULATION OF STABLE EMULSIONS AND EVALUATION OF ITS ANTIBACTERIAL AND FUNGICIDAL EFFICACY</b>                                      |           |
| Kamilė Eitkevičiūtė, Simona Sutkuvienė.....   | 43        |
| <b>A3. PREBIOTIKAI IR PROBIOTIKAI – ODOS MIKROBIOMĄ ATKURIANTYS FUNKCINIAI VEIKSNIAI ACNE VULGARIS ATVEJU</b>                                   |           |
| Rita Jankauskienė, Gražina Šniepienė.....   | 44        |
| <b>A4. AUTISTIC CHILDREN DERIVED GUT MICROBIOTA INFLUENCE AUTISTIC PHENOTYPE IN HEALTHY ADULT MICE</b>  |           |
| Arnas Kunevičius, Julija Raudytė, Dominykas Varnas, Vaidotas Urbonas, Aurelijus Burokas.....  | 45        |
| <b>A5. THE PECULIARITIES OF PHOTOCATALYTIC INACTIVATION OF <i>S. TYPHIMURIUM</i> BY P25 TiO<sub>2</sub></b>                                     |           |
| Gabrielė Mačiokaitė, Sandra Sakalauskaitė, Rimantas Daugelavičius, Martynas Lelis.....  | 46        |
| <b>A6. SYNTHESIS AND ANTIGENICITY ANALYSIS OF RECOMBINANT MAJOR YELLOW JACKET VENOM ALLERGEN VES V 5</b>  |           |
| Juta Rainytė, Gintautas Žvirblis, Mindaugas Zaveckas, Rasa Petraitytė-Burneikienė.....  | 47        |
| <b>A7. FLUKONAZOLO EFEKTYVUMO PRIEŠ <i>CANDIDA</i> MIELES DIDINIMAS STIRILPIRIDINIAIS IR STATINIAIS</b>   |           |
| Simona Vaitkienė, Gunars Duburs, Rimantas Daugelavičius.....  | 48        |
| <b>Aplinkos mikrobiologija ir ekstremofilai/Environmental microbiology and extremophiles.....</b>   | <b>49</b> |
| <b>B1. GRAM-POSITIVE BACTERIUM <i>PAENIBACILLUS LARVAE</i> STRAINS ISOLATED FROM LITHUANIAN HONEYBEES</b>                                       |           |
| Paulina Amšiejūtė, Vaclovas Jurgelevičius, Petras Mačiulskis, Česlova Butrimaitė-Ambrozevičienė, Simona Pilevičienė, Algimantas Paulauskas..... | 49        |

|   |    |
|---|----|
| <b>B2. OPTIMIZATION OF MOLECULAR IDENTIFICATION OF <i>SARCOCYSTIS</i> PARASITES INFECTING DOMESTIC ANIMALS</b>  |    |
| Agnė Baranauskaitė, Živilė Strazdaitė-Žielienė, Modestas Petrauskas, Deividas Paliovkinas, Petras Prakas, Elena Servienė.....                                 | 50 |
| <b>B3. VDU AKVAKULTŪROS CENTRO VANDENS SU PROBIOTIKAIS MIKROBIOTOS TYRIMAS</b>  |    |
| Monika Brimaitė, Karolina Lukošiuūtė, Alvydas Žibas, Algimantas Paulauskas .....  | 51 |
| <b>B4. STUMBRŲ (<i>BISON BONASUS</i>) UŽSIKRĖTIMAS ERKIŲ PERNEŠAMAIŠ PATOGENAIS</b>   |    |
| Algimantas Paulauskas, Asta Aleksandravičienė, Dalia Černevičienė, Loreta Gričiuvienė, Artūras Kibiša, Indrė Lipatova, Jana Radzijeuskaja, Irma Ražanskė..... | 52 |
| <b>B5. INVAZINIŲ <i>ROBINIA PSEUDOACACIA</i> IR <i>CYTISUS SCOPARIUS</i> AUGALŲ ENDOFITINIŲ GRYBŲ ĮVAIROVĖ</b>  |    |
| Jolanta Dunovska, Ieva Rinkevičiūtė, Dovilė Čepukoit, Daiva Burokienė .....   | 53 |
| <b>B6. LIETUVOJE AUGANČIŲ <i>QUERCUS ROBUR</i> MIKROSKOPINIŲ GRYBŲ ĮVAIROVĖ</b>   |    |
| Laurita Juočytė, Karolis Sivickis, Dovilė Čepukoit, Antanas Matelis, Daiva Burokienė .....  | 54 |
| <b>B7. POTENCIALIAI PATOGENIŠKOS BAKTERIJOS MAKROFITŲ ŠAŅAŠOSE BALTIJOS JŪROS PRIEKRAVĖJE</b>   |    |
| Greta Kalvaitienė, Marija Kataržytė, Greta Gyraitė, Otilija Derbutienė, Diana Vaičiūtė, Martynas Bučas .....  | 55 |
| <b>B8. <i>BARTONELLA</i> AND <i>RICKETTSIA</i> PATHOGENS IN MITES (MESOSTIGMATA) FROM SMALL RODENTS</b>   |    |
| Evelina Kaminskienė, Jana Radzijeuskaja, Algimantas Paulauskas .....  | 56 |
| <b>B9. BIODIVERSITY OF THERMOPHILIC BACTERIA FROM COMPOST HEAPS</b>   |    |
| Gintarė Laskevičiūtė, Monika Šimoliūnienė, Nomedė Kuisienė, Eugenijus Šimoliūnas .....  | 57 |
| <b>B10. LAISVAI GYVENANČIŲ EUROPINIŲ BALINIŲ VĖŽLIŲ (<i>EMYS ORBICULARIS</i>) MIKROBIOTO TYRIMAS</b>  |    |
| Karolina Lukošiuūtė, Monika Brimaitė, Algimantas Paulauskas .....   | 58 |
| <b>B11. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME LACTIC ACID BACTERIA AND ESSENTIAL OILS ON <i>XANTHOMONAS</i> SPP. GROWTH</b>  |    |
| Irena Mačionienė, Joana Šalomskienė, Dovilė Čepukoit, Daiva Burokienė.....  | 59 |
| <b>B12. ANALYSIS OF MICROORGANISMS IN SANDBOXES IN URBAN AREA</b>   |    |
| Asta Aleksandravičienė, Monika Mažeikaitė, Žaneta Maželienė, Ingrida Viliušienė, Loreta Gričiuvienė, Daiva Šakienė.....                                       | 60 |
| <b>B13. MELSVABAKTERIŲ GAMINAMŲ MIKROCISTINŲ ĮVAIROVĖ KURŠIŲ MARIOSE</b>  |    |
| Donata Overlingė, Anna Toruńska-Sitarz, Marija Kataržytė, Renata Pilkaitytė, Greta Gyraitė, Hanna Mazur-Marzec .....  | 61 |

|   |    |
|---|----|
| <b>B14. MOLECULAR DETECTION OF BACTERIAL PATHOGENS IN BATS BLOOD</b><br>Povilas Sakalauskas, Algimantas Paulauskas .....  | 62 |
| <b>B15. <i>BORRELIA</i> SPP. IN <i>IXODES RICINUS</i> TICKS FROM URBAN PARKS IN LITHUANIA</b><br>Justina Snegiriovaitė, Jana Radzijeuskaja, Algimantas Paulauskas .....   | 63 |
| <b>B16. SEROLOGINIS LEPTOSPIROZĖS PAPLITIMAS SUMEDŽIOTŲ ŠERNŲ POPULIACIJOJE</b><br>I. Stadalienė, G. Zamokas, B. Karvelienė, J. Juodytė, J. Buitkuvienė, J. Šakalienė .....   | 64 |
| <b>B17. MOLECULAR IDENTIFICATION OF <i>SARCOCYSTIS</i> PARASITES IN SMALL INTESTINES OF MUSTELIDS AND NORTHERN GOSHAWK FROM LITHUANIA</b><br>Tautvilė Šukytė, Donatas Šneideris, Evelina Juozaitytė-Ngugu, Dalius Butkauskas, Darija Moskaliova, Dominyka Vaitiekūnaitė, Dovilė Kovaliūnaitė, Petras Prakas ..... | 65 |
| <b>B18. ETERINIŲ ALIEJŲ POVEIKIS [PSI] PRIONUI <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> LAŠTELĖSE</b><br>Justina Versockienė, Toma Balnionytė, Audrius Gegeckas, Eglė Lastauskienė.....  | 66 |

## Maisto mikrobiologija ir biotechnologija/Food microbiology and biotechnology ... 67

|  |    |
|--|----|
| <b>C1. THE EFFECT OF DIFFERENT CARBON SOURCES ON BACTERIAL CELLULOSE PRODUCTION</b><br>Balvočius V., Juzėnaitė E., Krakausaitė U., Kurapkienė A., Kumaran S.N., Leveckytė J., Minelgaitė V., Petrikaitytė A., Tamašauskaitė L., Večkienė L., Šipailienė A..... | 67 |
| <b>C2. HIGH CONTENT ANALYSIS OF CHERRIES-ASSOCIATED MYCOBIOTA</b><br>Ramunė Stanevičienė, Juliana Lukša, Živilė Strazdaitė-Žielienė, Bazilė Ravoitytė, Regina Losinska-Sičiūnienė, Elena Servienė.....   | 68 |
| <b>C3. BIOLOGIŠKAI VEIKLIŲ MEDŽIAGŲ IR SAUGOS RODIKLIŲ YPATYBĖS BALTIJOS ŠALIŲ SKIRTINGŲ REGIONŲ MIŠKO UOGOSE</b><br>Antanas Šarkinas, Natalja Makštutienė, Indrė Jonavičienė, Alviša Šalaševičienė .....  | 69 |
| <b>C4. ANTIMICROBIAL POTENCY OF ESSENTIAL OILS</b><br>Iglė Vepštaitė-Monstavičė, Algirdas Valys, Živilė Strazdaitė-Žielienė, Saulius Serva, Elena Servienė .....   | 70 |

## Virusų biologija/Virus biology ..... 71

|  |    |
|--|----|
| <b>D1. INVESTIGATION OF BACTERIOPHAGE PROTEINS AGAINST BACTERIAL DEFENCE SYSTEMS</b><br>Jonuškytė A., Šimoliūnas E. and Šimoliūnienė M. ....                           | 71 |
| <b>D2. INVESTIGATION OF TAIL FIBER PROTEIN GP24 FROM <i>PANTOEA AGGLOMERANS</i>-INFECTING PHAGE VB_PAGS_AAS23</b><br>Krylovaitė E., Šimoliūnas E., Šimoliūnienė M..... | 72 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>D3. INTERPLAY BETWEEN TOTIVIRIDAE L-A dsRNA VIRUS AND <i>SACCHAROMYCES</i> spp. HOST: INTEGRATIVE TRANSCRIPTOMIC AND PROTEOMIC ANALYSIS</b>         |           |
| Juliana Lukša, Bazilė Ravoitytė, Elena Servienė, Saulius Serva.....  | 73        |
| <b>D4. CHARACTERIZATION OF <i>PSEUDAEROMONAS</i> BACTERIOPHAGE KLEP7 ISOLATED FROM GYPSUM KARST LAKE ECOSYSTEM</b>                                     |           |
| Patricija Petrikonytė, Monika Šimoliūnienė, Martynas Skapas, Rolandas Meškys and Eugenijus Šimoliūnas.....   | 74        |
| <b>D5. MOLECULAR CHARACTERIZATION OF <i>AEROMONAS VERONII</i> INFECTING BACTERIOPHAGE VB_AVES_KLEA5</b>  |           |
| Žukauskienė E., Šimoliūnienė M., Skapas M., Meškys R. and Šimoliūnas E. ....   | 75        |
| <b>Mikrobiotechnologija/Microbiotechnology .....</b>   | <b>76</b> |
| <b>E1. SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ALLERGEN COMPONENTS ART V 3 FROM <i>ARTEMISIA VULGARIS</i> AND BET V 4 FROM <i>BETULA VERRUCOSA</i></b>       |           |
| Laima Čepulytė, Rasa Petraitytė-Burneikienė .....  | 76        |
| <b>E2. INVESTIGATION OF SYNERGISTIC EFFECT OF ANTIMICROBIAL PHOTOINACTIVATION AND BACTERIOCINS ON THE DESTRUCTION EFFICIENCY OF BACTERIAL BIOFILMS</b> |           |
| Lukas Stasiulionis, Alisa Gricajeva .....  | 77        |
| <b>E3. DEAMINATION OF PREQ<sub>0</sub> IN <i>MICROBACTERIUM</i> SP. SINO2</b>  |           |
| Goda Jursėnaitė, Rolandas Meškys, Jonita Stankevičiūtė.....  | 78        |
| <b>E4. MIKROGRYBELINIŲ BIOSORBENTŲ, MODIFIKUOTŲ METALO NANODALELĖMIS, SAVYBIŲ PROGNOSTINIS TYRIMAS</b>   |           |
| Elvija Liūtaitė, Mantas Vaitkevičius, Violeta Vaitkevičienė.....   | 79        |
| <b>E5. THE POTENTIAL OF BACTERIAL AMIDOHYDROLASES AS AN ACTIVATING ENZYMES IN GENE-DIRECTED ENZYME PRODRUG THERAPY</b>                                 |           |
| Viktorija Preitakaitė, Simona Zubavičiūtė, Rūta Stanislauskienė, Nina Urbelienė, Rolandas Meškys .....   | 80        |
| <b>E6. ANTIBACTERIAL EFFICACY OF SILVER NANOPARTICLES IN LIQUIDS, BINDERS, AND TEXTILES</b>  |           |
| Bazilė Ravoitytė, Guoda Varnelytė, Robertas Galinis, Gediminas Galinis, Steve Devine, Elena Servienė .....   | 81        |
| <b>E7. IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF NOVEL (S)-SELECTIVE AMINOTRANSFERASES FROM METAGENOMIC LIBRARIES</b>                                     |           |
| Rokas Statkevičius, Justas Vaitekūnas, Renata Gasparavičiūtė, Jonita Stankevičiūtė, Rolandas Meškys .....  | 82        |
| <b>E8. CHARACTERIZATION OF NOVEL AMIDOHYDROLASE YQFB ANALOGS ACTIVE TOWARDS N<sup>4</sup>-ACYLCYTOSINE COMPOUNDS</b>                                   |           |
| Roberta Statkevičiūtė, Mikas Sadauskas, Rūta Stanislauskienė, Rolandas Meškys .....  | 83        |

|   |    |
|---|----|
| <b>E9. IDENTIFICATION AND CHARACTERISATION OF A NOVEL 2'-O-METHYLRIBONUCLEOSIDE DEMETHYLASE</b>   |    |
| Justas Stonkus, Rasa Rutkienė, Rita Meškienė, Rolandas Meškys.....  | 84 |
| <b>E10. MALTOZĘ SURIŠANČIO BALTYMO IR ŽALIAI FLUORESCUOJANČIO BALTYMO EKSPONAVIMAS MIELIŲ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> LĄSTELIŲ PAVIRŠIUJE</b> |    |
| Ieva Šapronytė, Rasa Petraitytė-Burneikienė, Arūnė Verbickaitė .....  | 85 |



## **Renginio organizatorius/Organizer**

Lietuvos mikrobiologų draugija

### **Organizacinis komitetas/Organizing committee:**

dr. Rūta Stanislauskienė

dr. Jonita Stankevičiūtė

prof. dr. Eglė Lastauskienė

dr. Audrius Gegeckas

dokt. Viktorija Preitakaitė

dokt. Agnė Krupinskaitė

dokt. Roberta Statkevičiūtė

dokt. Vilius Malūnavičius

dokt. Arnas Kunevičius

### **Mokslinis komitetas/Scientific committee:**

dr. Daiva Burokienė

prof. dr. Rimantas Daugelavičius

prof. dr. Eglė Lastauskienė

dr. Jonita Stankevičiūtė

prof. dr. Jaunius Urbonavičius

## Renginio pagrindiniai rėmėjai/General sponsors



## Renginio rėmėjai/Sponsors:



# Konferencijos programa/Conference program

## I dienos programa

|                                  |               |  |
|----------------------------------|---------------|--|
| BALANDŽIO 28 D. (KETVIRTADIENIS) | 9:00 – 11:00  | <b>REGISTRACIJA</b>  |
|                                  | 11:00 – 11:10 | <b>ATIDARYMO KALBA</b>   |
|                                  | 11:10 – 11:40 | <b>ATIDARYMO PASKAITA</b><br><b>BENCH-TO-BEDSIDE INFECTIOUS DISEASES TRANSLATIONAL RESEARCH AGAINST MULTIDRUG RESISTANT PATHOGENS: EVERY STEP MATTERS</b><br>Vidmantas Petraitis, Weill Cornell Medicine of Cornell University |
|                                  | 11:40 – 13:10 | <b>KLINIKINĖ MIKROBIOLOGIJA IR ATSPARUMAS ANTIMIKROBINIAMS VAISTAMS</b><br>(moderatorė Rūta Stanislauskienė)   |
|                                  | 11:40 – 12:00 | <b>CELL VIABILITY ASSESSMENT IN <i>C. ALBICANS</i> BIOFILMS BY LASER SPECKLE CONTRAST IMAGING FOLLOWING PROTOPORPHYRIN IX SONOSENSITIZATION</b><br>Mindaugas Tamošiūnas, Vytauto Didžiojo universitetas                        |
|                                  | 12:00 – 12:20 | <b>ATSPARUMO ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS GENŲ PERDAVIMAS PER MOBILIUS GENETINIUS ELEMENTUS <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> PADERMĖSE</b><br>Jurgita Aksomaitienė, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas                           |
|                                  | 12:20 – 12:40 | <b>THE IMPACT OF INTENSIVE FISH FARMING ON THE RESISTOME OF POND SEDIMENT AND FISH GUT MICROBIOTA</b><br>Julija Armalytė, Vilniaus universitetas   |
|                                  | 12:40 – 12:55 | <b>PROBIOTICS AND POSTBIOTICS FOR GUT MICROBIAL MODULATION</b><br>Eric Banan-Mwine Daliri, Vilniaus universitetas  |
|                                  | 12:55 – 13:10 | <b>SIDABRO NANODALELIŲ IR ELEKTROPORACIJOS POVEIKIS <i>CANDIDA GENTIES</i> MIELĖMS</b><br>Kotryna Čekuolytė, Vilniaus universitetas  |
|                                  | 13:10 – 14:00 | <b>PIETŪS</b>  |
|                                  | 14:00 – 15:40 | <b>APLINKOS MIKROBIOLOGIJA IR EKSTREMOFILAI</b><br>(moderatorius Jaunius Urbonavičius)   |
|                                  | 14:00 – 14:20 | <b>MIKROORGANIZMAI IR LIETUVOS PAJŪRIO REKREACINIŲ VANDENŲ KOKYBĖ</b><br>Marija Kataržytė, Klaipėdos universitetas   |
|                                  | 14:20 – 14:40 | <b><i>BARTONELLA</i> SPP. IN LITHUANIA</b><br>Jana Radzijeuskaja, Vytauto Didžiojo universitetas   |
|                                  | 14:40 – 15:10 | <b>GENETINIAI TYRIMŲ METODAI MIKROBIOLOGIJOJE</b><br>Rita Bandariavičiūtė, Linea libera  |

|                                  |                           |   |
|----------------------------------|---------------------------|---|
| BALANDŽIO 28 D. (KETVIRTADIENIS) | 15:10 – 15:25             | <b>VIABILITY OF <i>BACILLUS</i> SPECIES IN THE BIOLOGICAL SELF-HEALING CONCRETE WITH DIFFERENT CEMENT TYPES</b><br>Augusta Ivaškė, Vilniaus Gedimino technikos universitetas  |
|                                  | 15:25 – 15:40             | <b>GALVIJUS INFEKUOJANČIŲ <i>SARCOCYSTIS</i> PARAZITŲ PAPLITIMAS IR ĮVAIROVĖ LIETUVOJE</b><br>Agnė Baranauskaitė, Gamtos tyrimų centras   |
|                                  | 15:40 – 16:10             | <b>KAVOS PERTRAUKA</b>  |
|                                  | 16:10 – 17:40             | <b>MAISTO MIKROBIOLOGIJA IR BIOTECHNOLOGIJA (moderatorė Lilija Kalėdienė)</b>   |
|                                  | 16:10 – 16:30             | <b>W/O/W DOUBLE EMULSION-LOADED ALGINATE CAPSULES CONTAINING <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> AND LIPOPHILIC SEA BUCKTHORN (<i>HIPPOPHAE RHAMNOIDES</i> L.) POMACE EXTRACT IN DIFFERENT PHASES</b><br>Aušra Šipailienė, Kauno technologijos universitetas |
|                                  | 16:30 – 16:45             | <b><i>FUSARIUM GENTIES</i> GRYBŲ POVEIKIS PIENINĖMS KARVĖMS</b><br>Rimvydas Falkauskas, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas   |
|                                  | 16:45 – 17:05             | <b><i>ESCHERICHIA COLI</i> PAPLITIMAS IR ATSPARUMAS ANTIBIOTIKAMS LIETUVIŠKOJE IR LENKIŠKOJE VIŠČIUKŲ BROILERIŲ MĖSOJE</b><br>Sigita Ramonaitė, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas   |
|                                  | 17:05 – 17:25             | <b>PRODUKTO SU ANTIGRYBINĖMIS SAVYBĖMIS SUKŪRIMAS IR JO CHARAKTERIZAVIMAS</b><br>Joana Šalomskienė, Kauno technologijos universitetas   |
|                                  | 17:25 – 17:40             | <b><i>ARCOBACTER BUTZLERI</i> BAKTERIJŲ JAUTRUMO SKIRTINGŲ KLASIŲ ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS IR VISO GENOMO SEKŲ YPATUMAI</b><br>Dainius Uljanovas, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas   |
|                                  | 17:40 – 19:00             | <b>STENDINIŲ PRANEŠIMŲ SESIJA</b>   |
| 19:30                            | <b>ŠVENTINĖ VAKARIENĖ</b> |   |

## II dienos programa

|                                |               |  |
|--------------------------------|---------------|--|
| BALANDŽIO 29 D. (PENKTADIENIS) | 9:00 – 10:45  | <b>VIRUSŲ BIOLOGIJA (moderatorius Rimantas Daugelavičius)</b>  |
|                                | 9:00 – 9:20   | <b>STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF VIRAL ENVELOPE PROTEINS</b><br>Ieva Vasiliauskaitė-Brooks, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas                     |
|                                | 9:20 – 9:40   | <b>DIVERSITY OF THERMOPHILIC BACTERIOPHAGES FROM COMPOST HEAPS</b><br>Eugenijus Šimoliūnas, Vilniaus universitetas                                       |
|                                | 9:40 – 10:00  | <b>SARS-CoV-2 VIRUSAI AUDINIŲ FERMOSE IR JŲ GENOTIPAI LIETUVOJE</b><br>Algimantas Paulauskas, Vytauto Didžiojo universitetas                             |
|                                | 10:00 – 10:15 | <b>THE UNEXPECTED DIVERSITY AMONG SACCHAROMYCETALES KILLER YEASTS</b><br>Kristupas Paulius, Vilniaus universitetas                                       |
|                                | 10:15 – 10:30 | <b>DIVERSITY OF BACTERIOPHAGES FROM SULFATE-TYPE GYPSUM KARST LAKE ECOSYSTEM</b><br>Monika Šimoliūnienė, Vilniaus universitetas                          |
|                                | 10:30 – 10:45 | <b>KĄ APIE LIETUVOJE PLITUSI SARS-CoV-2 VIRUSĄ ATSKLEIDĖ VISO GENOMO SEKOSKAITOS TYRIMAI?</b><br>Lukas Žemaitis, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas |
|                                | 10:45 – 11:15 | <b>KAVOS PERTRAUKA</b>   |
|                                | 11:15 – 12:30 | <b>MIKROBIOTECHNOLOGIJA (moderatorė Eglė Lastauskienė)</b>   |
|                                | 11:15 – 11:35 | <b>BIOKATALIZATORIAI NUKLEOZIDŲ IR NUKLEOTIDŲ SINTEZEI</b><br>Rolandas Meškys, Vilniaus universitetas  |
|                                | 11:35 – 11:55 | <b>DEFENCE, INHIBITION, AND APPLICATION OF TYPE I CRISPR-CAS SYSTEM</b><br>Tomas Šinkūnas, Vilniaus universitetas  |
|                                | 11:55 – 12:15 | <b>UNLOCKING THE POTENTIAL OF INDOLE: TO DYE OR NOT TO DYE</b><br>Mikas Sadauskas, Vilniaus universitetas  |
|                                | 12:15 – 12:45 | <b>3M™ PETRIFILM™ PLATES - THE SUSTAINABLE WAY TO RELIABLE AND RAPID RESULTS</b><br>Elie Järnmark, Labema  |
|                                | 12:45 – 13:00 | <b>LIPOLYTIC ENZYMES FROM <i>GEOBACILLUS</i>: ENGINEERING, IMPROVEMENT, APPLICATION</b><br>Vilius Malūnavičius, Vilniaus universitetas                   |
|                                | 13:00 – 13:10 | <b>KONFERENCIJOS UŽDARYMAS</b>   |

**Žodiniai pranešimai**

---

**Oral presentations**

## BENCH-TO-BEDSIDE INFECTIOUS DISEASES TRANSLATIONAL RESEARCH AGAINST MULTIDRUG RESISTANT PATHOGENS: EVERY STEP MATTERS

Vidmantas Petraitis

Transplantation-Oncology Infectious Diseases Program Division of Infectious Diseases, Weill Cornell  
Medicine of Cornell University, USA  
[vip2007@med.cornell.edu](mailto:vip2007@med.cornell.edu)

Infectious diseases are important causes of morbidity and mortality in immunocompromised patients. Rising antimicrobial resistance among pathogenic bacteria and fungi results in loss of available antimicrobials. Therefore, novel strategies are needed to develop a new therapeutics targeting emerging multidrug-resistant pathogens.

Pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa* is a life-threatening infection with rapid progression and high mortality rates. Instinctive and acquired resistance determinants in *P. aeruginosa* results in limited treatment responses to the broad-spectrum  $\beta$ -lactams or anti-pseudomonal drugs. Ceftolozane/tazobactam (C/T) is a novel cephalosporin with *in vitro* activity against the majority of resistant *P. aeruginosa* isolates. In order to assess the antimicrobial effect of C/T, we investigated C/T in the treatment of *P. aeruginosa* pneumonia in persistently neutropenic rabbits infected by strains with genetically defined mechanisms of resistance (OprD porin loss (OPRDPL), efflux pump expression (EPE), AmpC hyperexpression (ACHE) in comparison to ceftazidime (CAZ), piperacillin/tazobactam (TZP). C/T is highly active in treatment of experimental pneumonia in persistently neutropenic rabbits caused by *P. aeruginosa* harboring major resistance mechanisms. Treatment with C/T resulted in  $\geq 10^5$  reduction in residual pulmonary and BAL bacterial burden caused by all 4 strains ( $p \leq 0.01$ ). This efficacy coincided with reduction of lung weight ( $p < 0.05$ ). CAZ was less active in ACHE-infected rabbits, TZP had less activity against EPE, ACHE, and OPRDPL strains. Survival was prolonged in C/T and CAZ-treatment groups vs to TZP and UC ( $p < 0.001$ ).

Invasive pulmonary aspergillosis (IPA) is a life-threatening fungal infection particularly in patients with severe and prolonged neutropenia. We investigated the *in vitro* activity and *in vivo* efficacy of ibrexafungerp, an inhibitor of (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan (BDG) biosynthesis in combination with isavuconazole ergosterol biosynthesis inhibitor for treatment of IPA in persistently neutropenic rabbits. The combination of ibrexafungerp+isavuconazole demonstrated *in vitro* synergistic interaction. There was significant *in vivo* reduction of residual fungal burden, lung weights, pulmonary infarct scores, serum GMI and BDG levels, and prolonged survival in combination treatment groups vs single agent therapy and UC ( $p < 0.01$ ). These findings provide an experimental foundation for clinical evaluation of the combination of ibrexafungerp and an anti-mould triazole for treatment of IPA.

Nosocomial infections as well as COVID-19 could be successfully transmitted via aerosols contaminated surfaces. Therefore, new approaches are needed to ensure the environmental decontamination. Focused multivector ultraviolet (FMUV) light system showed superior performance to chemical disinfection in hospital environment of various pathogens. Furthermore, FMUV significantly reduced the viral burden of patient-derived SARS-CoV-2 *in vitro* in exposure-dependent manner. The germicidal activity of FMUV resulted in a mean 4-log reduction (99.9954%) of PFUs/carrier within 30 sec, 5-log (99.9994%) in 45 sec, and  $\geq 6$ -log ( $\geq 99.9999\%$ ) in 90 sec ( $p < 0.01$ ). The result supported the effectiveness of the FMUV technology for SARS-CoV-2 disinfection.

# CELL VIABILITY ASSESSMENT IN *C. ALBICANS* BIOFILMS BY LASER SPECKLE CONTRAST IMAGING FOLLOWING PROTOPORPHYRIN IX SONOSENSITIZATION

Mindaugas Tamošiūnas, Simona Vaitkienė, Greta Rupšytė, Neringa Mikštaitė, Neringa Kuliešienė, Rimantas Daugelavičius

Department of Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, Vytautas Magnus University, Vileikos 8, Kaunas LT-44404, Lithuania  
[mindaugas.tamosiunas@vdu.lt](mailto:mindaugas.tamosiunas@vdu.lt)

Few fungal species, including *Candida* clade, are capable of forming biofilms within a human host. *C. albicans* biofilms can spread through intestinal mucosa, reproductive tract, mouth cavity, skin. As more favorable sites, they can colonize prosthetic biomaterials, such as heart valves, dental implants and prosthetic joints [1]. *C. albicans* is the predominant fungus identified on the medical equipment surfaces inserted into human body: pacemakers, hemodialysis grafts and various catheters [2]. Once formed, further dissemination of fungal cells can occur via the bloodstream and lead to development of sepsis. For up to 35% of hospitalized patients, the hematogenous dissemination of *C. albicans* infection is lethal [3].

In this study, the antibiofilm strategy used was to repurpose the well-known drug protoporphyrin IX (PpIX) to improve its action against *C. albicans* biofilm in combination with ultrasounds treatment. We have tested continuous therapeutic ultrasounds at 880kHz with 5W/cm<sup>2</sup> output power, which had been certified for use on humans [4]. Likewise, aminolevulinic acid induced PpIX has been certified for use in human cancer patients in Europe, Japan and USA [5].

The potential of laser speckle contrast imaging (LSCI) to evaluate sonosensitization induced cytotoxicity was examined due to the lack of a quick and non-invasive methods to detect the viability suppression of biofilm-forming microorganisms at the macro scale. The LSCI experimental setup and the estimation principle of speckle contrast are described in [6]. In this study, we investigated the correlation between speckle contrast parameter measured immediately after *C. albicans* sonosensitization and the metabolic activity of the cells, evaluated by the viability indicator MTT.

For *in vitro* biofilm formation we used a colony of *C. albicans* clinical isolate 11017 obtained from a patient's ascitic fluid at the Republican Hospital in Panevėžys (Lithuania). The cells were transferred into 20 ml of liquid yeast extract peptone dextrose (YPD) medium, incubated for 18 h at 37 °C with shaking, then pelleted at 3000 rpm, 18 °C, 10 min., resuspended in PBS, and pelleted the second time at the same conditions. Then the cell suspension was transferred to the sterile tissue culture dish with 2 ml of modified RPMI-1640 medium, supplemented with 2% glucose and L-glutamine, without sodium bicarbonate, but containing 0.165 M 4-morpholinepropanesulfonic acid (MOPS) added and buffered to pH 7.0. To allow the biofilm formation, the cells were incubated in thermostat at 37 °C for 24 h. After incubation, the supernatant was carefully aspirated and the non-adhered cells were washed twice with 1 ml of sterile PBS, trying not to damage the biofilm.

The produced mature biofilm was visualized using a light microscope, viable and hyphae-forming *C. albicans* cells were observed. Optical coherence tomography (sd-OCT, Telesto II, Thorlabs, USA) additionally revealed the mesoscale structure of biofilm, highlighting tens of micron sized pores and larger voids in the extracellular matrix.

Targeting the biofilm with ultrasounds application alone (microstreamings, acoustic jets and cavitation) led to the mechanical disruption of biofilm matrix and the appearance of planktonic cells. In the presence of sensitizing drug PpIX, the *C. albicans* biofilms possessed significantly lower tolerance to ultrasounds application. Although the exact mechanism of sonosensitization is still being discussed, our research provided the evidence against the singlet oxygen generation, which was validated using a singlet oxygen sensor green reagent (Promega Corp., USA). Alternatively, the hydroxyl, peroxy, alkoxy and porphyrin radicals can be produced in the presence of PpIX, starting with 0.6 - 1.5 W/cm<sup>2</sup> ultrasounds output power [7].

As demonstrated by the MTT test, the viability of cells in *C. albicans* biofilms was reduced as a result of sonosensitization with PpIX and also due to the prolonged ultrasonic exposure duration. The decrease in laser speckle contrast values correlated with a decrease of viable cell number in *C. albicans*



biofilms, and the speckle contrast values increased when the viability was restored within 24 hours after the treatment ( $R^2=0.96$ ).

Although sonosensitization was unable to remove *C. albicans* biofilms entirely, our results suggest that the speckle contrast parameter indicates the impairments of *C. albicans* biofilm structure and the decrease in fungal cell viability. Therefore, the LSCi method is proposed as a quick and non-contact way to estimate the *C. albicans* cell to the treatment at the macro scale. We also illustrate how speckle statistics may be integrated into the content of multimodal diagnostics by combining fluorescence spectroscopy/fluorescence imaging as an additional information on biofilm and planktonic cell death.

- 
- [1] Kojic, E. M., & Darouiche, R. O. (2004). Candida infections of medical devices. *Clinical microbiology reviews*, 17(2), 255–267.
- [2] Escolà-Vergé, L., Rodríguez-Pardo, D., Corona, P. S., & Pigrau, C. (2021). Candida Periprosthetic Joint Infection: Is It Curable? *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 10(4), 458.
- [3] Horn, D. L., Neofytos, D., Anaissie, E. J., Fishman, J. A., Steinbach, W. J., Olyaei, A. J., Marr, K. A., Pfaller, M. A., Chang, C. H., & Webster, K. M. (2009). Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 48(12), 1695–1703.
- [4] Miller, D. L., Smith, N. B., Bailey, M. R., Czarnota, G. J., Hynynen, K., Makin, I. R., & Bioeffects Committee of the American Institute of Ultrasound in Medicine (2012). Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine*, 31(4), 623–634.
- [5] Hadjipanayis, C. G., & Stummer, W. (2019). 5-ALA and FDA approval for glioma surgery. *Journal of neuro-oncology*, 141(3), 479–486.
- [6] Tamošiūnas M., Vaitkienė S., Mikštaitė, N., Galalytė, D., Kuliešienė, N., Cugmas, B., Lihachev, A., & Daugelavičius R. (2020). Assessment of *Candida albicans* biofilm growth by laser speckle contrast imaging, *Proc. SPIE 11585, Biophotonics—Riga 2020*, 1158509.
- [7] Xu, H., Sun, X., Yao, J., Zhang, J., Zhang, Y., Chen, H., Dan, J., Tian, Z., & Tian, Y. (2015). The decomposition of protoporphyrin IX by ultrasound is dependent on the generation of hydroxyl radicals. *Ultrasonics sonochemistry*, 27, 623–630.

# ATSPARUMO ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS GENŲ PERDAVIMAS PER MOBILIUS GENETINIUS ELEMENTUS *CAMPYLOBACTER JEJUNI* PADERMĖSE

Jurgita Aksomaitienė<sup>1</sup>, Aleksandr Novoslavskij<sup>1</sup>, Mindaugas Malakauskas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Maisto saugos ir kokybės katedra, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Lietuva  
[jurgita.aksomaitiene@ismuni.lt](mailto:jurgita.aksomaitiene@ismuni.lt)

Antimikrobinėms medžiagoms atsparių mikroorganizmų atsiradimas ir paplitimas yra labai svarbi visuomenės sveikatos problema ir viena didžiausių šių dienų grėsmių žmonijos sveikatai. Bakterijos atsparumą antimikrobinėms medžiagoms (AMM) gali įgyti keliais būdais ir vienas jų, per atsparumą koduojančius genus, kuriuos perneša įvairūs mobilūs genetiniai elementai (MGE). Horizontalus genų perdavimas per mobilius genetinius elementus, leidžia bakterijoms keistis genetinė informacija radikaliai keičiant genomo struktūrą ir taip bakterijos įgyja atsparumą AMM.

Šio tyrimo tikslas buvo nustatyti AMM koduojančius genus, kuriuos perneša mobilieji genetiniai elementai, bei jų sąsajas su fenotipiniu atsparumu iš skirtingų šaltinių išskirtose *Campylobacter jejuni* padermėse.

Iš viso buvo ištirta 30 *C. jejuni* bakterijų padermių, kurioms buvo įvertintas fenotipinis atsparumas eritromicinui, tetraciklinui, gentamicinui, ciprofloksacinui ir ceftriaksonui. *C. jejuni* genomai buvo sekvenuojami Illumina MiSeq platformoje naudojant 250 bp suporuotų galų skaitymų ciklus. Trimmomatic programinis įrankis (Galaxy platforma) buvo naudojamas sekoskaitos adapterių ir neapdorotų skaitinių kokybei pagerinti. *De novo* genomo surinkimui naudota SPAdes Galaxy 3.15.3 versija. Surinkimo kokybė buvo įvertinta naudojant QUAST Galaxy 5.0.2 programos versiją.

Tyrimo metu *C. jejuni* padermėse buvo nustatyti MGE, įskaitant plazmides, genomines salas (GS) bei bakteriofagus. Dauguma AMM koduojančių genų ir virulentiškumo veiksnių buvo nustatyti genominių salų regionuose. Nustatytas didelis kiekis genetinių, su atsparumu susijusių faktorių, bei skirtingas GS skaičius visose, su dauginiu atsparumu susijusiuose *C. jejuni* padermių genomuose. Didžiausia GS (58,83 kb) su integruotais *tetO*, *trg*, *virB2*, *pinR*, *ansZ* genais buvo aptikta CCM<sub>36</sub> padermės genome, kuriai buvo nustatytas dauginis atsparumas su itin aukštomis MSK reikšmėmis.

# THE IMPACT OF INTENSIVE FISH FARMING ON THE RESISTOME OF POND SEDIMENT AND FISH GUT MICROBIOTA

Julija Armalytė<sup>1</sup>, Radvilė Drevinskaitė<sup>1</sup>, Karolina Sabaitė<sup>1</sup>, Karina Kasperovičiūtė<sup>1</sup>, Vaidotas Valskys<sup>1</sup>, Modestas Ružauskas<sup>2</sup>, Eglė Lastauskienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biosciences, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Institute of Microbiology and Virology, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania  
[julija.armalyte@gf.vu.lt](mailto:julija.armalyte@gf.vu.lt)

Aquaculture is a fast-growing animal food sector, and freshwater fish farming is particularly common in Central and Eastern Europe. As the biodiversity of fishery ponds is changed towards fulfilling the industrial needs, precautions should be taken to keep the system sustainable and protect the adjacent environment from possible damage. Due to risk of infectious diseases, antibiotics are used in aquaculture production systems. The constant exposure to antimicrobials can contribute to the rise of antibiotic resistance in aquaculture products and the adjacent ecosystems, with possibility of dissemination to the wider environment as well as between animals and humans. Even though previous studies have found antibiotic resistance genes in the sediments and water of farming ponds, the tendency and direction of spreading is not clear yet.

The objective of this project is to evaluate the influence of intensive fish farming on the water bodies used for the aquaculture and in the surrounding environment, concentrating on the possibility of spread of clinically important antibiotic resistance genes (ARGs). The comparison of ARGs composition in the sediments of the fishery ponds (and the water bodies both upstream and downstream) as well as fish gut contents could show the impact of the aquaculture on the surrounding water ecosystems as well as the possibility of transferring the antibiotic resistance genes to the human hosts.

Our results show, that ARGs were detected in all the sediment samples, including the samples taken from the lake upstream from the fishery ponds. The spread of ARGs in the sediment samples was comparable in all water bodies tested, indicating the ARGs detected likely belong to bacteria naturally inhabiting the sediments. However, when the contents of fish gut were tested for ARGs content, a tendency of higher ARGs numbers was observed in the samples from the fishery ponds and the lake downstream. This indicates that the treatment of the fish in the fishery ponds could influence the microbiota of the fish gut and could cause its shift towards higher antibiotic resistance.

# PROBIOTICS AND POSTBIOTICS FOR GUT MICROBIAL MODULATION

Eric Banan-Mwine Daliri, Toma Balnionyte, Ashwinipriyadarshini Megur, Aurelijus Burokas

Department of Biological Models, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania  
[eric.daliri@gmc.vu.lt](mailto:eric.daliri@gmc.vu.lt)

Recent studies have shown that the gut microbiota plays key roles in health and there is evidence that gut dysbiosis is associated with many chronic diseases. For this reason, the search for probiotics and postbiotics that can modulate the gut microbiota and promote health has increased over the years.

In our study, we isolated 40 lactic acid bacteria (LAB) from soybean and tested their ability to survive simulated gastrointestinal conditions. Seven LAB survived the gastrointestinal conditions tested. They were therefore tested for antibiotic susceptibility, mucinase and gelatinase activities and toxin production. Using 16S rRNA analysis, the 7 bacteria were determined to be *Weissella cibaria* SCCB2306, *Pediococcus acidilactici* SDL1406, *P. acidilactici* SDL1405, *Lactobacillus rhamnosus* JDFM6, *P. acidilactici* SDL1402, *Enterococcus faecium* SC54, and *Streptococcus thermophilus* SCML337.

The bacteria were further tested for their antimicrobial ability and cholesterol lowering abilities. Though all the bacteria showed cholesterol reducing abilities, *W. cibaria* SCCB2306, *P. acidilactici* SDL1402, *P. acidilactici* SDL1406, and *L. rhamnosus* JDFM6 reduced the most cholesterol in liquid media by  $78 \pm 3\%$ ,  $72 \pm 3\%$ ,  $76 \pm 3\%$  and  $79 \pm 2\%$ , respectively. As the cholesterol levels in the media reduced, cell membrane lipids of *P. acidilactici* SDL1402, *P. acidilactici* SDL1406, and *L. rhamnosus* JDFM6 increased significantly, indicating that cholesterol was incorporated into the bacteria cell membranes. The 4 LAB showed strong gut-colonization ability and reduced dietary cholesterol in *Caenorhabditis elegans*.

Selected probiotic candidates were used to ferment beetroot juice to generate a postbiotic product with potential antidiabetic properties. Some of the postbiotics demonstrated strong  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and DPP4 inhibitory effects. Future studies will investigate the ability of the postbiotics to reduce biomarkers of diabetes and modulate the gut microbiota.

# SIDABRO NANODALELIŲ IR ELEKTROPORACIJOS POVEIKIS *CANDIDA* GENTIES MIELĖMS

Kotryna Čekuolytė<sup>1</sup>, Estera Žemgulytė<sup>1</sup>, Renata Gudiukaitė<sup>1</sup>, Vitalij Novickij<sup>2,3</sup>, Andrius Maneikis<sup>4</sup>, Robertas Galinis<sup>5</sup>, Gediminas Galinis<sup>5</sup>, Eglė Lastauskienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gyvybės Mokslų Centras, Biomokslų institutas, Vilniaus universitetas, Lietuva

<sup>2</sup>Stipriųjų magnetinių laukų institutas, Vilniaus Gedimino Technikos universitetas, Lietuva

<sup>3</sup>Elektros inžinerijos katedra, Vilniaus Gedimino Technikos universitetas, Lietuva

<sup>4</sup>Elektronikos fakultetas, Vilniaus Gedimino Technikos universitetas, Lietuva

<sup>5</sup>Pro for nano, UAB, Vilnius, Lietuva

[kotryna.cekulyte@gmc.vu.lt](mailto:kotryna.cekulyte@gmc.vu.lt)

Didėjantis mieliagybių sukeltų odos ligų skaičius ir atsparumas priešgrybeliniams vaistams yra pagrindinės problemos, skatinančios mokslininkus ieškoti naujų priešgrybelinių medžiagų. Sidabro priešmikrobinis poveikis yra žinomas nuo seno, todėl šiuo metu priešmikrobinės sidabro nanodalelių (AgND) savybės sulaukia daug dėmesio. AgND gali būti gaunamos taikant cheminius ir fizikinius metodus, tačiau biologinė šios nanomedžiagos sintezė yra draugiškesnė aplinkai. Kad AgND būtų galima panaudoti medicinoje, reikia sumažinti jų toksiškumą žmonėms jas modifikuojant arba taikant sinergistiškai su kitomis priešmikrobinėmis terapijomis. Vienas iš būdų, kaip galima sumažinti AgND toksiškumą, yra jų taikymas kartu su elektroporacija.

Šiame darbe palyginamos komercinių ir *Geobacillus* sp. 18, 25, 95 ir 612 bakterijų kamienų indukuotos sintezės būdu gautų AgND priešmikrobinis poveikis oportunistinėm patogeninėm *Candida lusitanae* ir *C. guilliermondii* mielėms ir *C. lusitanae* pseudohifinei formai. MIK nustatymui buvo panaudotas lašelių metodas. Rezultatai rodo, jog komercinių AgND MIK yra mažesni, nei *Geobacillus* sp. AgND. Be to, abiejų tipų AgND MIK *C. guilliermondii* mielėms buvo mažesnės, lyginant su *C. lusitanae* mielių ir pseudohifine forma. Taip pat buvo įvertintas abiejų tipų AgND ir elektroporacijos sinergistinis poveikis (elektroporacijos parametrai: vienas 100 μs impulsas; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15 kV/cm elektros laukas).

Gauti rezultatai rodo, jog tyrime naudotos AgND pasižymi priešmikrobinėmis savybėmis *Candida* genties mielėms. Be to, AgND ir elektroporacija, taikomos kartu, pasižymi sinergistiniu poveikiu, leidžiančiu sumažinti taikomą AgND koncentraciją.

# MIKROORGANIZMAI IR LIETUVOS PAJŪRIO REKREACINIŲ VANDENŲ KOKYBĖ

Marija Kataržytė<sup>1</sup>, Diana Vaičiūtė<sup>1</sup>, Donata Overlingė<sup>1</sup>, Greta Gyraitė<sup>1</sup>, Greta Kalvaitienė<sup>1</sup>, Eglė Jonikaitė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jūros tyrimų institutas, Klaipėdos Universitetas, Lietuva  
[marija.katarzyte@jmtc.ku.lt](mailto:marija.katarzyte@jmtc.ku.lt)

Baltijos pajūrio (BJ) paplūdimiai ir maudyklos yra vieni iš labiausiai lankytinų vietų vasaros laikotarpiu. Pastaruoju metu didėja susirūpinimas dėl pavojaus žmonių sveikatai, kurį gali sukelti natūraliai vandenyje esantys patogeniniai mikroorganizmai, bei fekalinė tarša. Nepaisant pagerintos nuotėkų infrastruktūros, eutrofinėse BJ įlankose ir lagūnose, vis dar stebimi fekalinės taršos epizodai. Dėl prognozuojamos klimato kaitos regione taip pat didėja tikimybė užsikrėsti vandenyje esančiais patogenais tokiais kaip *Vibrio*, bei pastebimi dažnesni ir intensyvesni melsvabakterių sukelti vandens žydėjimai.

Darbe apžvelgiame tyrimus atliktus nuo 2014 metų iki dabar Lietuvos pajūrio vandenyse. Kuršių marios, viena didžiausių Europos lagūnų, yra stipriai eutrofikotos ir turtingos skendinčių medžiagų, ir sudaro palankias sąlygas išgyventi su fekaline tarša susijusiems mikroorganizmams. Mūsų vertinimu fekalinė tarša mariose labiau susijusi su paukščių kilmės nei su žmogaus kilmės tarša.

Lietuvos priekrantės vandenyse susirūpinimą kelia ir natūraliai esantys mikroorganizmai. Rekreatiniu periodu BJ pakrantėje aptinkama toksinus gaminanti melsvabakterė *Nodularia spumigena*. Remiantis *in situ* tyrimais ir palydoviniais duomenimis (Sentinel-2/3), akivaizdu, kad vandens masės su melsvabakterėmis ir jų toksiniais iš Kuršių marių gali patekti į BJ paplūdimius. 2017 metais pajūryje pirmą kartą nustatytos ir potencialiai patogeninės *Vibrio vulnificus* ir *Vibrio cholerae* bakterijos. Laikotarpiais, kai oficialiai stebimi fekalinės taršos rodikliai neviršija ribinių verčių, stebimi reikšmingai dideli melsvadumblių ar *Vibrio* bakterijų kiekiai, ypač Kuršių mariose. Siekiant apsaugoti poilsiautojų sveikatą, į maudyklų vandens monitoringo programas rekomenduojame įtraukti ir šių mikroorganizmų stebėseną.

Šiuo metu pagal įgyvendinamą projektą BaltVib („BiodivERsA“ programa „BiodivClim ERA-Net COFUND“ finansuojama Lietuvos mokslo tarybos, sutarties Nr. S-BIODIVERSA-21-1) kartu su tarptautiniais projekto partneriais ieškome gamta paremtų sprendimų, tokių kaip ekosistemų inžinierių (midijų ar makrofitų) taikymas, siekiant sumažinti potencialiai patogeniškų *Vibrio* gausumą.

## **BARTONELLA SPP. IN LITHUANIA**

Jana Radzijeuskaja<sup>1</sup>, Miglė Razgūnaitė<sup>1</sup>, Dalytė Mardosaitė-Busaitienė<sup>1</sup>, Indrė Lipatova<sup>1</sup>, Birutė Karvelienė<sup>2</sup>, Algimantas Paulauskas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Natural Sciences, Vytautas Magnus University, Lithuania

<sup>2</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Lithuanian University of Health Sciences, Lithuania

[jana.radzijeuskaja@vdu.lt](mailto:jana.radzijeuskaja@vdu.lt)

Bartonellae are facultative intracellular, fastidious, gram-negative bacteria that are transmitted to humans and other mammals by bloodsucking arthropod vectors such as fleas, mites, sand fleas and ticks. Currently, 45 official and candidate *Bartonella* species have been detected in vertebrates, and at least fifteen of them have been related to human diseases. Rodents are potential reservoirs for many *Bartonella* infections. Cats are considered the main reservoir of zoonotic *Bartonella* species which can cause cat scratch disease (CSD) and endocarditis in humans. There is limited information about *Bartonella* infections in humans in Lithuania. To date, two cases of CSD (CSD-associated encephalopathy and cat-scratch neuroretinitis) in Lithuania have been described in the literature. In Lithuania, the presence and genetic diversity of *Bartonella* spp. were analyzed in different wild animal species, domestic cats and bloodsucking arthropods. Rodents and their ectoparasites (fleas, ticks and mites) in Lithuania harbor multiple *Bartonella* species belonging to seven genogroups, including human pathogenic *B. grahamii*, *B. rochalimae*, *B. tribocorum*, and *B. washoensis*. Two causative agents of cat-scratch disease, *B. henselae* and *B. clarridgeiae* were identified in the cats and cat fleas.

# VIABILITY OF *BACILLUS* SPECIES IN THE BIOLOGICAL SELF-HEALING CONCRETE WITH DIFFERENT CEMENT TYPES

Augusta Ivaškė<sup>1,2</sup>, Ronaldas Jakubovskis<sup>2</sup>, Jurgita Malaiškienė<sup>3</sup>, Jaunius Urbonavičius<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry and Bioengineering, Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Laboratory of Innovative Building Structures, Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lithuania

<sup>3</sup>Laboratory of Composite Materials, Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lithuania

[augusta.ivaske@vilniustech.lt](mailto:augusta.ivaske@vilniustech.lt)

Concrete is the most widely used building material in the world. However, one of its drawbacks is the inevitable opening of the cracks. Due to the ability of some bacteria to precipitate calcium carbonate, the cracks in the concrete can be healed. The biggest challenge in developing self-healing concrete is to ensure the viability of bacteria spores. Bacteria must survive harsh conditions, such as high pH values of early age concrete and mechanical stress during hardening of concrete. The viability of bacteria decreases drastically within several days after their incorporation into the biological concrete matrix. In this study, the influence of the type and composition of cement on the viability of *Bacillus* strains was investigated.

Of the five types of cement tested, the best long-term viability of *Bacillus pseudofirmus* was obtained in a concrete mix using white CEM-I cement. The pH of all cement types studied was slightly different and fell into the range of 12.4 to 12.8. This indicates that pH does not significantly affect the viability of bacteria in the concrete matrix. Studying of the chemical composition of different types of cement showed that it contains metal oxides with antimicrobial properties. Those metal oxides are Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; TiO<sub>2</sub>, MgO, ZnO and CuO. The determined MIC values showed that Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MgO and TiO<sub>2</sub> are nontoxic for strains of *Bacillus pseudofirmus*, *Bacillus cohnii* and *Bacillus halodurans*. The MIC values of ZnO and CuO varied between 12.5 and 25 µg/ml, and between 1500 and 2000 µg/ml, respectively [1]. ZnO was found to be the most toxic metal oxide and causes the death of bacteria in biological concrete. White CEM-I concrete does not contain CuO and ZnO metal oxides, making it the most suitable one for the production of self-healing concrete.

---

[1] Jakubovskis, R., Ivaškė, A., Malaiškienė, J., Urbonavičius, J. (2022). Impact of Portland cement type on bacterial viability in biological concrete. *Cement and Concrete Composites*, 127(17), 104413. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2022.104413>



# GALVIJUS INFEKUOJANČIŲ *SARCOCYSTIS* PARAZITŲ PAPLITIMAS IR ĮVAIROVĖ LIETUVOJE

Agnė Baranauskaitė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gamtos tyrimų centras, Vilnius, Lietuva  
[agne.baranauskaite@gamtc.lt](mailto:agne.baranauskaite@gamtc.lt)

*Sarcocystis* parazitai – gyvulius ir žmones infekuojantys vienaląsčiai mikroorganizmai, kuriems būdingas dviejų šeimininkų gyvybinis ciklas. Tarpinis šeimininkas sporocistomis užsikrečia per vandenį arba maistą, o galutinis šeimininkas – praryjant raumeninį audinį su subrendusiomis sarkocistomis. Lietuvoje galvijus infekuojantys *Sarcocystis* parazitai iki šiol daugiausia tirti morfologiniais metodais, analizuojant skerdenos mėginius. Šio darbo tikslas buvo optimizuoti galvijus infekuojančių *Sarcocystis* parazitų molekulinis identifikavimo metodus iš skerdenos ir aplinkos mėginių.

Skerdenos tyrimams naudoti galvijų diafragmos raumens mėginiai. Buvo sukurti *cox1* genui specifiniai ir tiesioginei PGR tinkantys pradmenys keturioms galvijus infekuojančioms *Sarcocystis* rūšims: *S. bovifelis*, *S. cruzi*, *S. hirsuta* ir *S. hominis*. Ištyrus 102 mėginius, nustatyta, jog *Sarcocystis* infekcijos paplitimas Lietuvoje auginamuose galvijuose 100%: *S. cruzi* (96,1%), *S. bovifelis* (71,6%), *S. hirsuta* (30,4%), *S. hominis* (13,7%).

Aplinkos mėginių tyrimams vanduo buvo renkamas iš įvairių telkinių visoje Lietuvos teritorijoje. Mėginiai sukonzentruojami filtravimo būdu. Parinktas optimalus molekulinio identifikavimo metodas – lizdinė PGR, naudojant keturis skirtingus rūšiai specifinius pradmenis, žymeniu naudojant *cox1* koduojančio geno seką. Ištyrus 150 vandens mėginių, nustatyta, kad galvijus infekuojančių *Sarcocystis* sp. paplitimas Lietuvos vandens telkiniuose 100 %: *S. cruzi* (98,7 %), *S. bovifelis* (52,7 %), *S. hirsuta* (2,0%). *S. hominis* vandens mėginiuose aptikti nepavyko.

Išanalizavus gautus duomenis, galima teigti, kad *S. cruzi* ir *S. bovifelis* paplitimas vandens telkiniuose yra artimas nustatytam skerdenos tyrimų metu. Morfologinių tyrimų metu buvo pastebėta, jog *S. hirsuta* ir *S. hominis* sarkocistų koncentracija galvijų skerdenoje mažesnė palyginus su *S. cruzi* ar *S. bovifelis*, dėl to į aplinką yra išskiriama gerokai mažiau sporocistų, todėl jų aptikimas vandens telkiniuose yra sudėtingesnis.

# **W/O/W DOUBLE EMULSION-LOADED ALGINATE CAPSULES CONTAINING *LACTOBACILLUS PLANTARUM* AND LIPOPHILIC SEA BUCKTHORN (*HIPPOPHAE RHAMNOIDES* L.) POMACE EXTRACT IN DIFFERENT PHASES**

Aušra Šipailienė, Greta Šlimaitė, Sigita Jeznienė, Petras Rimantas Venskutonis, Daiva Leskauskaitė

Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology, Lithuania  
[ausra.sipailiene@ktu.lt](mailto:ausra.sipailiene@ktu.lt)

Good survivability and functionality of probiotics in products is not an easy task, because they are sensitive to various treatments, storage temperature, presence of some food additives or other antimicrobials. Probiotics can be protected from environmental stresses by shielding them using carefully-designed microencapsulation strategies.

The general objective of this study was to develop alginate capsules loaded with probiotics pre-encapsulated in the inner water phase of a W/O/W emulsion containing lipophilic sea buckthorn pomace (SBP) extract as antioxidant. We aimed to prove the relevance of such an encapsulation strategy to ensure probiotic bacteria survivability during production, and their controlled release during in vitro digestion.

The storage stability of pre-encapsulated *L. plantarum* F1 cells in double emulsions was determined for 42 days at 37 °C, and the effect of prebiotics (mannitol and trehalose) on the viability of the cells was analysed. Peroxide values (PV) of the double emulsion with lipophilic sea pomace extract were determined according to the AOAC method. Samples of double emulsion and alginate capsules from double emulsion were subjected to simulated in vitro gastrointestinal conditions to study the viability and release of tested microorganism.

In this study, double emulsion containing *L. plantarum* F1 cells and prebiotic mannitol in the inner water phase, lipophilic SBP extract as an antioxidant in the oil phase, and alginate in the outer water phase showed high encapsulation yield (82.19%), good cell survival rate (76.99%) and low chemical degradation of the oil (peroxide value - 3.8 meq O<sub>2</sub>/kg fat) after 42 days of storage. Gelation of the outer water phase enhanced the viability of *L. plantarum* F1 cells both during 30-day storage period and under gastrointestinal conditions due to strong physical barrier formation. In vitro digestion of the loaded alginate capsules showed high survival rate of encapsulated cells under gastric conditions and significant reduction at the end of the duodenal phase of digestion.

# **ESCHERICHIA COLI PAPLITIMAS IR ATSPARUMAS ANTIBIOTIKAMS LIETUVIŠKOJE IR LENKIŠKOJE VIŠČIUKŲ BROILERIŲ MĖSOJE**

Sigita Ramonaitė<sup>1</sup>, Ugnė Trapienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Maisto saugos ir kokybės katedra, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Lietuva  
[sigita.ramonaite@ismuni.lt](mailto:sigita.ramonaite@ismuni.lt)

Europa yra viena iš didžiausių paukštienos gamintojų ir eksportuotojų pasaulyje, kasmet pagaminanti apie 13,4 milijonus tonų paukštienos produkcijos. Viščiukų broilerių mėsa gali būti mikrobiologiškai užteršta nuo pat jų laikymo pradžios, jeigu nebuvo laikomasi griežtų higienos sąlygų. Tokios bakterijos kaip *Escherichia coli* yra natūraliai randamos visų gyvūnų, įskaitant ir broilerius, virškinamajame trakte, tačiau jos gali būti ir patogeninės. Europos sąjungoje didžiausia paukštienos gamintoja yra Lenkija. Patogeninių *E. coli* išskiriami toksinai sukelia sunkius susirgimus, o Pasaulinės sveikatos organizacijos (WHO) teigimu, viščiukų broilerių mėsa yra viena iš dažniausių *E. coli* bakterijomis užkrėstų produktų.

Šio darbo tikslas buvo ištirti lietuviškos ir lenkiškos viščiukų broilerių mėsos užkrėtimą *E. coli* bakterijomis ir įvertinti jų atsparumą antibiotikams. Iš viso ištirtas 91 mėginys *E. coli* atžvilgiu naudojant triptono tulžies-X-gliukuronido terpe (TBX). Tolimesniems tyrimams buvo atrinkos 66 *E. coli* padermės ir įvertintas atsparumas keturiems antibiotikams (tetraciklinui, ciprofloksacinui, gentamicinui ir ceftriaksonui) difuzijos į agarą metodu.

Nustatyta, kad 68,1 % lietuviškos ir 77,3 % lenkiškos viščiukų broilerių mėsos mėginių buvo užkrėsti *E. coli* bakterijomis. Net 74,2 % *E. coli* padermių atsparios ciprofloksacinui (iš jų 59,4 % išskirtos iš lietuviškų produktų ir 88,2 % iš lenkiškų). Gentamicinui buvo atsparios 27,3 % *E. coli* (8,8 % iš lenkiškų produktų ir 46,9 % iš lietuviškų). 37,5 % *E. coli* padermių išskirtų iš lietuviškų broilerių produktų pasižymėjo dauginiu atsparumu, o iš lenkiškų produktų 8,8 % *E. coli* padermių.

*E. coli* bakterijomis buvo užkrėsti 72,5 % visų tirtų broilerių produktų. Dauginiu atsparumu pasižymėjo 22,7 % tirtų *E. coli* padermių. Visos tirtos *E. coli* padermės buvo atsparios tetraciklinui, tačiau visos jautrios ceftriaksonui.

Didėjantis *E. coli* bakterijų atsparumas antibiotikams apsunkina užsikrėtusių pacientų gydymą.

# PRODUKTO SU ANTIGRYBINĖMIS SAVYBĖMIS SUKŪRIMAS IR JO CHARAKTERIZAVIMAS

Joana Šalomskienė<sup>1</sup>, Reda Riešutė<sup>1</sup>, Mireta Reminaitė<sup>1</sup>, Silvija Kiverytė<sup>2</sup>, Algimantas Paškevičius<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kauno technologijos universitetas, Lietuva

<sup>2</sup>Vilniaus universiteto ligoninė, Santaros klinikos, Lietuva

<sup>3</sup>Gamtos tyrimų centras, Lietuva

[joana.salomskiene@ktu.lt](mailto:joana.salomskiene@ktu.lt)

Maisto produktuose retkarčiais aptinkama patogeninių mielių. Pasikeitus žmogaus organizmo sąlygoms dėl antibiotikų vartojimo, didelio streso, chemoterapijos taikymo ar infekcijos metu, kai kurios mielių rūšys, pvz. *Candida* genties mielės, gali sukelti kandidozę ir kitas ligas.

Darbo tikslas – sukurti produktą su antigrybinėmis savybėmis, panaudojant pieno rūgšties bakterijas (PRB).

Iš KTU Maisto instituto PRB kolekcijos tyrimams buvo atrinktos 4 padermės, pasižyminčios dideliu antimikrobinio aktyvumu ir 1 pamatinė PRB padermė, taip pat 3 pamatinės mieliagybių padermės bei 16 *Candida* genties kultūrų, išskirtų iš sergančių kandidozėmis žmonių virškinamojo trakto. Nustatyta, kad *Lactobacillus plantarum* MI-LPI iš KTU Mal kolekcijos turėjo didžiausią antimikrobinį aktyvumą tirtiems mieliagybiams ir mielėms, todėl ji buvo parinkta maisto produkto gamybai.

Buvo sukurti maistiniai batonėliai su įkapsuliuotomis *L. plantarum* MI-LPI bakterijomis, ir tirtas jų ląstelių išlikimas po pagaminimo ir po 90 dienų laikymo. *L. plantarum* skaičius laikymo metu sumažėjo 0,3 log<sub>10</sub>. Siekiant nustatyti batonėlių poveikį šiltakraujams gyvūnams, buvo atlikti *in vivo* tyrimai naudojant peles. Tyrime panaudotos sveikos, suaugusios (8 savaičių amžiaus) BALB/c linijinių pelių patelės ir patinėliai. Pelės buvo suskirstytos į keturias grupes, šeriamos 7 dienas: kontrolinė grupė – įprastiniu maistu (grūdiniu mišiniu), antroji grupė – batonėliais su *Candida albicans* (10<sup>4</sup> KSV/g), trečioji grupė – batonėliais su *C. albicans* (10<sup>4</sup> KSV/g) 4 dienas, su *L. plantarum* (10<sup>9</sup> KSV/g) – 3 dienas, o ketvirtoji grupė – 7 dienas batonėliais su *L. plantarum* (10<sup>9</sup> KSV/g). Po 7 dienų buvo paimti apendikso turinio mėginiai, ir nustatytas *L. plantarum* ir *C. albicans* skaičius.

Rezultatai parodė, kad maisto matrica, praturtinta *L. plantarum* MI-LPI, efektyviai (P <0,05) sumažino *Candida* mieliagybių skaičių pelių apendikso turinyje ir uždegiminį procesą virškinimo trakte.

# **FUSARIUM GENTIES GRYBŲ POVEIKIS PIENINĖMS KARVĖMS**

Rimvydas Falkauskas<sup>1,2</sup>, Violeta Baliukonienė<sup>1</sup>, Bronius Bakutis<sup>1</sup>, Jurgita Jovaišienė<sup>1</sup>,  
Vytuolis Žilaitis<sup>3</sup>, Gintarė Vaičiulienė<sup>1</sup>, Gediminas Gerulis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Maisto saugos ir kokybės katedra, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Veterinarijos akademija,  
Lietuva

<sup>2</sup>Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas, Lietuva

<sup>3</sup>Stambųjų gyvūnų klinika, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Veterinarijos akademija, Lietuva  
[rivydas.falkauskas@ismuni.lt](mailto:rivydas.falkauskas@ismuni.lt)

Pašarų užterštumas mikotoksinais pasaulyje nustatomas nuo 30 iki 100 proc. Dažniausiai nustatomos kelios mikotoksinų rūšys vienu metu. *Fusarium* genties išskiriami mikotoksinai neigiamai veikia į daugelį organizmo sistemų.

Remiantis pašarų mikotoksinų tyrimais gautais iš ūkių, buvo atrinkta 40 kliniškai sveikų karvių, kurios buvo suskirstytos į 4 grupes ir šeriamos pašarais, kuriuose nustatytos skirtingos mikotoksinų koncentracijos. Siekiant nustatyti ir įvertinti *Fusarium* genties grybų poveikį karvėms buvo atrinkti šlapimo ir kraujo serumo mėginiai. Panaudota dujų chromatografijos su masių spektrometrija metodas įvertinti ZEN metabolitų kiekius karvių organizme. Gauti rezultatai parodė, kad ZEN metabolitų aptikimo procentas galvijų šlapimo ir kraujo serumo mėginiuose buvo skirtingas. β-zearalenolio ir zearalanono šlapimo ir kraujo serumo mėginiuose buvo aptiktas visuose tirtuose mėginiuose, α-zearalenolio aptikimo procentas šlapimo mėginiuose 20 proc., o kraujo serumo mėginiuose apie 70 proc. β- zearalanolio aptikimo procentas šlapimo mėginiuose apie 80 proc., α-zearalanolio aptikime visuose šlapimo mėginiuose, tačiau kraujo serumo mėginiuose neaptikta. Nustatėme, kad zearalanono metabolitų koncentracijos pieninių karvių organizmo skysčiuose ženkliai svyravo. β-zearalenolio šlapimo mėginiuose svyruoja nuo 0,217 μg/kg iki 14,48 μg/kg, zearalanono šlapimo mėginiuose svyruoja nuo 0,038 μg/kg iki 1,988 μg/kg, α-zearalenolio šlapimo mėginiuose svyruoja nuo 0,034 μg/kg iki 0,989 μg/kg, α-zearalanolio šlapimo mėginiuose svyruoja nuo 0,195 μg/kg iki 0,926 μg/kg, β- zearalanolio šlapimo mėginiuose svyruoja nuo 0,017 μg/kg iki 0,981 μg/kg. β-zearalenolio kraujo serumo mėginiuose svyravo nuo 0,132 μg/kg iki 2,85 μg/kg, zearalanono kraujo serumo mėginiuose svyravo nuo 0,252 μg/kg iki 7,858 μg/kg, α-zearalenolio kraujo serumo mėginiuose svyruoja nuo 0,034 μg/kg iki 4,098 μg/kg, β-zearalanolio kraujo serumo mėginiuose svyruoja nuo 0,017 μg/kg iki 0,682 μg/kg. Visi pateikti rezultatai – (<0,05). Rezultatai taip pat parodė, kad esant aukštesnėms ZEN metabolitų koncentracijoms kraujo serumo ir šlapimo mėginiuose sumažėja karvių primilžis, ilgėja karvių servis periodas, o kiaušidžių funkcinių sutrikimų atvejų skaičius didėja.

# ARCOBACTER BUTZLERI BAKTERIJŲ JAUTRUMO SKIRTINGŲ KLASIŲ ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS IR VISO GENOMO SEKŲ YPATUMAI

Dainius Uljanovas<sup>1</sup>, Mindaugas Malakauskas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Maisto saugos ir kokybės katedra, Veterinarijos fakultetas, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Lietuva

[dainius.uljanovas@lsmu.lt](mailto:dainius.uljanovas@lsmu.lt)

*Arcobacter butzleri* – patogeninės bakterijos sukeliančios per maisto žaliavas ir produktus plintančią infekcinę ligą (zoonozę). Šiuo metu NCBI duomenų bazėje paskelbtas tik 81 *A. butzleri* genomai, todėl genomine informacija pagrįsta šių bakterijų analizė yra ribota. Taip pat trūksta duomenų apie arkobakterijų fenotipinį jautrumą antimikrobinėms medžiagoms.

Tyrimų tikslas – įvertinti iš žalio pieno ir klinikinių žmonių mėginių išskirtų padermių jautrumą antimikrobinėms medžiagoms ir atrinktų padermių genomų ypatumus.

Iš žalio pieno (n = 26) ir klinikinių žmonių mėginių (n = 20) išskirtų padermių jautrumas šešioms antimikrobinėms medžiagoms įvertintas nustatant minimalią slopinančią koncentraciją (MSK) juostelės difuzijos metodu. *De novo* genomų (n = 21) surinkimui naudotas programinis įrankis SPAdes. Genomų anotacija atlikta įrankiu Prokka. Pasitelkus CSIPhylogeny, Roary ir ABRicate programas atitinkamai įvertinti padermių filogenetiniai ryšiai, atlikta pan-genomo analizė bei nustatytos virulentiškumo veiksniai koduojančių ir atsparumą antimikrobinėms medžiagoms lemiančių genų sekos.

Jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimas atskleidė, kad didžiausiu veiksmingumu prieš arkobakterijas pasižymėjo ciprofloksacinai, kadangi net 97,8 proc. tirtų padermių (nepriklausomai nuo išskyrimo šaltinio) MSK reikšmės (0,032 – 0,25 µg/ml) neviršijo epidemiologinės ribinės vertės (ERV) (0,5 µg/ml). Taip pat nustatyta, kad *A. butzleri* bakterijoms azitromicino atžvilgiu būdingas bimodalinis MSK verčių pasiskirstymas, nors kitam makrolidų klasės atstovui (eritromicinui) tokia MSK verčių išsidėstymo tendencija nepastebėta.

Atlikę viso genomo sekų analizę nustatėme, kad *A. butzleri* bakterijoms būdingas atviro tipo pan-genomas, kurį sudaro 5636 genai. Visų tirtų padermių genomuose vidutiniškai identifikuoti 82 genetiniai virulentiškumo faktoriai ir 80 už atsparumą (antibiotikams ir sunkiesiems metalams) atsakingų genų. Dalies virulentiškumo genų (pvz.: *luxS*, *ureA*, *ciaB*, *virF*) homologai yra aptinkami ir kitų patogenų (*Campylobacter jejuni*, *Shigella flexneri* ir *Helicobacter pylori*) genomuose. Taip pat *in silico* analizė atskleidė, kad 4 *A. butzleri* padermės (1 išskirta iš žmogaus klinikinio mėginio ir 3 iš pieno mėginių) buvo filogenetiškai artimos. Patikrinus 1668095 nukleotidų pozicijas šių padermių genomuose vidutiniškai aptikti 3 vieno nukleotido polimorfizmai.

Ateityje nagrinėjant *A. butzleri* jautrumą makrolidų klasės antibakterinėms medžiagoms būtina lygiagrečiai atlikti fenotipinį vertinimą ir viso genomo sekų analizę. Genetiškai artimų padermių išskyrimas iš pieno ir žmonių klinikinių mėginių patvirtina prielaidas, kad pienas gali būti infekcijos šaltinis. Analogiškų virulentiškumo genų identifikavimas *A. butzleri* ir kitų patogenų genomuose rodo apie arkobakterijų patogeninį potencialą.

**Balandžio 29 d. (Penktadienis)**

**April 29<sup>th</sup> (Friday)**

## **STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF VIRAL ENVELOPE PROTEINS**

Ieva Vasiliauskaite-Brooks

<sup>1</sup>Neuroscience Institute, Lithuanian University of Health Sciences, Lithuania  
[ieva.brooks@lsmu.lt](mailto:ieva.brooks@lsmu.lt)

Infection by viruses having lipid bilayer envelopes proceeds through the fusion of the viral envelope with a membrane of the host cell. This reaction is catalyzed by viral envelope proteins, which are exposed on the virus surface. Viral envelope proteins are responsible for the two major steps in virus entry: 1) attachment to cellular receptor/s and 2) fusion of the viral and cellular membranes. Therefore, a detailed characterization of the 3D structures of viral envelope proteins is essential for our understanding of the molecular mechanisms used by enveloped viruses to enter a target cell. The knowledge gained can be used for structure-based design of antiviral agents and vaccines. Furthermore, these structural studies often provide crucial information about evolutionary relations between apparently unrelated viruses.

Here, I will discuss how the structural studies of viral glycoproteins are performed. I will illustrate it with examples from my own research on hepatitis C virus and baculovirus glycoproteins. Finally, I will explain the importance of the structural characterization of viral glycoproteins in controlling newly emerging enveloped viruses.

# DIVERSITY OF THERMOPHILIC BACTERIOPHAGES FROM COMPOST HEAPS

Eugenijus Šimoliūnas<sup>1,2</sup>, Gintarė Laskevičiūtė<sup>1</sup>, Monika Šimoliūnienė<sup>1</sup>, Martynas Skapas<sup>2</sup>, Nomedā Kuisienė<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Biotechnology, Institute of Bioscience, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania

<sup>3</sup>Center for Physical Sciences and Technology, Vilnius, Lithuania  
[eugenijus.simoliunas@bchi.vu.lt](mailto:eugenijus.simoliunas@bchi.vu.lt)

Bacteriophages are the most abundant entities on Earth. Despite this, there is still a lack of information about non-canonical bacteriophages including high-temperature adapted bacterial viruses which are attractive objects for thermophilicity determinants and for practical aspects in industrial biotechnology and other areas employing high temperatures. Thermophilic bacteriophages have been isolated from a variety of sources including environments where temperatures are increased by either natural processes or human activity.

In this study, we present characterization of twelve thermophilic bacteriophages which have been isolated from soil samples collected from compost heaps at Vilnius University Botanical Garden, Vingis Park, Vilnius, Lithuania. Also, 40 thermophilic bacteria strains, which were used for phage propagation, have been isolated from the same environmental samples. Phage host range determination assay revealed that all phages were active against *Geobacillus thermodenitrificans* strains. In addition, five phages also infected bacteria from genus *Parageobacillus*. Efficiency of plating experiments revealed that phages formed plaques at 55–70°C. With exception of NIIg-3.2, plaques formed of bacterial viruses were clear ranging in diameter from 1 mm (phage NIIg-2.3) to 6 mm (phage NIIg-2.3). Furthermore, most of the bacteriophages (8 out of 12) formed plaques surrounded by halo zone indicating the presence of phageencoded bacterial exopolysaccharide (EPS)-degrading depolymerases. TEM analysis revealed that all phages were siphoviruses characterized by an isometric head (from ~53 nm to ~71 nm in diameter) and apparently non-contractile flexible tail (from ~122 nm to ~218 nm in length).

The results of this study not either improve our knowledge about poorly explored thermophilic bacteriophages but also give new insights for further investigation of thermoactive and/or thermostable enzymes of bacterial viruses.

This research was funded by a grant (No. 09.3.3-LMT-K-712-19-0102) from the Research Council of Lithuania.



# SARS-CoV-2 VIRUSAI AUDINIŲ FERMOSE IR JŲ GENOTIPAI LIETUVOJE

Algimantas Paulauskas<sup>1</sup>, Simona Pileviciene<sup>1,2</sup>, Zygimantas Janeliunas<sup>1,2</sup>, Marius Masiulis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gamtos mokslų fakultetas, Vytauto Didžiojo Universitetas, Lietuva

<sup>2</sup>Nacionalinis maisto ir rizikos vertinimo institutas, Lietuva  
[algimantas.paulauskas@vdu.lt](mailto:algimantas.paulauskas@vdu.lt)

Apžvelgiama SARS-CoV-2 viruso paplitimas pasaulio audinių ūkiuose. Taip pat įvertintas palitimas įvairiuose laukiniuose ir naminiuose gyvūnuose.

Lietuva yra viena iš 10 pasaulio valstybių, kuriuose audinės yra auginamos fermuose (2020 m. 57 ūkiuose Lietuvoje buvo auginama per 1,2 milij. audinių). 2020 m. lapkričio 24 d. Jonavos rajono audinių ūkyje pirmą kartą nustatytas audinių užsikrėtimas SARS-CoV-2 virusu.

Vykdydama koronaviruso stebėseną, atlikti tyrimai visuose Lietuvos audinių ūkiuose. Virusas pasitvirtino 13-oje audines laikusių ūkių Kauno, Kėdainių, Kelmės, Pakruojo, Prienų, Raseinių, Šiaulių, Tauragės ir Utenos rajonuose.

Atlikus sekoskaitos tyrimus įvertintas tarp audinių plintančiu SARS-CoV-2 virusų atmainos, jų pasiskirstymas skirtinguose Lietuvos ūkiuose. Atlikta filogenetinė analizė ir genotipų palyginimas su SARS-CoV-2 atmainomis užkrečiančiomis žmones. Taip pat, vertinama, ar susirgę žvėreliai galėjo virusą perduoti tiesiogiai su jais dirbantiems darbuotojams ir juos užkrėsti.

# THE UNEXPECTED DIVERSITY AMONG SACCHAROMYCETALES KILLER YEASTS

Kristupas Paulius, Aleksandras Konovalovas, Saulius Serva

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Biosciences, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania  
[kristupas.paulius@gchgf.stud.vu.lt](mailto:kristupas.paulius@gchgf.stud.vu.lt)

Many members of the flora are co-inhabited by various organisms, some of which might drive plants' survival and biological prosperity. It is of no surprise that many symbiotic organisms are yeasts. However, their metabolic properties can be rather peculiar – yeast significantly diverge from a family point of view and can possess varying biocidal properties.

Our ambition was to disclose the magnitude of yeasts possessing double-stranded RNA (dsRNA) killer viruses and identify their position in the *Saccharomycetales* family tree. Comprehending such biodiversity with linkage to yeasts' virulent capabilities may be fundamental for novel discernments of life.

We have inspected 384 unique yeast strains from a vast range of natural niches in different geographical zones of Lithuania. More than a tenth of them had some sort of biocidal phenotype – a phenomenon which was verified by combining methods of RNA gel electrophoresis and growth on a selective medium. Out of the biocidal yeasts we selected 12 unique strains with the most palpable morphological disparities and performed parallel analyses of restriction fragment length polymorphism (RFLP) and internal transcribed spacer (ITS) sequencing.

The outcome suggests that most yeast strains are of *Metschnikowia sp.* origin, yet several representatives from other genus were also identified. This may imply that killer activity is much more moderately dispersed throughout a variety of *Saccharomycetales*, and new types of viruses with their unique capabilities are yet to be perceived.

# DIVERSITY OF BACTERIOPHAGES FROM SULFATE-TYPE GYPSUM KARST LAKE ECOSYSTEM

Monika Šimoliūnienė<sup>1</sup>, Martynas Skapas<sup>2</sup>, Sigitas Šulčius<sup>3</sup>, Rolandas Meškys<sup>1</sup>, Eugenijus Šimoliūnas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Centre, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Center for Physical Sciences and Technology, Vilnius, Lithuania

<sup>3</sup>Laboratory of Algology and Microbial Ecology, Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania  
[monika.simoliuniene@gmc.vu.lt](mailto:monika.simoliuniene@gmc.vu.lt)

Active gypsum karst lake phenomenon occurs as a result of the leaching of gypsum and dolomite rocks leading to the formation of gap holes, which are then transformed into small water bodies. Water in such lakes is dominated by  $\text{Ca}_2^+$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  ions and can be characterized by strong thermal and chemical stratification. However, the microbial diversity of gypsum karst lakes remains underinvestigated, especially of bacteriophages, leading to an insufficient understanding of the food web dynamics in these ecosystems.

The aim of this study was to investigate the diversity of bacteria and bacteriophages from sulfate-type gypsum karst lake Kirkilai located near Biržai (Northern Lithuania). In total, 82 bacterial strains and eight bacteriophages were isolated from water samples taken from different depths of Lake Kirkilai. Host range determination assay demonstrated that phages were active against bacteria from genera *Aeromonas*, *Bacillus*, *Paracoccus* and *Pseudomonas*, as well as *Pseudaeromonas* and *Pararheinheimera* for which no viruses have been reported to date. TEM analysis showed all three morphotypes (four myo-, three siph-, and one podovirus) of tailed phages. Efficiency of plating test revealed ambient temperature-adapted viruses, which, with the exception of *Bacillus* phages, were able to form plaques even at 4°C. In addition, with an exception of *Bacillus* phage KLEB27-3S, all phages formed plaques surrounded by halo zone indicating the presence of phage-encoded bacterial EPS-degrading depolymerases. Genome sequencing resulted in genomes sized from ~37 to ~216 kb. Annotation and comparison with databases showed that most phages have no or only few similarities to other bacterial viruses. Genome-based phylogenetic analysis demonstrated that with an exception of KLEB27-3S, none of newly isolated phages can be assigned to any genera currently recognized by ICTV, and may represent seven new ones within the order *Caudovirales*.

Thus, the data presented in this study not only expand our knowledge on bacteriophages from unexplored environments such as gypsum karst lakes, but also offer novel insights into the diversity and evolution of bacterial viruses.

This research was funded by Research Council of Lithuania (Grant No. S-MIP-20-38).

# KAŽI APIE LIETUVOJE PLITUSĮ SARS-CoV-2 VIRUSĄ ATSKLEIDĖ VISO GENOMO SEKOSKAITOS TYRIMAI?

Lukas Žemaitis<sup>1</sup>, Gediminas Alzbutas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

[lukas.zemaitis@ismuni.lt](mailto:lukas.zemaitis@ismuni.lt)

**Įvadas.** 2020 metais Lietuvoje pradėjo plisti SARS-CoV-2 virusas, sukėlęs ne tik nacionalinę, bet ir pasaulinę pandemiją. Pranešimo metu bus pristatyti dvejus metus vykdytų mokslinių tyrimų rezultatai, apžvelgiantys skirtingų viruso linijų atsiradimo kelius, plitimo ypatumus ir pavojingesnes viruso linijas.

**Metodika.** Siekiant geriau pažinti šį virusą, Lietuvoje, kaip ir kitose šalyse buvo pradėti vykdyti viso genomo sekoskaitos tyrimai, sudarantys galimybę tiksliai nustatyti viruso genetines mutacijas ir linijas. Rezultatai gauti atliekant sekoskaitą, bei pasitelkiant GISAID duomenų bazės rezultatus, kurioje jau yra per 35 tūkst. SARS-CoV-2 viruso genomo sekų iš Lietuvos. Analizei atlikti, panaudoti bioinformacinės analizės metodai.

**Rezultatai.** Lietuvos SARS-CoV-2 viruso genomo sekoskaitos tyrimai parodė, kad didžioji dauguma COVID-19 ligos atvejų buvo sąlygoti vietinio plitimo, kilusio iš pavienių protrūkių. Stebėjome atvejų, kai net ir pavojingesnėmis viruso savybėmis pasižyminčios viruso linijos išnyko, sėkmingai suvaldžius protrūkius, tuo tarpu, ne kartą stebėtas viruso linijų išplitimas, nepasižymintis pakitusiomis biologinėmis charakteristikomis. Transmisijos klasterių analizė atskleidė, kad didžioji dalis skirtingų viruso linijų į Lietuvą buvo įvežtos iš Jungtinės Karalystės, Danijos, Norvegijos.

**Išvados.** Genomo sekoskaitos tyrimai yra vieni svarbiausių siekiant užtikrinti skirtingų viruso linijų atsiradimo kelių ir plitimo ypatumų stebėseną bei numatant sveikatai pavojingų viruso linijų plitimo kontrolės galimybes.

# BIOKATALIZATORIAI NUKLEOZIDŲ IR NUKLEOTIDŲ SINTEZEI

Nina Urbelienė<sup>1</sup>, Martyna Koplūnaitė<sup>1</sup>, Dominykas Špelveris<sup>1</sup>, Kamilė Butkutė<sup>1</sup>, Rasa Rutkienė<sup>1</sup>, [Rolandas Meškys<sup>1</sup>](mailto:rolandas.meskys@bchi.vu.lt)

<sup>1</sup>Biochemijos institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuva  
[rolandas.meskys@bchi.vu.lt](mailto:rolandas.meskys@bchi.vu.lt)

Modifikuoti nukleozidai ir nukleotidai yra plačiai naudojami medicinoje, nukleorūgščių žymėjimui, biokonjugacijai, aptamerų ir biojutiklių srityje, bei nanoįrankių ir nanomedžiagų kūrimui, o pastaruoju metu ypač suaktyvėjo jų pritaikymas priešvirusinių vaistų kūrimui.

Šiuolaikinė cheminė nukleozidų ir nukleotidų sintezė vis daugiau remiasi biokataliziniais metodais, o pastariesiems būtini naujomis savybėmis pasižymintys fermentai. Pagrindinės pageidautinos biokatalizatorių savybės – tai regio- ir stereoselektyvumas, kuo įvairesni substratai, termostabilumas bei atsparumas organiniams tirpikliams.

Pranešime aptariami selektyvios fermentų atrankos metodai, panaudojus uracilo/uridino/citidino auksotrofos bei sintetinius nukleozidus ir modifikuotas nukleobazes. Nagrinėjamas atrinktų biokatalizatorių substratinis specifiškumas bei tokių biokatalizatorių panaudojimo nukleozidų sintezei galimybės. Pateikiami duomenys apie *Escherichia coli* C-N glikozidazių katalizines savybes bei tokių savybių panaudojimą naujų biokatalizatorių atrankai. Taip pat aptariamas nukleozidų kinazių panaudojimas modifikuotų nukleotidų sintezei.

Apibendrinant galima teigti, kad inovatyvūs funkcinės fermentų atrankos metodai leidžia greitai ir efektyviai identifikuoti naujus gamtinių fermentų variantus, kurie toliau gali būti naudojami tikslių nukleozidų ir nukleotidų sintezei.

# DEFENCE, INHIBITION, AND APPLICATION OF TYPE I CRISPR-CAS SYSTEM

Tomas Šinkūnas

Institute of Biotechnology, Life Sciences Center, Vilnius University, Sauletekio al. 7, LT-10257, Vilnius,  
Lithuania  
[tomas.sinkunas@bti.vu.lt](mailto:tomas.sinkunas@bti.vu.lt)

The constant evolutionary battle between bacteria and their viruses (phages) drove the emergence of multilayer antiviral barriers. One of these is the CRISPR-Cas system composed of repeated and unique spacer sequences (CRISPR) region and genes encoding Cas proteins. The diverse CRISPR-Cas systems are classified into 6 types that are further divided into subtypes. The CRISPR region stores record about the encounters with phages, which are decoded as small crRNA molecules. The crRNAs assemble with Cas proteins and guide the resulting effector complexes to the nucleic acid of the invader, which is cut within target sequences. Meanwhile, phages evolved small proteins termed anti-CRISPR to counterattack CRISPR-Cas protection. The effector complexes of CRISPR-Cas became widely used molecular tools of genome editing, while Acr proteins might be useful as regulators to balance their action. Here I will cover our research on the molecular mechanism of type I-F CRISPR-Cas system protection, its inhibition strategies, and the application of this system for genome editing.

# UNLOCKING THE POTENTIAL OF INDOLE: TO DYE OR NOT TO DYE

Mikas Sadauskas<sup>1</sup>, Rolandas Meškys<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania  
[mikas.sadauskas@bchi.vu.lt](mailto:mikas.sadauskas@bchi.vu.lt)

Indole is a *N*-heterocyclic aromatic compound with diverse range of functions among different groups of organisms. It can be synthesized by bacteria aiming at killing or inhibiting the growth of rival microorganisms. Alternatively, these rival microorganisms can degrade or even assimilate indole. Humans have learned to master the oxidation for indole, resulting in the use of indigoid pigments for vat dyeing or even development of anticancer leads. This work aimed at exploring the potential of indole as (1) a precursor for the synthesis of next-generation indigoids and (2) a proof-of-concept molecule to be tested for *in vivo* bacterial “sponges”.

We have previously showed that introduction of carboxyl groups into the backbone of indigoids greatly enhances the water solubility and biological activity of these compounds. Here, a similar approach was employed to achieve the synthesis of water-soluble indirubin compounds. Indirubin is a well-known inhibitor of proliferation of cancer cells. Therefore, we anticipate that indirubins with improved water solubility might possess higher anticancer activity.

Indole is an important metabolite of the intestinal microbiota with well-documented activity against microbial cells and also host cells. As such, we selected indole as a primary target for bacteria-based intestinal biodegradation system. To achieve this, genetically modified bacteria carrying enzyme that is able to convert indole were introduced into the gastrointestinal tract of laboratory mice. We expect this system to allow a selective depletion of gastrointestinal indole thus providing a novel tool for microbiota research.

# LIPOLYTIC ENZYMES FROM *GEOBACILLUS*: ENGINEERING, IMPROVEMENT, APPLICATION

Vilius Malūnavičius<sup>1</sup>, Renata Gudiukaitė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Life sciences center, Institute of Biosciences, Vilnius University, Lithuania  
[vilius.malunavicius@gmc.vu.lt](mailto:vilius.malunavicius@gmc.vu.lt)

For the past several years humanity has experienced severe crises, both on various local, as well as, global scales. All of this has exasperated the current ecological, economic and social issues. As resources dwindle, and both the supply and production standards for certain goods are rising, there is an increasing need for environmentally friendly and effective industrial solutions. Lipolytic enzymes produced by bacteria from the genus *Geobacillus* show potential to be one such solution, as they are active at higher temperatures, stable in high temperatures, as well as, organic solvents. Analysis of these enzymes does not just provide possible tools to use in industrial applications, but can help improve our fundamental understanding of lipolytic enzyme structure-function relationship. This, in turn, provides us with information for improving the enzymes that the industry already uses. Our work is aimed at analyzing, and improving *Geobacillus* lipolytic enzymes using protein engineering.

Directed evolution, site-directed mutagenesis, truncated variants and protein fusions were used to both acquire a better understanding of *Geobacillus* lipases, as well as, create possible variants with intriguing properties for industrial applications. Using protein fusion strategies, chimeric variants of lipolytic enzymes (esterases, lipases, cutinases), that exhibit intermediate variants of parental lipolytic enzymes, were created. Enzyme variants with truncated at N- or C- termini, are analyzed in an attempt to discover the minimal structures required for lipolytic enzyme function. Using directed evolution methods enzymes that have higher activity, or are hybrid genes, from *Geobacillus* esterases and lipases have been created.

In conclusion, protein engineering of *Geobacillus* enzymes can further the understanding of how these enzymes operate, and allows creation of enzymes, that could have beneficial properties for use in industrial applications.



**Stendiniai pranešimai**



**Poster presentations**

## A1. CHAPERONIN *CPN60* SEQUENCING AND MALDI-TOF PROTEIN PROFILING IN DISCRIMINATION OF *GARDNERELLA* SPECIES

Aistė Bulavaitė<sup>1</sup>, Thomas Maier<sup>2</sup>, Milda Plečkaitytė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology, Life Sciences Center, Vilnius University, Saulėtekio al. 7, 10257 Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>R&D Bioanalytics, MALDI Biotyper Business Area Microbiology & Diagnostics, Bruker Daltonik GmbH, Fahrenheitstr. 4, 28359 Bremen, Germany

[aiste.bulavaite@bti.vu.lt](mailto:aiste.bulavaite@bti.vu.lt)

Bacteria of the genus *Gardnerella* are associated with bacterial vaginosis yet are also found in a healthy vagina. Genus separation into *G. vaginalis*, *G. piovii*, *G. leopoldii*, *G. swidsinskii*, and 9 genome species has been proposed. We aimed to differentiate 34 *Gardnerella* isolates into species using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. In parallel, isolates were assigned to the species using partial chaperonin *cpn60* universal target sequences. Four named *Gardnerella* species and genome species 3 were resolved in the phylogenetic tree.

MALDI-TOF protein analysis allowed us to reliably distinguish between *G. vaginalis*/*G. piovii* and *G. leopoldii*/*G. swidsinskii* demonstrating the close relationship between *G. vaginalis* and *G. piovii*. Any suitable mark to differentiate *G. leopoldii* and *G. swidsinskii* was not observed. Library updates for automated MALDI Biotyper identification will include new entries: *G. vaginalis* (possibly *G. piovii*) and *G. leopoldii*/*G. swidsinskii*.

Phenotypic characteristics related to the virulence of *Gardnerella* species were assessed. NanH3 was likely responsible for the sialidase activity in 3 of 15 *G. vaginalis* strains. NanH2 or NanH3 or both contributed to sialidase activity in the majority of *G. piovii*/genome species 3 strains. *G. swidsinskii*/*G. leopoldii* strains did not contain the sialidase coding genes. A characteristic feature of *G. vaginalis* was  $\beta$ -galactosidase activity not detected in other species. The vaginolysin coding gene was absent from nearly half of strains of *G. piovii*, whereas it was found in the majority of *G. vaginalis* strains. The ability to form biofilm was characteristic of *G. vaginalis*.

In conclusion, the chaperonin *cpn60* sequences and MALDI-TOF were compared as tools to differentiate *Gardnerella* species.

## A2. THE FORMULATION OF STABLE EMULSIONS AND EVALUATION OF ITS ANTIBACTERIAL AND FUNGICIDAL EFFICACY

Kamilė Eitkevičiūtė<sup>1</sup>, Simona Sutkuvienė<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, Vytautas Magnus University, Kaunas, Lithuania

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania

[kamile.eitkeviciute@stud.vdu.lt](mailto:kamile.eitkeviciute@stud.vdu.lt)

The use of black currant essential oil in the composition of hygiene and beauty products as a preservative has not been extensively studied. Studies on the cultivation of black currant varieties for the extraction of essential oils and antioxidant efficacy have been performed. In Lithuania, dr. A. Gaižauskienė studied the chemical composition and properties of black currants. The focus was on the quantitative and qualitative composition of the essential oils of the buds. (Gaižauskienė, 2009). The antibacterial and fungicidal efficacy of black currant essential oil was investigated in this study. After studying the antibacterial properties of black currants, they can also be applied in the development of hygiene products, so further research is needed.

The object of this research is the essential oil of black currant. This essential oil is used as a natural preservative in a stable emulsion and is evaluated for its antibacterial and fungicidal properties. During the work, five product groups are created: negative control - a product without a chemical and without a natural preservative; positive control - a product with a chemical preservative; a product containing 0.5% essential oil; product with 1.5% essential oil and product with 3% essential oil. The most common micro-organisms in the product environment are artificially contaminated with all products: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 and *Candida albicans* ATCC 10231. These five strains of microorganisms are recommended for use in the challenge test by the British Pharmacopoeia and the United States Pharmacopoeia (Russell, 2003). The full antibacterial and fungicidal efficacy test is performed using a PET test (Preservative efficacy test) (Siegert W, 2021). The PET test simulates the contamination of the product with microorganisms over a period of time, then monitors and evaluates the ability of the preservative to kill or stop the growth of these microorganisms. The testing time is 28 days in total (A.Choudhary, 2008).

The purpose of the study is to determine whether blackcurrant essential oil is suitable for use as a preservative in cosmetics and to determine whether the essential oil ensures the safety of the product and its shelf life.

The formulas of the stable emulsions preserved with the essential oil of black currant as well as efficiency evaluation of it will be presented.

---

[1] Choudary A. (2008). Preservative efficacy test. Access through internet: <https://www.pharmaguideline.com/2011/01/preservative-efficacy-test.html>

[2] Gaižauskienė A. (2009). Įvairių juodųjų serbentų (*Ribes Nigrum* L.) veislių pumpurų cheminė sudėtis ir savybės. Access through internet: <https://www.yumpu.com/en/document/read/53203830/kauno-technologijos-universitetas-asta-gaizauskiene-kaunas-2009>

[3] Russel A.D. (2003). Challenge testing: principles and practice. Access through internet: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1467-2494.2003.00179.x>

[4] Siegert W. (2021). ISO 11930. A comparison to other methods to evaluate the efficacy of antimicrobial preservation. Access through internet:

[https://www.researchgate.net/publication/232273427\\_ISO\\_11930 -  
A Comparison to other Methods to Evaluate the Efficacy of Antimicrobial Preservation](https://www.researchgate.net/publication/232273427_ISO_11930_-_A_Comparison_to_other_Methods_to_Evaluate_the_Efficacy_of_Antimicrobial_Preservation)

# A3. PREBIOTIKAI IR PROBIOTIKAI – ODOS MIKROBIOMĄ ATKURIANTYS FUNKCINIAI VEIKSNIAI ACNE VULGARIS ATVEJU

Rita Jankauskienė<sup>1</sup>, Gražina Šniepienė<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medicinos technologijų katedra, Klaipėdos universitetas, Kineziterapijos ir grožio terapijos katedra,  
Klaipėdos valstybinė kolegija, Lietuva

<sup>2</sup>Slaugos katedra, Klaipėdos universitetas, Kineziterapijos ir grožio terapijos katedra, Klaipėdos valstybinė  
kolegija, Lietuva

[rita.jankauskiene@ku.lt](mailto:rita.jankauskiene@ku.lt)

Farmacijos ir maisto produktų kūrimas, kurių sudėtyje yra prebiotinių medžiagų ir probiotinių mikroorganizmų, yra svarbi infekcinių ir neinfekcinių odos ligų kontrolės ir gydymo strategija. Dėl prebiotikų ir probiotikų sinerginio poveikio šie produktai vadinami sinbiotikais. Veikdami simbiotiskai jie pagerina probiotinių bakterijų implantaciją epitelyje ir dauginimąsi, stimuliuoja sveikos odos mikroorganizmų augimą ir/ar metabolinį aktyvumą, taip prisideddami prie epitelio barjerinės funkcijos stiprinimo, odos imunomoduliacijos bei patogenų slopinimo. Probiotikai, naudojami sinbiotinėse kompozicijose, apima padermes, priklausančias *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* ir *Streptococcus* gentims. Pagrindiniai šių preparatų prebiotikai yra inulinas, skirtingų šaltinių fruktooligosacharidai, galaktooligosacharidai, ksilozės oligosacharidas, transgalaktooligosacharidai, laktulozė, laktilolis ir laktosacharozė.

Geriausiai ištirta sinbiotikų veikimo niša organizme yra žarnynas. Daugėjant mokslinių tyrimų apie žarnyno mikrobiomą vaidmenį žmogaus sveikatai, atsivėrė naujos tyrimų kryptys, pavyzdžiui, „žarnynas-smegenys“ ar „žarnynas-smegenys-oda“.

Darbo tikslas - apibendrinti naujausią mokslinę literatūrą apie sinbiotikų veiksmingumą aknės ligos atveju. Apžvalgoje naudoti straipsniai, paskelbti tarptautinėse duomenų bazėse: PubMed, ScienceDirect, Web of Science, Scopus, EBSCO ir SpringerLink. Paieška vykdyta pagal raktinius žodžius „sinbiotics“ AND „human skin microbiome“ AND „acne“. Iš viso į apžvalgą buvo įtraukti 43 straipsniai.

Odos mikrobiomą įvairovės pokyčiai, siejami su lėtinėmis uždegiminėmis ir neuždegiminėmis ligomis, įskaitant aknę, atopinį dermatitą ir psoriazę. Pacientams, sergantiems akne, mikrobiomą įvairovės sumažėjimas koreliuoja su ligos sunkumu ir padidėjusia patogeninių bakterijų kolonizacija. Šie tyrimai, reikalauja molekulinį ligos mechanizmų išaiškinimo. Bakterijų įvairovės pokyčių dėsningumo nustatymas atvertų galimybes ligos prevencijai, valdymui bei naujų gydymo metodų pasirinkimui ir taikymui.

Dažnai vietiniam, ar sisteminiam aknės gydymui pirmenybė teikiama antibiotikams arba produktams, pasižymintiems antimikrobinu ir priešuždegiminiu poveikiu. Tyrimai parodė, kad probiotikai mažina šalutinį antibiotikų poveikį, kartu padidindami jų terapinį veikimą. Tačiau vis aktualesne tampa mikroorganizmų atsparumo antimikrobinams vaistams problema. Ekonominio bendradarbiavimo ir plėtros organizacija (EBPO) pažymi, kad probiotikai yra perspektyvi alternatyva antibiotikų terapijai. Tačiau, probiotinės terapijos veiksmingumui, reikalingas kruopštus probiotiko parinkimas bei jo dozės standartizavimas.

# **A4. AUTISTIC CHILDREN DERIVED GUT MICROBIOTA INFLUENCE AUTISTIC PHENOTYPE IN HEALTHY ADULT MICE**

Arnas Kunevičius<sup>1</sup>, Julija Raudytė<sup>1</sup>, Dominykas Varnas<sup>2</sup>, Vaidotas Urbonas<sup>2</sup>, Aurelijus Burokas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological Models, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Clinic of Children's Diseases, Faculty of Medicine, Vilnius University, Vilnius, Lithuania  
[arnas.kunevicius@gmc.vu.lt](mailto:arnas.kunevicius@gmc.vu.lt)

Autism spectrum disorders (ASD) are a complex group of neurodevelopmental disorders with unclear etiology. ASD manifest in a variety of neuropsychiatric traits, but are most commonly characterized by impaired social interaction and stereotypical repetitive behaviors. Current research reports that children with ASD have risk of gastrointestinal disturbances and showcase differences in gut microbiota composition. We hypothesize that transfer of gut microbiota from ASD patients can induce changes in the central nervous system of healthy adult mice. To test this hypothesis, we used fecal samples of ASD children to perform fecal microbiota transfer (FMT) to adult C57BL/6J mice. We measured the effect of gut microbiota from ASD children on autistic-like behaviors using several behavioral tests. Also, we analyzed gene expression in hippocampus and medial prefrontal cortex using real-time PCR. The transfer of gut microbiota from ASD children to healthy mice effected cognitive functions of healthy animals and influenced changes in ASD associated gene expression. However, the observed effect was minor, possibly due to the gut microbiota variability between samples. These primary results suggest that the gut microbiota might contribute to the cognitive changes observed in ASD patients. Nevertheless, further gut microbiota diversity analysis is required to confirm the success of FMT and establish the cause of observed changes.

## A5. THE PECULIARITIES OF PHOTOCATALYTIC INACTIVATION OF *S. TYPHIMURIUM* BY P25 TiO<sub>2</sub>

Gabrielė Mačiokaitė<sup>1</sup>, Sandra Sakalauskaitė<sup>1</sup>, Rimantas Daugelavičius<sup>1</sup>, Martynas Lelis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Vytautas Magnus University, Kaunas, Lithuania

<sup>2</sup>Lithuanian Energy Institute, Kaunas, Lithuania

[gabriele.maciokaite@stud.vdu.lt](mailto:gabriele.maciokaite@stud.vdu.lt)

Innovative ways are being sought to combat bacteria that are resistant to antimicrobial compounds. Inactivation of bacteria using advanced oxidation processes and photocatalysis, in particular, provides an attractive solution. Photocatalysts are considered among the most effective ways to treat biologically polluted water. Good photocatalytic properties of UV light activated TiO<sub>2</sub> are well-known and has been demonstrated with various pollutants. Unmodified TiO<sub>2</sub> can be excited only by the UV light. Meanwhile, ROS generation by using visible light is unattainable. Nevertheless, by experimenting with various TiO<sub>2</sub> modifications to develop new convenient bio-contamination-based photocatalysis efficiency evaluation method, we noticed that under certain conditions combination of standard P25 TiO<sub>2</sub> powder and visible light source was capable to completely halt the formation of *Salmonella* Typhimurium colonies. To better understand this phenomenon, in the current study we focused on antibacterial properties of visible light irradiated P25 TiO<sub>2</sub> powder. Also, we investigated antibacterial effect of modified TiO<sub>2</sub> with Ni underlayer. During the study we assayed viability of treated bacteria by the spread plate technique. Changes in bacterial outer membrane (OM) permeability and efficiency of efflux pump activity were determined by measuring fluorescence of N-phenyl-1-naphthylamine and Nile Red, respectively. To detect intracellular ROS formation the fluorescence of DCFH-DA was assayed. Susceptibility to antibiotics was evaluated by the determination of minimal inhibitory concentration (MIC). Results of our study indicated that TiO<sub>2</sub> and wide spectrum visible light irradiation damaged the integrity of the OM and caused oxidative stress in metabolizing bacteria. When favorable conditions were created, these effects added up and high bacterial inactivation was achieved. We also determined that modified TiO<sub>2</sub> with Ni underlayer increased the susceptibility of *S. Typhimurium* to such antibiotics as tetracycline and chloramphenicol.

## **A6. SYNTHESIS AND ANTIGENICITY ANALYSIS OF RECOMBINANT MAJOR YELLOW JACKET VENOM ALLERGEN VES V 5**

Juta Rainytė<sup>1</sup>, Gintautas Žvirblis<sup>1</sup>, Mindaugas Zaveckas<sup>1</sup>, Rasa Petraitytė-Burneikienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Eukaryote Gene Engineering, Vilnius University Life Sciences Center, Lithuania  
[juta.rainyte@bti.vu.lt](mailto:juta.rainyte@bti.vu.lt)

IgE-mediated allergic reactions after Hymenoptera insect stings are prevalent causes of life-threatening and sometimes fatal immune-mediated anaphylaxis in humans. The severity varies from person to person; however, people who have experienced an allergic reaction have a 60% chance of a similar or worse reaction if stung again. The only long-term solution is venom immunotherapy (VIT). Although VIT is highly effective, systemic allergic side effects to injections have been observed in 20-40% of patients. The underlying cause is the use of naturally sourced allergens that carry immunogenic glycosylation patterns.

The Vespidae family venom contains three major allergens: phospholipase A, hyaluronidase, and antigen 5. Antigen 5, also known as allergen Ves v 5 in yellow jackets (*Vespula vulgaris*), is the most abundant allergen in wasp venom, constituting 8.1% of an average venom sac.

In this study, we analyzed whether fusion with the maltose-binding protein (MBP) would improve recombinant Ves v 5 (rV5) solubility and protein yield; and would it affect allergens' IgE binding capacity. To accurately compare the results, rV5 was synthesized with and without MBP in bacteria *E. coli* and yeast *P. pastoris*. Purified recombinant protein antigenic properties were tested in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with blood serum samples from patients positive for wasp allergy. An inhibition ELISA was performed to analyze whether yeast glycosylation patterns have impacted diagnostic test sensitivity.

This study has shown that fusion with MBP not only improves rV5 protein solubility but also improves protein yield – 3.9 and 3.7 times in bacteria and yeast, respectively. ELISA results indicate that the most probable candidate for the diagnosis of wasp allergy is MBP fused Ves v 5 produced in yeast.

This project has received funding from the European Regional Development Fund (Project No. 01.2.2-LMT-K-718-01-0008) under grant agreement with the Research Council of Lithuania (LMTLT).

## A7. FLUKONAZOLO EFEKTYVUMO PRIEŠ *CANDIDA* MIELES DIDINIMAS STIRILPIRIDIN AIS IR STATIN AIS

Simona Vaitkienė<sup>1</sup>, Gunars Duburs<sup>2</sup>, Rimantas Daugelavičius<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vytauto Didžiojo universiteto Biochemijos katedra, Kaunas

<sup>2</sup>Rygos Organinės sintezės Institutas, Latvija

[simona.vaitkiene@vdu.lt](mailto:simona.vaitkiene@vdu.lt)

*C. albicans* yra įvardijama kaip pagrindinė padermė, sukianti invazines kandidozes. *C. glabrata* sukeltamų infekcijų skaičius kasmet didėja dėl atsparumo priešgrybeliniams vaistams. Atsparumas plačiai naudojamiems azolams gali atsirasti dėl įvairių priežasčių, tarp jų ir dėl daugiavaisčio atsparumo siurblių veiklos. Naujų preparatų kūrimas, kitos paskirties medikamentų derinimas su jau žinomais priešgrybeliniais vaistais gali tapti efektyvia priemone, leidžiančia kovoti su patogeninių mielių atsparumu.

Tyrimo tikslas – įvertinti naujai susintetintų stirilpiridinių klasės junginių, klinikinėje praktikoje taikomų statinų bei šių preparatų derinių su flukonazolu fungicidinį poveikį *Candida* mielėms bei žinduolių ląstelėms.

Stirilpiridinių, atorvastatino ir flukonazolo fungicidinis poveikis *C. albicans* ir *C. glabrata* nustatytas mikroskiedimų metodu, sąveika tarp flukonazolo ir tiriamųjų junginių įvertinta nustatant frakcijos slopinančios koncentracijos indeksą ( $\Sigma$ FIC). Junginių poveikis CHO-K1 ląstelių gyvybingumui vertintas XTT metodu.

Nustatyta, kad 0,06-8  $\mu$ g/ml koncentracijų intervale stirilpiridiniai efektyviai slopino *C. albicans* augimą, bet *C. glabrata* ląstelių augimo slopinimui reikėjo didesnių koncentracijų. Atorvastatino poveikis tirtoms *Candida* ląstelėms buvo panašus: tik 64-128  $\mu$ g/ml šio junginio visiškai sustabdė augimą. Stipriausias sinerginis poveikis, efektyviai slopinantis *Candida* augimą, nustatytas taikant flukonazolo derinius su CSDP<sup>+</sup> ir atorvastatinu. DEASD<sup>+</sup> pasižymėjo didžiausiu citotoksiškumu: 2  $\mu$ g/ml koncentracija visiškai nuslopino CHO-K1 ląstelių gyvybingumą.

Gauti rezultatai rodo, kad stirilpiridiniai ir statinai galėtų būti perspektyvūs adjuvantai, efektyviai didinantys flukonazolo aktyvumą prieš *Candida* mieles.



## **B1. GRAM-POSITIVE BACTERIUM *PAENIBACILLUS LARVAE* STRAINS ISOLATED FROM LITHUANIAN HONEYBEES**

Paulina Amšiejūtė<sup>1,2</sup>, Vaclovas Jurgelevičius<sup>2</sup>, Petras Mačiulskis<sup>1</sup>, Česlova Butrimaitė-Ambrozevičienė<sup>1</sup>, Simona Pilevičienė<sup>1</sup>, Algimantas Paulauskas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Food and Veterinary Risk Assessment Institute, J. Kairiukscio str. 10, LT-08409 Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Faculty of Natural Sciences, Vytautas Magnus University, Universiteto str. 10, Akademija, Kaunas district, Lithuania

[paulina.amsiejute1@stud.vdu.lt](mailto:paulina.amsiejute1@stud.vdu.lt)

*Paenibacillus larvae* is a Gram-positive bacterium which is known as the causative agent of the American foulbrood (AFB), a highly contagious and fatal, widespread disease of honeybees (*Apis mellifera*). There are four strains of *Paenibacillus larvae*, named after their enterobacterial repetitive consensus (ERIC), and recently newly found fifth ERIC genotype. ERIC I and ERIC II genotypes are spread worldwide and are considered as the most important because of high virulent. In this study a total 108 independent *P. larvae* isolates from different geographical regions of Lithuania collected from 2011 till 2021 were investigated first time for genetic diversity using multiple locus variable number of tandem repeat analysis (MLVA). For MLVA, five primers pairs representing different gene loci were used in multiplex PCR and analysed by capillary electrophoresis (QIAxcel system). The aim of the study was by using MLVA method detect which enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) genotypes are most common in Lithuania apiaries, identify and differentiate subtypes of defined genotype, and analyse how bacterial molecular diversity change and spread over the years in different regions of Lithuania. Molecular analysis data showed that 100 % of *P. larvae* bacterial isolates from Lithuania represent the ERIC I genotype, and capillary electrophoresis results let us to differ 9 *P. larvae* strains subtypes according to different length of VNTR by using MLVA method.

## B2. OPTIMIZATION OF MOLECULAR IDENTIFICATION OF *SARCOCYSTIS* PARASITES INFECTING DOMESTIC ANIMALS

Agnė Baranauskaitė, Živilė Strazdaitė-Žielienė, Modestas Petrauskas, Deividas Paliovkinas, Petras Prakas, Elena Servienė

Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania  
[agne.baranauskaite@gamtc.lt](mailto:agne.baranauskaite@gamtc.lt)

*Sarcocystis* parasites are unicellular organisms that can infect animals and humans. The detection of sporocysts in the environmental samples is complicated by their low concentration and the lack of an appropriate research methods. The aim of this study was to design appropriate primers for identification of *Sarcocystis* species infecting domestic animals.

During the summer of 2021, a total of 150 water samples were collected from various water sources in Lithuania. Filtration was used to collect and concentrate sporocysts. Primer pairs that were specific for identification of *S. bovifelis* and *S. cruzi* infecting cattle, *S. bertrami* infecting horses and *S. miescheriana* infecting pigs were selected. The specificity of the primers was tested with control (cyst-isolated) DNA. It was found that in the presence of purely parasitic DNA, all generated primers bind specifically to the corresponding DNA. Based on results, the prevalence of selected species was 6.7-12.0%. Comparing results with the data provided in the literature on the prevalence of these species in animal carcasses, it was assumed that these primers are not optimal. New primers were designed and tested with control DNA. Using newly developed primers, *Sarcocystis* parasites were detected 3.7-9.9 times more frequently, and the overall infection in water samples was 100%. *S. cruzi* (98.7%) and *S. bovifelis* (79.3%) were most frequently identified in the samples, less frequently *S. bertrami* (57.3%), and *S. miescheriana* (24.7%) the least. Using primary primers, no more than two different species were detected in one sample. Meanwhile, using new primers, three (43.3%) or two (36.7%) different species were commonly identified in one sample, less frequently four (12.0%) or one (8.0%).

The development and optimization of appropriate primers for the identification of *Sarcocystis* spp. will allow the rapid and accurate detection of sporocysts in the natural environment.

## B3. VDU AKVAKULTŪROS CENTRO VANDENS SU PROBIOTIKAIS MIKROBIOTOS TYRIMAS

Monika Brimaitė, Karolina Lukošūtė, Alvydas Žibas, Renata Žvirdauskienė, Algimantas Paulauskas

Gamtos mokslų fakultetas, Vytauto Didžiojo universitetas, Lietuva  
[monika.brimaite@vdu.lt](mailto:monika.brimaite@vdu.lt)

Akvakultūra daugelyje šalių tapo svarbia ekonomine veikla. Akvakultūruose ir neršimo rezervuaruose, kuriuose vandens gyvūnai patiria stresines sąlygas, dažnai kyla problemų, susijusių su ligomis ir aplinkos sąlygų pablogėjimu, dėl kurių patiriama didelių ekonominių nuostolių. Vandens užterštumas trąšomis, biocidais, antibiotikais, invaziniais patogeniniais mikroorganizmais ir pan. iš esmės keičia jo mikroflorą, todėl kinta žuvų natūrali mitybinė bazė, mažėja jų produktyvumas.

Problema siekiama išspręsti probiotikais, nes jie konkuruoja su patogeninėmis bakterijomis ir jas pašalina (Balca'zar ir kt., 2004; Vine ir kt., 2004a), yra maistinių medžiagų ir fermentų šaltinis (Prieur ir kt., 1990; Garriques ir Arevalo, 1995), gerina tiesioginių ištirpusių organinių medžiagų pasisavinimą (Garriques ir Arevalo, 1995; Moriarty, 1997), stiprina imuniteto atsaką prieš patogeninius mikroorganizmus (2003; Balca'zar ir kt., 2004) ir pasižymi antivirusiniu poveikiu (Kamei ir kt., 1988; Girones ir kt., 1989 m.).

Tyrimas atliktas pritaikant mikrobiologinius ir molekulinis tyrimus. Buvo izoliuotos ir išgrynintos bakterijos iš vandens mėginių, kuriuose buvo naudojami skirtingos sudėties probiotikai. Išskirta bakterijų kolonijų DNR, kuri buvo apdorota molekuliniiais metodais ir išsiųsta sekvenuoti, o rūšys identifikuojamos gautus rezultatus lyginant su sekomis, pateiktomis BLAST sistemoje.

Aptiktos *Bacillus licheniformis*, *Bacillus paralicheniformis* ir *Bacillus sonorensis* bakterijos tiriant vandenį su probiotikais, *White Cap* (WC) ir *Melisa* preparatais. *Bacillus* genties rūšys yra probiotikai, kurie potencialiai galėtų sustiprinti savo biologinį kontrolinį poveikį žuvų auginimo aplinkoje, nes sumažina *A. hydrophila* virulentiškumo faktorių raišką ir padidina žuvų išgyvenamumą.

## **B4. STUMBRŲ (*BISON BONASUS*) UŽSIKRĖTIMAS ERKIŲ PERNEŠAMAIS PATOGENAIS**

Algimantas Paulauskas, Asta Aleksandravičienė, Dalia Černevičienė, Loreta Gričiuvienė, Artūras Kibiša, Indrė Lipatova, Jana Radzijevska, Irma Ražanskė

Biologijos katedra, Vytauto Didžiojo universitetas, Lietuva  
[d.cerneviciene@gmail.com](mailto:d.cerneviciene@gmail.com)

Laukiniai kanopiniai gyvūnai Europoje yra pagrindiniai erkių platinamų patogenų nešiotjai ir rezervuarai, tokių kaip *Anaplasma* spp., *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. bakterijų ir *Babesia* spp. pirmuonių. Stumbras (*Bison bonasus*) retas ir stambiausias dabartinis Europos laukinis kanopinis žvėris, kuris įrašytas į Tarptautinę raudonąją knygą ir į Lietuvos raudonąją knygą. Dėl saugomo statuso stumbrų tyrimai, vertinat erkių pernešamų patogenų pačiuose stumbruose ir surinktose erkėse nuo jų, yra sudėtingi. Šio tyrimo tikslas – ištirti erkių pernešamus patogenus stumbrų blūžnų mėginiuose ir erkėse surinktose nuo stumbrų Lietuvoje.

Medžiaga buvo renkama nuo 2014 m. iki 2022 m. Lietuvos teritorijoje, nuo gyvūnų, kurie atsitiktinai rasti negyvi (dėl automobilių ar traukinių avarijų, nugaishė dėl nežinomų priežasčių) arba išimti iš gamtos pagal apsaugos planą dėl ligų ar genetinių sutrikimų.

Atlikus duomenų analizę nustatyta, kad stumbruose ir nuo jų surinktose erkėse (*Ixodes ricinus*, *Dermocentor reticulatus*) yra paplitę *Babesia* spp., *Anaplasma* spp., *Borrelia* spp. patogenai. Sekų analizė parodė *Babesia divergens* ir *Babesia capreoli* buvimą stumbrų blūžnies mėginiuose, o *Babesia divergens*, *Babesia microti* ir *Babesia venatorum* rūšys buvo aptiktos erkėse. Taip pat, stumbrų mėginiuose ir nuo jų surinktose erkėse buvo nustatytos *Anaplasma phagocytophilum* ir *Borrelia burgdorferi* patogenai.

Tyrimai atlikti pagal Europos regioninės plėtros fondo projektą “Stumbrų apsaugos priemonių įgyvendinimas (projekto nr. 05.5.1-APVA-V-018-01-0006)”.

## **B5. INVAZINIŲ *ROBINIA PSEUDOACACIA* IR *CYTISUS SCOPARIUS* AUGALŲ ENDOFITINIŲ GRYBŲ ĮVAIROVĖ**

Jolanta Dunovska<sup>1,2</sup>, Ieva Rinkevičiūtė<sup>1,2</sup>, Dovilė Čepukoit<sup>1</sup>, Daiva Burokienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Augalų patologijos laboratorija, Gamtos tyrimų centras, Lietuva

<sup>2</sup>Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuva

[dovile.cepukoit@gamtc.lt](mailto:dovile.cepukoit@gamtc.lt)

Visuose pasaulio regionuose svetimžemės rūšys sukelia didelių biologinių, ekonominių ir socialinių problemų. Baltažiedė robinija (*Robinia pseudoacacia*) ir šluotinis sausakrūmis (*Cytisus scoparius*) yra laikomi invaziniais augalais Lietuvos Respublikos teritorijoje. Kartu su šių rūšių individais iš kitų kraštų yra atvežami ir jų endofitiniai grybai, kurių ekologinis vaidmuo dar nėra gerai ištirtas – trūksta duomenų, kokį poveikį jie daro savo įprastiems šeimininkams naujoje teritorijoje bei kokia jų reikšmė vietinių rūšių atžvilgiu. Šio tyrimo tikslas yra įvertinti *C. scoparius* ir *R. pseudoacacia* endofitinių grybų įvairovę.

Tyrimo metu 9 skirtingose Lietuvos vietovėse buvo surinkti 43 *R. pseudoacacia* ir 44 *C. scoparius* augalų pavyzdžiai, iš kurių pažeistų dalių (šakų, stiebų) atitinkamai buvo išskirtos 204 ir 235 grybų kultūros. Izoliatai buvo suskirstyti į grupes pagal kolonijos išvaizdą ir mikromorfologinius požymius. Šluotinio sausakrūmio grybai suskirstyti į 78, o baltažiedės robinijos – į 48 morfologines grupes. Jų atstovai buvo identifikuoti taikant molekulinis metodus. Grybų DNR buvo išskirta pagal CTAB metodiką. PGR buvo atlikta panaudojus universalius pradmenis (ITS1/ITS4; White et al., 1990.) Išanalizavus sekoskaitos duomenis aptikti grybų izoliatai buvo priskirti *Diaporthe*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Kalmusia*, *Chondrostereum* ir kt. gentims. Taigi, mikrobiotos tyrimai suteikia naujos informacijos apie grybinių mikroorganizmų paplitimą invaziniuose augaluose Lietuvoje bei suteikia daugiau duomenų apie galimą grėsmę vietinių augalų ekosistemoms.

## B6. LIETUVOJE AUGANČIŲ *QUERCUS ROBUR* MIKROSKOPINIŲ GRYBŲ ĮVAIROVĖ

Laurita Juočytė<sup>1,2</sup>, Karolis Sivickis<sup>1</sup>, Dovilė Čepukoitė<sup>1</sup>, Antanas Matelis<sup>1</sup>, Daiva Burokienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Augalų patologijos laboratorija, Gamtos tyrimų centras, Lietuva

<sup>2</sup>Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuva

[daiva.burokiene@gamtc.lt](mailto:daiva.burokiene@gamtc.lt)

Vidutinio klimato regionuose augantis bukinių (*Fagaceae*) šeimos medis *Quercus robur* L., Lietuvoje žinomas kaip paprastasis ąžuolas, yra vienas iš dviejų savaimė Lietuvoje augančių ąžuolų. Atsižvelgiant į medžio rūšies svarbą, grybų įvairovė tiriama norint išsaugoti medžių populiaciją ir išlaikyti ekologinę bei aplinkosauginę vertę. Tyrimų metu siekiama nustatyti grybinių mikroorganizmų įvairovę bei įvertinti jų įtaką paprastojo ąžuolo gyvybingumui.

2016–2018 metais augalinės medžiagos pavyzdžiai buvo surinkti iš 15 skirtingų Lietuvos vietovių. Tyrimams buvo parinkti 75 ąžuolai, kuriuose buvo matomas iš kamienų išsiskiriantis eksudatas, lajos defoliacija, šakų vytimo požymiai. Iš tiriamųjų pavyzdžių į grynas kultūras pavyko išskirti 279 grybų izoliatus. Mikroorganizmų gentys ar rūšys identifikuotos pagal morfologines, biochemines ir genetines (Sanger sekoskaitai panaudojant universalius ITS-1 ir ITS-4 pradmenis pagal White et al., 1990) savybes. Išanalizavus gautus duomenis buvo nustatytos dažniausiai ąžuoluose aptinkamos grybų gentys: *Umbelopsis*, *Ilyonectria*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Diaporthe* bei *Pythium*. Gauti tyrimų rezultatai suteikia žinių apie gyvuose *Q. robur* medžių audiniuose aptinkamų grybų įvairovę ir jų paplitimą natūraliose ekosistemose įvairiose Lietuvos vietovėse.

## **B7. POTENCIALIAI PATOGENIŠKOS BAKTERIJOS MAKROFITŲ SĄNAŠOSE BALTIJOS JŪROS PRIEKRAVNTĖJE**

Greta Kalvaitienė<sup>1</sup>, Marija Kataržytė<sup>1</sup>, Greta Gyraitė<sup>1</sup>, Otilija Derbutienė<sup>1</sup>, Diana Vaičiūtė<sup>1</sup>, Martynas Bučas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jūros tyrimų institutas, Klaipėdos Universitetas, Lietuva  
[greta.kalvaitiene@ku.lt](mailto:greta.kalvaitiene@ku.lt)

Rekreaciniu laikotarpiu Baltijos jūros paplūdimiuose gali susikaupti didelis kiekis makrofitų (dumblių ir aukštesniųjų augalų) sąnašų. Yra žinoma, kad tokios sąnašos gali turėti teigiamą poveikį fekalinės taršos indikatorių, tokių kaip *Escherichia coli* ir *Enterococcus* spp. bakterijų išgyvenimui gėlo vandens aplinkoje. Tačiau mažai žinoma kaip paplūdimio sąnašos gali paveikti maudyklų vandens kokybę Baltijos jūros priekrantėje, ir ar tai nedaro poveikio fekalinės taršos indikatorių bei potencialiai patogeninių *Vibrio* bakterijų gausumui sąnašų akumuliacijos zonoje.

Siekiant ištirti galimą paplūdimio sąnašų poveikį potencialiai patogeniškų bakterijų gausumui, tyrimui buvo pasirinktos keturios skirtingos Lietuvos paplūdimių vietos. 2021 m. balandžio – rugsėjo mėnesiais kiekviename paplūdimyje buvo renkami vandens, smėlio ir sąnašų mėginiai sąnašų akumuliacijos vietoje ir referentinėje vietoje, kurioje nėra sąnašų. Mėginiuose buvo įvertintas labiausiai tikėtinas *Enterococcus* spp. ir *E. coli* kiekis. Žmogui specifiniai HF183 ir paukščiams specifiniai GFD bakterijų žymenys, *V. vulnificus*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* ir *V. alginolyticus* buvimas identifikuoti ir kiekybiškai įvertinti pagal tikrąją PGR.

Pirminis tyrimas parodė, kad makrofitų sąnašų buvimas gali turėti įtakos *E. coli* gausumui vandenyje ir enterokokų - smėlyje. *V. cholerae* ir *V. vulnificus* bakterijos dažniausiai nustatytos mėginiuose, paimtuose iš sąnašų kaupimosi vietų, o *V. alginolyticus* buvo rastas tik sąnašų kaupimosi zonoje ir tik vieną kartą. Tam, kad įvertintume kaip potencialiai patogeniškų bakterijų kiekis kinta priklausomai nuo sąnašų akumuliacijos trukmės krante ir priekrantėje, numatomi tolimesni tyrimai.

## **B8. *BARTONELLA* AND *RICKETTSIA* PATHOGENS IN MITES (MESOSTIGMATA) FROM SMALL RODENTS**

Evelina Kaminskienė, Jana Radzijeuskaja, Algimantas Paulauskas

Department of Biology, Vytautas Magnus University, Lithuania  
[evelina.kaminskiene@vdu.lt](mailto:evelina.kaminskiene@vdu.lt)

Mites of suborder Mesostigmata (Acari: Parasitiformes) include numerous highly diverse species. Some of them (Laelapidae family mites) found on the body of small rodents are supposed as potential vectors of infectious diseases. Small rodents considered carriers and reservoir hosts of vector-borne bacteria such as *Bartonella* spp. (causing persistent bacteremia in humans and a wide variety of animals) and *Rickettsia* spp. (some species causing human infections in all continents inhabited by humans in the world). In order to extend knowledge on the relationships between mesostigmatid mites, their hosts and *Bartonella* and *Rickettsia* bacteria, we aimed to investigate the presence and prevalence of these pathogens in mites parasitizing different species of small rodents. *Bartonella* DNA in mites was detected using a real-time PCR. All positive samples were further analyzed by nested PCR amplification and sequence analysis of 16S – 23S rRNA *ITS* region. *Rickettsia* DNA in mites was detected by nested and semi-nested PCRs targeting the *gltA* (338 bp) and *17kDa* (450 bp) genes with subsequent sequence analysis performed for species identification. The overall rate of *Bartonella* infection in mites was 14.4%. Sequence analysis revealed the presence of *Bartonella taylorii* in *Laelaps agilis*, *Haemogamasus nidi* and *Myonyssus gigas* mites, *B. grahamii* in *L. agilis*. The overall rate of *Rickettsia* infection in mites was 9.3%. Mites feeding on rodents harboured human pathogenic *Rickettsia helvetica* and *R. felis*. This is the first detection of *Bartonella* spp. and *Rickettsia* spp. in mites from small rodents in Baltic countries.



## B9. BIODIVERSITY OF THERMOPHILIC BACTERIA FROM COMPOST HEAPS

Gintarė Laskevičiūtė<sup>1</sup>, Monika Šimoliūnienė<sup>1</sup>, Nomeda Kuisienė<sup>2</sup>, Eugenijus Šimoliūnas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biototechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Biototechnology, Institute of Bioscience, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania  
[gintare.laskeviciute@gmc.stud.vu.lt](mailto:gintare.laskeviciute@gmc.stud.vu.lt)

Compost heaps are human-made environments where elevated temperatures occur during biodegradation of organic material. According to this, a number of thermophilic microorganisms including bacteria of the genus *Geobacillus* and their close relatives have been isolated from such environments. These thermophiles are in a special scientific interest because they are one of the major sources of thermoactive and/or thermostable enzymes that can be used in biotechnology and other areas.

In this study, a number of thermophilic bacteria were isolated from soil samples collected from five compost heaps at Vilnius University Botanical Garden, Vingis Park, Vilnius, Lithuania. A PCR-amplified 16S rRNA gene fragment and the BOX element (BOX1A) sequences analysis were performed for identification and classification of indigenous isolates. In total, 40 bacterial strains which demonstrated different 16S rRNA gene fragment sequences and/or different BOX-PCR profiles were identified including bacteria of the genera *Aeribacillus*, *Brevibacillus*, *Geobacillus*, *Parageobacillus* and *Ureibacillus*. Bioinformatic analysis, based on comparison of 16S rRNA gene fragment sequences revealed close phylogenetic relationship of isolates, whereas morphological and physiological analysis showed that bacteria were adapted to grow at 55°C to 70°C temperatures tested. In addition, most of the isolates were able to grow on solid LB media, but didn't propagate in liquid LB media.

The results of this study expand our knowledge of thermophilic bacteria presented in human-made environments like compost heaps. It is expected that isolated strains will be used for more detailed analysis including genome sequencing and identification of enzymes active on high temperatures.

This research was funded by grant (No. 09.3.3-LMT-K-712-19-0102) from the Research Council of Lithuania.

## **B10. LAISVAI GYVENANČIŲ EUROPINIŲ BALINIŲ VĖŽLIŲ (*EMYS ORBICULARIS*) MIKROBIOTO TYRIMAS**

Karolina Lukošūtė, Monika Brimaitė, Renata Žvirdauskienė, Algimantas Paulauskas

Gamtos mokslų fakultetas, Vytauto Didžiojo universitetas, Lietuva

[karolina.lukosiute@vdu.lt](mailto:karolina.lukosiute@vdu.lt)

Europinis balinis vėžlys (*Emys orbicularis*, L., 1758) – vienintelė Lietuvoje gyvenanti vėžlių rūšis, kuri įrašyta jau nuo 1976 metų į Lietuvos raudonąją knygą. Besikeičiančios aplinkos sąlygos ir laipsniška šių gyvūnų natūralių buveinių tarša daro didelę įtaką jų sveikatai, o tai savo ruožtu skatina bakterines ir grybelines infekcijas. Dėl stresą sukeliančių aplinkos veiksnių ir sumažėjusio imuninės sistemos aktyvumo bakterijos sudarančios natūralų mikrobiotą sveikuose baliniuose vėžliuose gali prisidėti prie ligų ir vėžlių nykimo. Šio tyrimo tikslas buvo įvertinti balinių vėžlių mikrobiotą Lietuvos populiacijoje.

Pritaikant mikrobiologinius ir molekulinis tyrimus nustatyti bakterijų rūšis išskiriant jų DNR, atliekant polimerazinę grandininę reakciją (PGR), bei lyginant gautas sekas su sekomis pateiktomis BLAST sistemoje buvo iširta Lietuvos europinių balinių vėžlių mikrobiotas iš vėžlių seilių bei galūnių mėginių. Aptiktos *Pseudomonas* ir *Acinetobacter* genties bakterijos seilėse, bei *Pseudomonas* tiriant ėminius nuo vėžlių galūnių. Gauti duomenys palyginti su kaimyninių vėžlių populiacijomis Lenkijoje (Nowakiewicz ir kt., 2015) ir Latvijoje (Umbrasko ir kt., 2020) tyrimų rezultatais.

Iki šiol atlikti balinių vėžlių tyrimai parodė, kad svarbiausios mikrobiotos bakterijų rūšys yra *Pseudomonas diminuta*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Chryseobacterium*, *Enterobacter*, *Salmonella* ir *Aeromonas* rūšys. Tarp mikroorganizmų, galinčių sukelti infekciją, yra *Aeromonas* genties bakterijos.

# B11. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME LACTIC ACID BACTERIA AND ESSENTIAL OILS ON *XANTHOMONAS* SPP. GROWTH

Irena Mačionienė<sup>1</sup>, Joana Šalomskienė<sup>1</sup>, Dovilė Čepukoitė<sup>2</sup>, Daiva Burokienė<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Food Institute, Kaunas University of Technology, Kaunas, Lithuania

<sup>2</sup>Institute of Botany, Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania

[Irena.macioniene@ktu.lt](mailto:Irena.macioniene@ktu.lt)

The aim of this work was to investigate the antibacterial activity of lactic acid bacteria and essential oils on the growth of *Xanthomonas* spp. strains detected in plants growing in Lithuania.

The research objects were *Xanthomonas* spp. strains isolated from root nodules and plant stems: *Xanthomonas translucens* NRCIB X6, *X. arboricola* NRCIB X7, *X. arboricola* NRCIB X8, *X. arboricola* NRCIB X9, *X. arboricola* NRCIB X10; the supernatants of *Lactococcus lactis* 140/2, *L. lactis* 57, *L. lactis* 768/5, *Lactobacillus helveticus* 14, *L. helveticus* 148/3, *L. helveticus* R, *L. helveticus* 3, *L. reuteri* 3, *L. reuteri* 7, *Streptococcus thermophilus* 43, *Enterococcus faecium* 59-30, *E. faecium* 41-2 strains; lavender (*Lavandula angustifolia*), grapefruit (*Citrus paradisi*), pine (*Pinus sylvestris*), thyme (*Thymus vulgaris*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), peppermint (*Mentha piperita*), lemon (*Citrus limetta*) 1 % (v/v) and 2 % (v/v) essential oils.

The antibacterial activity of tested substances was determined by agar diffusion method. Supernatants of *L. reuteri* 7, *L. helveticus* 14, *L. helveticus* R, *L. helveticus* 3, *L. helveticus* 148/3 were found to have a good antimicrobial activity against *Xanthomonas* spp. bacteria strains when compared to control solution – 1.0 % copper sulfate (diameter of inhibition zones was 28.8±0.7 mm). The diameter of inhibition zones of supernatants ranged from 24.5±0.6 mm to 32.0±0.8 mm. The antibacterial properties of 2 % (v/v) thyme (*Thymus vulgaris*) essential oils showed a moderate and strong antibacterial activity against *Xanthomonas* spp. strains growth (inhibition zones 18.0±0.1–28.0±0.2 mm in diameter). Grapefruit (*Citrus paradisi*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) 2 % (v/v) essential oils showed a moderate antibacterial activity against *Xanthomonas* spp. strains growth (the diameter of inhibition zones were 11.0±0.1–14.5±0.5 mm and 13.5±0.0 – 15.5±0.1 mm, respectively).

## B12. ANALYSIS OF MICROORGANISMS IN SANDBOXES IN URBAN AREA

Asta Aleksandravičienė<sup>1,2</sup>, Monika Mažeikaitė<sup>1</sup>, Žaneta Maželienė<sup>1,3</sup>, Ingrida Viliušienė<sup>1</sup>, Loreta Gričiuvienė<sup>2</sup>, Daiva Šakienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Technologies and Dietetics, Kaunas University of Applied Sciences, Lithuania

<sup>2</sup>Department of Biology, Vytautas Magnus University Kaunas, Lithuania

<sup>3</sup>Institute of Microbiology and Virology, University of Health Sciences, Lithuania

[monika.ma93369@go.kauko.lt](mailto:monika.ma93369@go.kauko.lt)

Sand is one of the main objects for children's play and sandboxes can be found in almost all courtyards and playgrounds. Children, a high-risk group, can acquire infections from sand in sandboxes, they tend to eat sand while playing in sandboxes or through dirty hands can become infected with enteric infections. Symptoms of infection caused by microorganisms can range from mild to severe or even fatal, especially in infected children. The aim of this study was to evaluate the microbial contamination of sandboxes and sand toys in the yards of apartment buildings.

Sandboxes of children's playgrounds installed in the public yards of Kaunas city Dainava district were investigated. Samples were collected from sandboxes, from toys in sandboxes, and taken sand samples during the autumn (in 2022 October) and the winter (in 2022 December) seasons in the same place. The microbiological test relied on the washing method, indicators of microbial contamination were searched for: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. and *Enterococcus* spp. The evaluation of the microbiological contamination test for washing consists of six steps: sampling, preparation and quality control of the media, primary inoculation, inoculation of the samples into secondary media, identification of the microorganisms detected in the samples and evaluation of the results.

In total of 60 analysed samples the highest number was detected *Enterococcus* spp. (26.7 % 16/60), then *E. coli* (11.7 % 7/60), *Salmonella* spp. (6.7 % 4/60), and the least *S. aureus* (1.7 % 1/60). In this study, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp. and *E. coli* were detected in the samples collected from the edges of sandy toys and sandbox surfaces during the autumn season. During the winter season there were found *S. aureus* (on the surface of the toys in the sand), *Enterococcus* spp. on the surfaces of the edges of the sandboxes and the surfaces of the toys in the sand, as well as *E. coli* on the surfaces of the toys and sandboxes.

## **B13. MELSVABAKTERIŲ GAMINAMŲ MIKROCISTINŲ ĮVAIROVĖ KURŠIŲ MARIOSE**

Donata Overlingė<sup>1</sup>, Anna Toruńska-Sitarz<sup>2</sup>, Marija Kataržytė<sup>1</sup>, Renata Pilkaitytė<sup>1</sup>, Greta Gyraitė<sup>1</sup>, Hanna Mazur-Marzec<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jūros tyrimų institutas, Klaipėdos Universitetas, Lietuva

<sup>2</sup>Jūrų biotechnologijų departamentas, Gdanskio Universitetas, Lenkija

[donata.overlinge@ku.lt](mailto:donata.overlinge@ku.lt)

Melsvabakterės – seniausi mūsų planetos fotosintetiniai prokariotiniai mikroorganizmai, atliekantys svarbų vaidmenį vandens ekosistemose. Esant palankioms sąlygoms šie mikroorganizmai formuoja žydėjimus, kurie gali turėti neigiamos įtakos vandens kokybei pakrančių ir vidaus vandens ekosistemose. Nors melsvabakterės nelaikomos patogeniniais mikroorganizmais, jų sintetiniai toksinai gali turėti neigiamą poveikį gyvų organizmų, tarp jų ir žmonių, sveikatai. Vieni iš pagrindinių melsvabakterių sintetinių toksinų yra mikrocistinai. Ši toksinų klasė yra svarbus vandens kokybės rodiklis rekreacinėse vietovėse ir remiantis Pasaulinės sveikatos organizacijos (2021) rekomendacijomis, mikrocistinų tyrimai turėtų būti atliekami vertinant vandens kokybę maudyklose.

2018–2020 metais buvo atliktas Kuršių marių kokybinis mikrocistinų įvairovės vertinimas. Vandens mėginiai buvo surinkti gegužės–spalio mėnesiais Nidoje. Mikrocistinai buvo analizuojami skysčių chromatografijos-masės spektrometrijos (LC-MS/MS) metodu. Iš viso Kuršių mariose buvo apibūdinta 20 skirtingų mikrocistinų variantų, tarp kurių trys ( $m/z$  1057,  $m/z$  1075,  $m/z$  1068) priskiriami kaip potencialiai nauji, iki šiol nežinomi mokslui. Dažniausiai mėginiuose buvo aptinkami MC-LR, MC-RR ir MC-YR mikrocistinų variantai. Tarp visų aptiktų mikrocistinų, MC-LR, MC-HiLR, MC-LY, MC-YR priklausė labai toksiškiems variantams. Sezoninė mikrocistinų dinamika bei nustatyti reikšmingi jų įvairovės skirtumai mėginiuose atskleidė potencialius pokyčius melsvabakterių populiacijų lygmenyje bei kelių jų chemotipų egzistavimą Kuršių mariose. Atliekant tik bendrą mikrocistinų kiekio vertinimą, didžiausias trūkumas yra nepakankamas standartų buvimas, kurių pagalba galime apskaičiuoti tik dalies aptinkamų mikrocistinų variantų koncentracijas. Tai gali kelti grėsmę netiksliam rizikos įvertinimui. Tyrimo rezultatai parodė, kad mikrocistinų įvairovės vertinimas yra labai svarbus siekiant kuo tiksliau įvertinti keliamą jų riziką žmonių sveikatai.

Padėka. Finansavimą skyrė Lietuvos mokslo taryba (LMTLT), sutarties Nr. S-MIP-20-31, Klaipėdos universiteto, Jūros tyrimų instituto, Ekologijos ir aplinkotyros studijų programa (D. Overlingei) ir Gdanskio universiteto statutinė programa (Nr. DS/D531-G260-D424–19).

# B14. MOLECULAR DETECTION OF BACTERIAL PATHOGENS IN BATS BLOOD

Povilas Sakalauskas<sup>1</sup>, Algimantas Paulauskas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Vytautas Magnus University, Lithuania  
[povilas.sakalauskas@vdu.lt](mailto:povilas.sakalauskas@vdu.lt)

Bats (Chiroptera) are distributed worldwide and the second largest order of mammals (next to rodents) recognized as reservoirs or carriers of numerous species of viruses, bacteria and protozoan parasites, some of them with zoonotic potential to infect other animals or humans. They also host a range of ectoparasites (e.g. ticks, mites, bat flies, fleas) that might play a role in the transmission of pathogenic microorganisms. Additionally, the evolution of flight in bats yielded inadvertent consequences on their immune functioning, and therefore bats are special in their capacity to act as reservoir hosts for bacterial pathogens. Bats frequently reach high population densities in or near urban habitats, and their ticks may blood-feed on humans, which further increases their veterinary-medical importance.

During the 2020-2021 bat blood samples were collected. Screening of *Bartonella*, *Rickettsia* and *Borellia* pathogens were done using real time PCR targeting SsrA, gltA, 23S rRNA genes respectively. Presence of *Mycoplasma* were detected using conventional PCR amplified 16S rRNA gene.

## **B15. BORRELIA SPP. IN IXODES RICINUS TICKS FROM URBAN PARKS IN LITHUANIA**

Justina Snegiriovaitė, Jana Radzijeuskaja, Algimantas Paulauskas

Faculty of Natural Sciences, Vytautas Magnus University, Lithuania  
[justina.snegiriovaite@vdu.lt](mailto:justina.snegiriovaite@vdu.lt)

*Ixodes ricinus* is the primary vector of *Borrelia* spp bacteria from the Lyme borreliosis and the relapsing fever groups. Ixodid ticks are increasingly recognised as important vectors of pathogens in urban and periurban areas, including green spaces used for recreational activities. In Lithuania, the risk posed by ticks in such areas is largely unknown. This study aimed to investigate the prevalence of *Borrelia* spp in ticks from urban areas in Lithuania. A total of 361 questing ticks, including adults (male and female), nymphs, and larvae, were collected from 11 urban parks during the spring season in 2021. All ticks were identified as *I. ricinus* based on morphological criteria. The presence of *Borrelia* spp. in ticks was examined using real-time PCR. *Borrelia*-positive ticks were found in eight city parks. The overall infection rate of *Borrelia* spirochaetes in questing *I. ricinus* was 26.5% (96/361). Phylogenetic analysis based on partial outer surface protein A (*ospA*) gene and 16S-23S *rrs-rrlA* intergenic spacer region was used to identify *Borrelia* species. Four *Borrelia* species were detected, including three species from *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex - *B. afzelii*, *B. garinii*, and *B. burgdorferi* sensu stricto and *B. miyamotoi* - from the relapsing fever group. This study demonstrates a potential risk of Lyme borreliosis and relapsing fever occurring in urban areas in Lithuania.

## B16. SEROLOGINIS LEPTOSPIROZĖS PAPLITIMAS SUMEDŽIOTŲ ŠERNŲ POPULIACIJOJE

I. Stalalienė<sup>1</sup>, G. Zamokas<sup>1</sup>, B. Karvelienė<sup>1</sup>, M. Masiulis<sup>1</sup>, J. Juodytė<sup>1</sup>, J. Buitkuvienė<sup>2</sup>,  
J. Šakalienė<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dr. L. Kriaučeliūno smulkiųjų gyvūnų klinika, LSMU Veterinarijos akademija, Lietuva

<sup>2</sup>Serologinių tyrimų skyrius, Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas, Lietuva  
[Inga.Stadaliene@ismuni.lt](mailto:Inga.Stadaliene@ismuni.lt)

Leptospirozė yra plačiai paplitusi zoonozinė spirochetų sukelta liga, kurios rezervuaras yra laukiniai gyvūnai. Šernai yra viena iš laukinių gyvūnų rūšių, kuriuose nustatoma *Leptospira* spp. Šio tyrimo tikslas buvo nustatyti serologinį leptospirozės paplitimą Lietuvos sumedžiotų šernų populiacijoje. Tyrimas vykdytas 2021 m. gegužės-liepos mėnesiais ir ištirti 406 šernų kraujo serumai naudojant mikroaglutinacijos testą (MAT).

Tyrimo metu nustatytas 19,7 proc. leptospirozės paplitimas, tačiau skirtingais mėnesiais paplitimas skyrėsi. Didžiausias seroteigiamų šernų procentas aptiktas liepos mėnesį – 43,3 proc. (95 proc. PI 33,3 - 53,8), lyginant su gegužės (11,9 proc., 95 proc. PI 6,6-19,1 proc.) ir birželio (12,6 proc., 95 proc. PI 8,2 - 18,1 proc.) mėnesiais. Didžiausias užsikrėtimas nustatytas *L. copenhageni* - 45 proc. (95 proc. PI 33,8 – 56,5), *L. bratislava* - 40 proc. (95 proc. PI 29,2 - 51,6) ir *L. canicola* - 35 proc. (95 proc. PI 24,7 - 46,5). Mažesnis užsikrėtimas nustatytas *L. sejroe* - 17,5 proc. (95 proc. PI 9,9 - 27,6), *L. grippotyphosa* - 8,7 proc. (95 proc. PI 3,6 - 17,2), *L. saxcoebing* - 6,3 proc. (95 proc. PI 2,1 - 14,0), *L. tarassovi* - 5 proc. (95 proc. PI 1,4-12,3), *L. pomona* - 2,5 proc. (95 proc. PI 0,3 - 8,7). Net 30 proc. seroteigiamų šernų buvo teigiami daugiau nei vienam leptospirų serovarui.

Mūsų tyrimo rezultatai rodo, kad šernai yra potencialus leptospirozės šaltinis kitiems laukiniams ir naminiams gyvūnams bei žmogui, ypač medžiotojams.



# **B17. MOLECULAR IDENTIFICATION OF *SARCOCYSTIS* PARASITES IN SMALL INTESTINES OF MUSTELIDS AND NORTHERN GOSHAWK FROM LITHUANIA**

Tautvilė Šukytė<sup>1</sup>, Donatas Šneideris<sup>1</sup>, Evelina Juozaitytė-Ngugu<sup>1</sup>, Dalius Butkauskas<sup>1</sup>, Darija Moskaliova<sup>1</sup>, Dominyka Vaitiekūnaitė<sup>1</sup>, Dovilė Kovaliūnaitė<sup>1</sup>, Petras Prakas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania  
[tautvile.sukyte@gmail.com](mailto:tautvile.sukyte@gmail.com)

Members of genus *Sarcocystis* are worldwide distributed protozoan parasites infecting reptiles, birds and mammals. Sarcocysts are formed in muscles or CNS of intermediate host, whereas oocysts and sporocysts develop in the small intestine of definitive host. Canids, felids, and some laboratory animals were mostly examined as potential definitive hosts of *Sarcocystis*. While there is little known on the role of mustelids and predatory birds for the spread of *Sarcocystis*. Species of these parasites cannot be differentiated based on morphology of oocysts and sporocysts found in definitive hosts. The aim of the study was to molecularly identify *Sarcocystis* species in intestinal samples of mustelids and Northern goshawk (*Accipiter gentilis*).

In the period of 2020-2022, small intestine samples of 94 mustelids belonging to 5 species (*Neovison vison*, *Martes foina*, *Martes martes*, *Meles meles* and *Mustela putorius*) and of 11 Northern goshawks were examined. Overall, 18 *Sarcocystis* species using birds and predatory mammals as intermediate hosts were tested. *Sarcocystis* species were identified using nested-PCR targeting highly variable ITS1 and subsequent sequencing. The specificity of primers was checked using DNA extracted from sarcocysts.

In examined mustelid samples *S. rileyi* and *S. wenzeli* were identified. Whereas *S. cornixi*, *S. halioti*, *S. wobeseri*, *S. turdusi*, *S. kutkieniae*, *S. columbe*, *S. calchasi*, *S. lari* and *S. lutrae* were confirmed in samples of Northern goshawk. Of the determined species only *S. lutrae* employs predatory mammals as definitive hosts. It was for first time established that the Northern goshawk can be definitive hosts of *S. kutkieniae*, *S. lari* and *S. wobeseri* and that mustelids can spread *S. rileyi* and *S. wenzeli*. It should be noted that identified *S. calchasi*, *S. halioti* and *S. wenzeli* are pathogenic for birds. In conclusions, the suggested technique can help to elucidate predators spreading *Sarcocystis* parasites without complex transmission experiments.

## **B18. ETERINIŲ ALIEJŲ POVEIKIS [PSI] PRIONUI SACCHAROMYCES CEREVISIAE LĄSTELĖSE**

Justina Versockienė, Toma Balnionytė, Audrius Gegeckas, Eglė Lastauskienė

Mikrobiologijos ir Biotechnologijos katedra, Biomokslų institutas, Vilniaus Universitetas  
[justina.versockiene@gmc.vu.lt](mailto:justina.versockiene@gmc.vu.lt)

Prionai – tai baltyminės infekcinės dalelės, kurios veikia kaip patogenai ir lemia mirtinų neurodegeneracinių ligų išsivystymą žmogaus ir kitų gyvūnų organizmuose. Keliais tyrimais buvo nustatyta, kad padidėjęs oksidacinis stresas ir uždegiminės reakcijos yra susijusios su prioninių ligų progresavimu, o antioksidacinėmis ir priešuždegiminėmis savybėmis pasižymintys natūralūs polifenoliniai junginiai daro teigiamą įtaką prioninių ligų gydymui. Puikūs antioksidacinių junginių mišinių pavyzdžiai yra eteriniai aliejai (EA). Šio tyrimo metu buvo siekiama nustatyti EA įtaką [PSI] priono agregatų eliminacijai ir [PSI] priono agregatų susidarymui mielių *S. cerevisiae* ląstelėse.

Ląstelės turinčios [PSI] prioną buvo auginamos turtingoje terpėje su skirtingomis rozmarino, cinamono, raudonėlio ir gvazdikėlių EA koncentracijomis. Ląstelių mėginiai surenkami iš skirtingų augimo fazių ir įvertinamas [PSI] eliminacijos efektyvumas. Dalis ląstelių mėginių paveikiama impulsiniu elektriniu lauku (IEL) siekiant nustatyti sinergistinę eliminacijos poveikį. Nustatytas eliminacijos efektyvumas naudojant EA be IEL (ir su IEL): rozmarino – 1,46 % (1,26 %), cinamono – 1,82 % (4,55 %), raudonėlio – 2,7 % (1,28 %), ir gvazdikėlių – 4,08 % (3,88 %). Ląstelės neturinčios [PSI] priono buvo auginamos prionizacijos terpėje su skirtingomis rozmarino, cinamono, raudonėlio ir gvazdikėlių EA koncentracijomis. Nustatyta, kad gvazdikėlių EA statistiškai reikšmingai vėlina [PSI] atsiradimą *S. cerevisiae* ląstelėse.

Taigi, EA gali būti naudojami kaip [PSI] eliminacijos veiksniai, tačiau reikalingi papildomi optimizacijos tyrimai siekiant padidinti [PSI] eliminacijos efektyvumą. Taip pat, gvazdikėlių EA gali būti naudojamas [PSI] priono prevencijai.

## C1. THE EFFECT OF DIFFERENT CARBON SOURCES ON BACTERIAL CELLULOSE PRODUCTION

Balvočius V., Juzėnaitė E., Krakausaitė U., Kurapkienė A., Kumaran S.N., Leveckytė J., Minelgaitė V., Petrikaitytė A., Tamašauskaitė L., Večkienė L., Šipailienė A.

Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology, Lithuania  
[vidmante.minelgaite@ktu.edu](mailto:vidmante.minelgaite@ktu.edu)

The unique nanofibrillar structure of bacterial cellulose (BC) confers excellent physical and mechanical properties such as high porosity, high elastic modulus, high moisture-holding capacity, high durability, high liquid absorbing capabilities, biostability, biodegradability and high crystallinity. Bacterial cellulose is composed of cellulose nanofibers obtained using bottom-up synthesis by few but specific microbial genera – *Acetobacteraceae* family *Komagataeibacter xylinus* (before named *Gluconacetobacter xylinus*) bacteria.

The general objective of this study was to investigate the effect of different carbon sources, D-glucose, sucrose, glycerol and black currant pomace powder, on bacterial cellulose production.

The production of bacterial cellulose with different carbon sources was examined in modified Hestrin-Shramm medium. The purification of BC was performed by washing with 0,5M NaOH and the yield was calculated. The thickness of BC was measured by a digital outside micrometer (Mitutoyo, Japan, code: 547-301-AR2). The antimicrobial activity BC was investigated against *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Salmonella typhimurium* ATCC14028 and *Bacillus subtilis* ATCC6633.

The results showed that glucose gave the highest yield, increasing the initial BC mass approximately 10,4 times. The use of glycerol gave slightly lower yield of BC, increasing initial BC mass by 9,3 times, but it was thicker (3,5 mm) than BC from glucose (2,4 mm). The lowest yield and thickness of BC was accomplished with pomace powder as a carbon source. The highest antimicrobial activity against *B. subtilis*, *S. aureus* and *S. typhimurium* was of BC produced with sucrose compared to BC from glycerol and glucose. BC from pomace powder did not show any antibacterial activity against tested bacteria.

To conclude, this research demonstrates that glucose and glycerol can be used as potential carbon sources for BC production. Meanwhile, black currant pomace powder is not appropriate as carbon source for production of BC.

## C2. HIGH CONTENT ANALYSIS OF CHERRIES-ASSOCIATED MYCOBIOTA

Ramunė Stanevičienė<sup>1</sup>, Juliana Lukša<sup>1</sup>, Živilė Strazdaitė-Žielienė<sup>1</sup>, Bazilė Ravoitytė<sup>1</sup>, Regina Losinska-Sičiūnienė<sup>1</sup>, Elena Servienė<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Nature Research Centre, Laboratory of Genetics, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lithuania

[ramune.staneviciene@gamtc.lt](mailto:ramune.staneviciene@gamtc.lt)

Sour cherries (*Prunus cerasus L.*) and sweet cherries (*P. avium L.*) are economically important fruits with high potential in the food industry and medicine. The cherries are highly colonized by various bacterial and fungal microorganisms with potential pathogenic and beneficial features. The pattern of microbial population is affected by environmental changes and postharvest processing, plant species and ripening stage as well as biocontrol ability and interactions of fruit-inhabiting microorganisms. In this study, we analyzed fungal microorganism communities associated with the carposphere of sour and sweet cherries that were freshly harvested from private plantations and purchased in a food store. Following DNA isolation, a DNA fragment of the ITS2 rRNA gene region of each sample was individually amplified and subjected to high-throughput Next Generation Sequencing (NGS) sequencing. Analysis of 168,933 high-quality reads showed the presence of 690 fungal taxa. The highest number of amplicon sequence variants (ASVs) was observed in sour cherries harvested from private plantation, next followed sweet cherries, and the lowest number was in store-purchased sour cherries. Investigation of microbial ASVs diversity revealed plant-dependent and postharvest handling affected fungal microorganism assemblages. Among the microorganisms inhabiting tested berries, potentially advantageous, possessing biocontrol features, or dangerous fungal microorganisms were detected. Our study provides valuable data on the differences in mycobiota structure of environmental, freshly collected berries and those purchased from a food store. The prominent biocontrol activity of isolated cultivable yeasts against potentially pathogenic microorganisms highlights prospects of these strains for disease management.

This research was funded by European Social Fund (09.3.3-LMT-K-712-01-0099) under grant agreement with the Research Council of Lithuania (LMTLT).

### **C3. BIOLOGIŠKAI VEIKLIŲ MEDŽIAGŲ IR SAUGOS RODIKLIŲ YPATYBĖS BALTIJOS ŠALIŲ SKIRTINGŲ REGIONŲ MIŠKO UOGOSE**

Antanas Šarkinas<sup>1,2</sup>, Natalja Makštutienė<sup>1</sup>, Indrė Jonavičienė<sup>1</sup>, Alviša Šalaševičienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Maisto institutas, Kauno technologijos universitetas, Radvilėnu g. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva

<sup>2</sup>Maisto mokslo ir technologijos katedra, Kauno technologijos universitetas, Radvilėnu g. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva

[antanas.sarkinas@ktu.lt](mailto:antanas.sarkinas@ktu.lt)

Vykdamas projektą „*NovelBaltic*“, kartu su Latvijos, Norvegijos, Suomijos mokslinio tyrimo institucijomis ir partneriu iš Lietuvos, LAMMC Sodininkystės ir daržininkystės institutu įvertinti kiekvienos šalies keturių skirtingų lokacijų mėlynių ir bruknių uogų saugos rodikliai, nustatytos jų mikrobiologinio užterštumo ypatybės ir biologiškai aktyvių komponentų kiekiai pagal uogų ekstraktų antimikrobinio efektyvumo skirtumus.

Tyrimams partneriai pateikė šaldytų uogų mėginius. Taip pat buvo analizuojamos Lietuvos įmonėse perdirbamų šaldytų, džiovintų, liofilizuotų uogų ypatybės.

Projektas vykdytas 2019-2021 metais.

Uogos yra ir tiesioginiam vartojimui skirtas maisto produktas, todėl svarbūs yra jų saugos rodikliai. Buvo įvertintas bendras mikroorganizmų skaičius, KSV/g, β-gliukuronidazę gaminančių žarninių lazdelių skaičius, KSV/g, enterobakterijų skaičius prie 37 °C, KSV/g, monocitogeninių listerijų aptikimas 25 g, salmonelių aptikimas 25 g, mielių skaičius, KSV/g, pelėsinų grybų skaičius, KSV/g, numanomų vaškinių bacilų skaičius prie 30 °C, KSV/g, koagulazę gaminančių stafilokokų skaičius, KSV/g. Patogeniniai mikroorganizmai uogose nebuvo rasti.

Įvairios miško uogos vertingos ne tik savo maistine verte ar kaip vitaminų šaltinis, iš jų gali būti gaunami funkcionaliomis savybėmis pasižymintys komponentai, kaip antocianinai, flavonoidai ir kitos medžiagos. Funkcionaliųjų komponentų kiekius atspindi ekstraktų antimikrobinis efektyvumas. Vienas iš metodų antimikrobinio aktyvumo įvertinimui yra difuzijos į agarą būdas. Parinkta metodika įsisavinta ir išbandyta tiriant įvairių uogų ekstraktus, kaip testavimo kultūras naudojant saprofitinius ir patogeninius mikroorganizmus bei mieles. Uogų ekstraktai slopino testavimo kultūrų augimą.

*The research was carried out during the project „Market driven authentic Non-Timber Forest Products from the Baltic region - focus on wild and semi cultivated species with business potential (NovelBaltic)“.*

## C4. ANTIMICROBIAL POTENCY OF ESSENTIAL OILS

Iglė Vepškaitė-Monstavičė<sup>1</sup>, Algirdas Valys<sup>1,2</sup>, Živilė Strazdaitė-Žielienė<sup>1</sup>, Saulius Serva<sup>2,3</sup>, Elena Servienė<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Life Sciences Center of Vilnius University, Lithuania

<sup>3</sup>Department of Chemistry and Bioengineering, Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lithuania  
[igle.vepstaiite-monstavice@gamtc.lt](mailto:igle.vepstaiite-monstavice@gamtc.lt)

The constant increase of multidrug-resistant bacteria poses a threat to human health and underlines the importance of alternative solutions replacing chemical antimicrobials. Plant-based materials, including essential oils (EOs), have developed high interest in food industry and healthcare because of their pronounced antimicrobial properties, ecofriendly nature and recognized safe status. EOs can be defined as complexes of hydrophobic and volatile substances extracted from various parts of the aromatic plants such as flowers, seeds, leaves, fruits, roots, etc. The antimicrobial activity of EOs depends on their composition and features of the target microorganisms. The efficacy of EOs against a wide range of microorganisms has been demonstrated; however, the exact mechanism of the action has not been completely elucidated. The aim of this work was to investigate the antimicrobial effect of EOs on the potentially pathogenic Gram-positive and Gram-negative bacterial species. The antibacterial activity of fourteen EOs was tested using direct contact and evaporation test modes. Differing efficacy of EOs was observed based on their composition. Using direct contact approach, five EOs were found to be effective against all bacteria tested, of which oregano EO had the strongest effect. *E. coli* was inhibited by all EOs studied except that from juniper, and *P. aeruginosa* was the most resistant to all EOs tested. The evaporation test showed that volatiles of EOs expressed stronger antimicrobial activity on Gram-positive bacteria than on Gram-negative ones. In the direct contact, a larger proportion of EOs inhibited the growth of bacteria, but their effect was weaker than that of volatiles. The obtained data will extend the application fields of EOs, increase their potential for solving of food safety problems, preventing multidrug-resistant microbe spreading and maintaining human health.

This research was funded by the Research Council of Lithuania project No. S-DNR-20-2.

# D1. INVESTIGATION OF BACTERIOPHAGE PROTEINS AGAINST BACTERIAL DEFENCE SYSTEMS

Jonuškytė A.<sup>1</sup>, Šimoliūnas E.<sup>1</sup> and Šimoliūnienė M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Centre, Vilnius University, Saulėtekio av. 7, Vilnius, Lithuania  
[akvile.jonuskyte@gmc.stud.vu.lt](mailto:akvile.jonuskyte@gmc.stud.vu.lt)

Bacteriophages have various strategies of protecting their DNA during infection including DNA-modifying enzymes, that protect the viral DNA from the bacterial restriction-modification systems. Another strategy is phage enzymes that inactivate CRISPR/Cas or toxin-antitoxin systems. Bacteriophage-encoded proteins against bacterial defence systems have an enormous potential of application in medicine and biotechnology, but unfortunately, they are not sufficiently studied to date.

In this study, four proteins of newly isolated bacteriophages from gypsum karst lakes, gp128 and gp92 of *Bacillus* phage KLEB27-3, gp57 of *Paracoccus* phage KLEP18-1 and gp95 of *Pseudaeromonas* phage KLEP7 were under the investigation. Bioinformatic and phylogenetic analysis of these proteins were performed. It was demonstrated that gp128 of KLEB 27-3 is a potential uracil-DNA glycosylase which has no close homologues to phage proteins presented in publicly available databases (it shares 35 % aa identity to uracil-DNA glycosylase of *Bacillus* bacteriophage SP-15). The gp92 of KLEB27-3 is the closest to CRISPR-associated exonuclease (Cas4 family) of *Bacillus* phage vB\_BceM\_WH1 (56 % aa identity). Phage KLEP18- 1 encodes gp57, which is a potential restriction alleviation protein Lar homologous to hypothetical protein FDH44\_gp122 of *Sphingobium*-infecting phage Lacusarx (55.98 % aa identity). The gp95 of KLEP7 is a potential antitoxin HicB which shares the highest aa identity (55.36 %) to HicB family antitoxin of *Pseudomonas sp. Irchel* s3b2 toxin-antitoxin system. Because all of the aforementioned proteins do not have any close homologues, they potentially exhibit unique properties that are worth to investigate in more detail. To study the potential activity of recombinant gp128, gp92, gp57 and gp95 *in vitro*, the genes encoding appropriate proteins were amplified by a PCR and cloned into inducible vectors pET16b and pET21a (recombinant proteins with a His-Tag attached to their N- or C-terminus were constructed). All of the proteins will be produced in various bacterial strains and tested in further experiments in order to determine their activity *in vitro*.

Results of this study not only extend our knowledge about bacteriophage proteins against bacterial defence systems, but also give new insights about potential applicability of the aforementioned enzymes in medicine, biotechnology, ecology and other areas.

This research was funded by Research Council of Lithuania (Grant No. S-MIP-20-38).

## D2. INVESTIGATION OF TAIL FIBER PROTEIN GP24 FROM *PANTOEA AGGLOMERANS*-INFECTING PHAGE VB\_PAGS\_AAS23

Krylovaitė E.<sup>1</sup>, Šimoliūnas E.<sup>1</sup>, Šimoliūnienė M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Saulėtekio av. 7, Vilnius, Lithuania  
[emilija.krylovaite@gmc.stud.vu.lt](mailto:emilija.krylovaite@gmc.stud.vu.lt)

*Pantoea* is a genus of bacteria that exhibits antibiotic resistance. Although such bacteria can be eliminated by bacteriophages and their proteins depolymerases, which degrade bacterial surface polysaccharides, *Pantoea*-infecting viruses remain underexplored to date. Hence, we aimed to study *P. agglomerans*-infecting phage vB\_PagS\_AAS23 (AAS23) by investigating the probable depolymerase-like activity of its tail fiber protein gp24 *in vitro*.

Bioinformatics and phylogenetic analyses showed that gp24 has no close homologs to any phage proteins deposited in publicly available databases, but it does have the highest aa identity (31%) to tail fiber protein of *Shigella* phage SH6. According to the analyses gp24 has a C-terminal Peptidase\_S74 domain frequently found in a type of depolymerases - endosialidases. Results of the analyses showed that gp24 is a unique protein that potentially has depolymerase-like properties, which is why a more detailed analysis of this protein is necessary.

To study the potential activity of gp24 *in vitro*, the *g24* of AAS23 was cloned into two inducible vectors (with His-Tag) with the goal of them to be expressed in *E. coli* BL21 (DE-3) cells. The proteins were purified and analysed by SDS-PAGE, which showed that proteins are soluble and are the size of approximately 50 kDa. To test the activity of recombinant gp24 the spot test on a double-layer agar using *P. agglomerans* strain AUR was used. The Petri dishes were incubated for 20 h at 22-24 °C, 30 °C and 37 °C. The results showed that only gp24N-his forms a turbid zone, known to be a hallmark of a depolymerase activity, at 22-24 °C and 30 °C. This not only proves that gp24 demonstrates a depolymerase activity, but also lets us speculate that the activity domain of gp24 is in its C-terminus. The test-spot was repeated with different concentrations of MgSO<sub>4</sub>, speculating that Mg<sup>2+</sup> ions might be beneficial to the activity domain of gp24. The results showed, that the gp24N-his is active at all three temperatures, which shows that Mg<sup>2+</sup> ions are important to the activity of gp24.

Results of this study not only extend our knowledge about *Pantoea*-infecting viruses, but also imply that some of them potentially might be used as biocontrol agents due to their proteins depolymerases.

This research was funded by Research Council of Lithuania (Grant No. S-MIP-20-38).



### **D3. INTERPLAY BETWEEN TOTIVIRIDAE L-A dsRNA VIRUS AND SACCHAROMYCES spp. HOST: INTEGRATIVE TRANSCRIPTOMIC AND PROTEOMIC ANALYSIS**

Juliana Lukša<sup>1,2</sup>, Bazilė Ravoitytė<sup>2</sup>, Elena Servienė<sup>2,3</sup>, Saulius Serva<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania

<sup>3</sup>Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lithuania

[Juliana.luksa@gamtc.lt](mailto:Juliana.luksa@gamtc.lt)

*Totiviridae* L-A virus is a dsRNA virus that persists in *Saccharomyces* yeast. It is responsible for virus replication and encapsulation, encodes the major structural capsid protein Gag and the Gag-Pol fusion protein. Virion structure also allows the copying of satellite dsRNAs (known as M dsRNAs) that encode a secreted toxin as well as immunity to it (killer toxin). Viral capsid pores presumably function in nucleotide uptake and viral mRNA release. Virions remain intracellular and are transferred to progeny during cell division, sporogenesis, and cell fusion.

Our goals were to identify changes in the transcription profile of *S. cerevisiae* genes directed by the presence of the *Totiviridae* L-A virus and to link them with host proteins physically associated with the virion's structural proteins.

To discover the transcriptional regulation related to the *Totiviridae* L-A virus, high-throughput RNA sequencing followed by bioinformatics analysis was performed. The transcriptional responses induced by L-A infection were similar to those induced by stress or nutrient availability. This observation also addresses the link between cell metabolism and L-A virus-induced demands on the host transcriptome by identifying host proteins, associated with the intact virions. We applied differential proteomic analysis of virus particle-enriched fractions of yeast strains with either a complete killer system (L-A-lus and M-2 virus), M-2 depleted, or virus-free to inventorise the virus-host interactions. As a result of our research, we were able to identify host proteins linked to virus structural proteins (Gag and Gag-Pol).

This research was funded by the European Social Fund under the No. 09.3.3-LMT-K-712-19-0157 "Development of Competences of Scientists, other Researchers and Students through Practical Research Activities" measure.

# D4. CHARACTERIZATION OF *PSEUDAEROMONAS* BACTERIOPHAGE KLEP7 ISOLATED FROM GYPSUM KARST LAKE ECOSYSTEM

Patricija Petrikonytė<sup>1</sup>, Monika Šimoliūnienė<sup>1</sup>, Martynas Skapas<sup>2</sup>, Rolandas Meškys<sup>1</sup> and Eugenijus Šimoliūnas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Saulėtekio av. 7, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Center for Physical Sciences and Technology, Saulėtekio av. 3, Vilnius, Lithuania  
[patricija.petrikonyte@gmc.stud.vu.lt](mailto:patricija.petrikonyte@gmc.stud.vu.lt)

*Pseudaeromonas* is a gram-negative bacteria from the family *Aeromonadaceae* that are widely common in various aqueous ecosystems such as freshwater bodies, river estuaries and sewage treatment plants. It has been demonstrated that members of *Aeromonadaceae* family can cause damage to fish farming and food industries. Furthermore, some bacteria of *Aeromonadaceae* family have shown a high resistance to antibiotics and, therefore, some *Aeromonas* bacteriophages have been identified and characterised in order to find potential alternatives for bacterial biocontrol. However, to our knowledge, neither publications, nor complete genome sequences of *Pseudaeromonas* bacteriophages have been deposited in publicly available databases to date.

In this study we present characterization of a novel bacteriophage vB\_PpeM\_KLEP7 (KLEP7) that has been isolated from a gypsum karst lake Kirkilai (Biržai, North Lithuania). Based on results of TEM analysis the phage KLEP7 is a myovirus with an isometric head of about 67 nm in diameter and a contractile, non-flexible tail about 77 nm in length and 16 nm in width. The host range determination tests revealed that out of 29 bacterial strains tested, only *Pseudaeromonas pectinilytica* isolate KR2-7 is sensitive to KLEP7. Efficiency of plating tests showed that KLEP7 is infective in the temperature range of 4 to 28°C, 15°C being the most optimal temperature for infection. KLEP7 forms clear plaques of about 1 mm in diameter. Adsorption experiments demonstrated that in selected conditions adsorption of the virus to bacterial cell is efficient. Also it was shown that the phage is not sensitive to chloroform under investigated conditions. Furthermore, restriction analysis suggests that KLEP7 DNA is potentially modified by methylation.

Results of this study not only extend our knowledge about *Pseudaeromonas* infecting viruses but can also contribute to future studies of bacteriophages as potential biocontrol agents.

This research was funded by Research Council of Lithuania (Grant No. 09.3.3.-LMT-K-712-25-0058).

## **D5. MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *AEROMONAS VERONII* INFECTING BACTERIOPHAGE vB\_AVES\_KLEA5**

Žukauskienė E.<sup>1</sup>, Šimoliūnienė M.<sup>1</sup>, Skapas M.<sup>2</sup>, Meškys R.<sup>1</sup> and Šimoliūnas E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Centre, Vilnius University, Saulėtekio av. 7, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Center for Physical Sciences and Technology, Saulėtekio av. 3, Vilnius, Lithuania

[emilija.zukauskiene@bchi.stud.vu.lt](mailto:emilija.zukauskiene@bchi.stud.vu.lt)

Fish farming is the fastest growing area of animal food production. Today, about half the fish consumed globally are raised in these artificial environments. Such bacteria like *Aeromonas veronii* can infect freshwater fish resulting in serious losses to the aquaculture industry and threatening food safety. Therefore, broad-temperature range bacteriophages could be useful for the prevention and therapy in aquaculture.

In this study, we present a characterization of a novel, ambient-temperature adapted, *Aeromonas*-infecting phage vB\_AveS\_KLEA5 (KLEA5) that has been isolated from a gypsum karst lake Kirkilai from North Lithuania. Based on the results of TEM analysis, phage KLEA5 is a siphovirus and has an isometric head of about 60 nm in diameter and a non-contractile flexible tail about 120 nm in length. The host range determination tests revealed that out of 36 bacterial strains tested, only *Aeromonas veronii* isolate KR2-5 is sensitive to KLEA5. Plating tests revealed that phage can form clear plaques of about 2 mm in diameter in the temperature range of 4 to 32°C, 22°C being the most optimal temperature for infection. Chloroform sensitivity tests showed that this phage is not sensitive to this detergent under investigated conditions.

The 44,022 bp genome of KLEA5 has a G+C content of 49.7 % and contains 71 probable protein encoding genes and no genes for tRNA. Comparative sequence analysis revealed that 23 out of 71 KLEA5 ORFs encode unique proteins that have no reliable identity to database entries. Of the remaining 48 proteins, based on search of protein homologs in databases, 29 ORFs of KLEA5 have been given a putative functional annotation, including genes coding for structural proteins as well as those associated with phage-host interactions, DNA metabolism and morphogenesis. A proteomic analysis led to the experimental identification of 9 virion proteins.

Results of this study not only extend our knowledge about *Aeromonas* infecting viruses but also imply that aforementioned broad-temperature adapted phage potentially could be used as phage-based biocontrol agent to regulate fish farming pathogens.

This research was funded by Research Council of Lithuania (Grant No. S-MIP-20-38).

### E1. SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ALLERGEN COMPONENTS ART V 3 FROM *ARTEMISIA VULGARIS* AND BET V 4 FROM *BETULA VERRUCOSA*

Laima Čepulytė<sup>1</sup>, Rasa Petraitytė-Burneikienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Eukaryote Genetic Engineering, Institute of Biotechnology, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania  
[laima.cepulyte@gmc.vu.lt](mailto:laima.cepulyte@gmc.vu.lt)

Allergic diseases are affecting the lives of many people worldwide. Globally, 300 million people suffer from asthma, about 200-250 million from food allergies, one tenth of the population suffers from drug allergies and 400 million from rhinitis [1]. Use of appropriate tests is required for accurate diagnosis and optimal therapy. The usefulness of commercial whole-allergen extracts is limited by many factors: they are difficult to standardize and have variable content of major and minor allergens. Sometimes important allergen components are even not present in the extracts. Furthermore, several studies found that these extracts can be contaminated by allergens from other sources, which can lead to false positive results [2]. Single recombinant allergen components could be used in allergy diagnostics and immunotherapy. These applications would improve diagnosis and treatment options for allergic patients [3].

In this study, two different allergen components – Art v 3 from *Artemisia vulgaris* (common mugwort) and Bet v 4 from *Betula verrucosa* (European white birch) – were investigated. *Artemisia vulgaris* elicits allergic reactions in 10-14% of pollinosis patients in Europe [4]. Birch pollen is the most dominant tree pollen in Central and Northern Europe and is a major cause of allergic rhinitis and, possibly, asthma symptoms [5]. Two different variants of these allergen components were synthesized in *E. coli*. One of these variants has N-terminal hexa-histidine tag and the other has MBP and hexa-histidine tag fused to the N-terminus. Synthesized proteins were purified under native conditions using Ni<sup>2+</sup> affinity chromatography and tested in an indirect enzyme-linked immunosorbent assay with previously characterized human blood samples. Results showed that all the recombinant allergen components synthesized during this work are potentially applicable for allergy diagnostics *in vitro*.

---

[1] Pawankar R. Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action. World Allergy Organ J. 2014;7(1):12.

[2] Curin M, Garib V, Valenta R. Single recombinant and purified major allergens and peptides. Ann Allergy Asthma Immunol. 2017;119(3):201-9.

[3] Valenta R, Karaulov A, Niederberger V, Zhernov Y, Elisyutina O, Campana R, et al. Allergen Extracts for In Vivo Diagnosis and Treatment of Allergy: Is There a Future? J Allergy Clin Immunol Pract. 2018;6(6):1845-55.e2.

[4] Gadermaier G, Hauser M, Ferreira F. Allergens of weed pollen: An overview on recombinant and natural molecules. Methods. 2014;66(1):55-66.

[5] Biedermann T, Winther L, Till SJ, Panzner P, Knulst A, Valovirta E. Birch pollen allergy in Europe. Allergy. 2019; 74: 1237– 48.

## **E2. INVESTIGATION OF SYNERGISTIC EFFECT OF ANTIMICROBIAL PHOTOINACTIVATION AND BACTERIOCINS ON THE DESTRUCTION EFFICIENCY OF BACTERIAL BIOFILMS**

Lukas Stasiulionis<sup>1</sup>, [Alisa Gricajeva<sup>1</sup>](mailto:alisa.gricajeva@gmc.vu.lt)

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Biotechnology, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania  
[alisa.gricajeva@gmc.vu.lt](mailto:alisa.gricajeva@gmc.vu.lt)

Bacterial biofilm is a sessile coordinated, functional communal form of bacterial life known to be more resistant to different physical and chemical external impacts than free-living bacteria. Biofilms can form on biotic and abiotic surfaces and are common in industrial food settings, water systems, hospitals, etc. and can have a huge impact on human infections. Due to inefficiency of traditional antimicrobials against bacterial biofilms, new inactivation and destruction technologies are in a high demand. One of the potential alternatives that provide many significant advantages is antimicrobial photoinactivation (API) - a technology based on interaction between non-toxic photosensitizers (PSs), molecular oxygen, and appropriate doses of visible light of a certain wavelength that excites the PS. During API cytotoxic oxygen forms and free radicals are formed. One of the major advantages of API is that the resistance of bacteria to API is unlikely to occur.

Gram-positive and Gram-negative planktonic bacteria can be inactivated significantly after exposure to API but the effect is weaker when applied to bacterial biofilms. As a result, ways of improvement of API are being sought.

The present study was carried out to test the efficiency of API-induced photodamage using natural PSs (riboflavin (RF) and chlorophyllin (Chl)) and pre-incubations with bacteriocins: recombinant Geo6 bacteriocin from *Parageobacillus thermoglucosidasius* DSM 2542 and nisin. Monocultural *Bacillus aerophilus* L1 and *Geobacillus stearothermophilus* 15 biofilms that are or can be important in the food industry, were chosen for the study as model organisms. Efficiency of the synergistic technology of API with bacteriocins on the destruction of biofilms was determined by counting the number of CFU and evaluating the ability of the biofilm-making cells to reduce alamarBlue™ by fluorescence. Results have shown that nisin improved RF- and Chl-based API against chosen bacterial biofilms significantly.

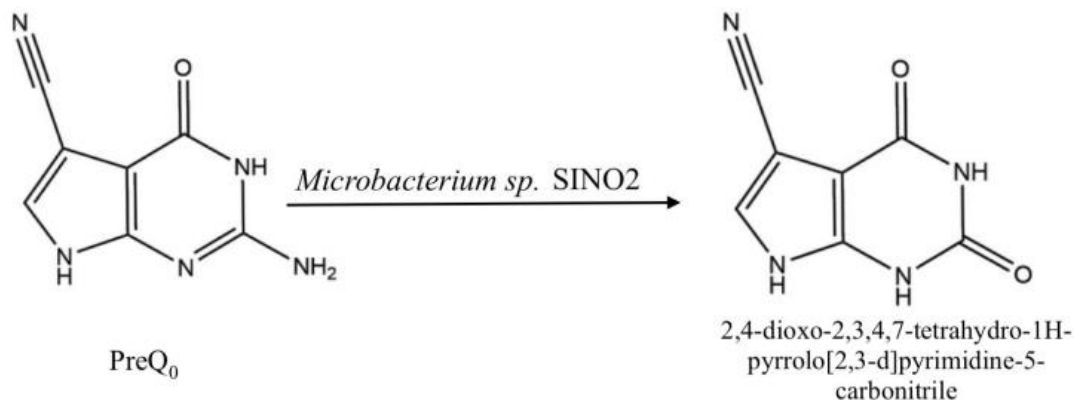
## E3. DEAMINATION OF PREQ<sub>0</sub> IN *MICROBACTERIUM* SP. SINO2

Goda Juršėnaitė<sup>1</sup>, Rolandas Meškys<sup>1</sup>, Jonita Stankevičiūtė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania  
[goda.jursenaite@gmc.stud.vu.lt](mailto:goda.jursenaite@gmc.stud.vu.lt)

Canonical nucleic acids undergo many natural modifications some as uncomplicated as methylation, hydration of double bond, deamination, or more complex ones like the incorporation of amino acids or monosaccharides. Hypermodification systems found in bacteria and phages reveal the potential and diversity of yet unknown modifications [1,2]. Modified bases due to their importance in transcriptional regulation are associated with various diseases. 7-Cyano-7-deazaguanine (PreQ<sub>0</sub>) is a biosynthetic precursor of the 7-deazaguanosine-modified tRNA nucleosides as well as a precursor to several natural products, such as toyocamycin and sangivamycin. Both of these pyrrolopyrimidine nucleosides and the PreQ<sub>0</sub> molecule itself are therapeutically interesting compounds known to have anti-cancer properties [3]. Although the synthesis of PreQ<sub>0</sub> has been extensively explored, the biodegradation pathway and the enzymes involved are still unknown.

Previously we isolated and identified soil bacteria *Microbacterium* sp. SINO2 that is capable of transforming PreQ<sub>0</sub> to 2,4-dioxo-2,3,4,7-tetrahydro-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine-5-carbonitrile (Fig. 1). In this study, we analyzed three hypothetical deaminases from *Microbacterium* sp. SINO2 that are likely to participate in the deamination of PreQ<sub>0</sub>.



**Figure 1.** Deamination of PreQ<sub>0</sub> by *Microbacterium* sp. SINO2.

[1] Bilyard, M., Becker, S. and Balasubramanian, S., 2020. Natural, modified DNA bases. *Current Opinion in Chemical Biology*, 57, pp.1-7.

[2] Turner, B., Burkhardt, B., Weidenbach, K., Ross, R., Limbach, P., Schmitz, R., de Crécy-Lagard, V., Stedman, K., Santangelo, T. and Iwata-Reuyl, D., 2020. Archaeosine Modification of Archaeal tRNA: Role in Structural Stabilization. *Journal of Bacteriology*, 202(8).

[3] Thiaville, J., Kellner, S., Yuan, Y., Hutinet, G., Thiaville, P., Jumpathong, W., Mohapatra, S., Brochier-Armanet, C., Letarov, A., Hillebrand, R., Malik, C., Rizzo, C., Dedon, P. and de Crécy-Lagard, V., 2022. Novel genomic island modifies DNA with 7-deazaguanine derivatives.

[4] Frances, A. and Cordelier, P., 2020. The Emerging Role of Cytidine Deaminase in Human Diseases: A New Opportunity for Therapy. *Molecular Therapy*, 28(2), pp.357-366.

# E4. MIKROGRYBELINIŲ BIOSORBENTŲ, MODIFIKUOTŲ METALO NANODALELĖMIS, SAVYBIŲ PROGNOSTINIS TYRIMAS

Elvija Liūtaitė<sup>1</sup>, Mantas Vaitkevičius<sup>2</sup>, [Violeta Vaitkevičienė<sup>1</sup>](mailto:violeta.vaitkeviciene@vdu.lt)

<sup>1</sup>Biochemijos katedra, VDU GMF, Lietuva

<sup>2</sup>Genetikos skyrius, Vilniaus Universiteto gyvybės mokslų centras, Lietuva  
[violeta.vaitkeviciene@vdu.lt](mailto:violeta.vaitkeviciene@vdu.lt)

Prognostinė mikrobiologija yra puikus sintetinės ir sistemų biologijos iššūkių įgyvendinimo būdas, jungiantis mikrobiologiją, matematiką ir statistiką. Tai plačiai taikoma praktika aplinkai draugišku būdu sukurti modelius, skirtus numatyti ir įvertinti cheminius procesus ląstelės sienelėje, esant įvairioms aplinkos sąlygoms.

Pusiausvyros modelis yra pirmasis žingsnis kuriant kinetinius modelius, kurie yra taikomi sprendžiant su biomasės sorbcijos geba susijusias problemas. Atsižvelgiant į chemines ir fizikines sąveikas su ląstelės sienelėje esančiomis aktyviomis grupėmis, biosorbciją įtakoja ne tik fiziniai veiksniai, bet ir tuo pačiu metu esantys įvairūs organiniai ir neorganiniai jonai bei biosorbuojančios medžiagos rūšis.

Metalo ir organinės medžiagos kompleksų įtaka metalų biosorbcijos savybėms nėra akivaizdi, tačiau metalo ir organinės medžiagos kompleksai gali būti aktyvesni nei atitinkamas kompleksas su neorganiniais ligandais. Šiame darbe pateikti sorbcijos modeliai sukurti siekiant suprasti ir numatyti metalų nanodalelių kaip temperatūros ir pH funkcijos įtaką biosorbcijos efektyvumui, substratu naudojant ląstelės sienelę, aplinkoje esant organiniams junginiams.

## E5. THE POTENTIAL OF BACTERIAL AMIDOHYDROLASES AS AN ACTIVATING ENZYMES IN GENE-DIRECTED ENZYME PRODRUG THERAPY

Viktorija Preitakaitė<sup>1</sup>, Simona Zubavičiūtė<sup>2</sup>, Rūta Stanislauskienė<sup>1</sup>, Nina Urbelienė<sup>1</sup>, Rolandas Meškys<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Department of Biological Models, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

[viktorija.preitakaite@gmc.vu.lt](mailto:viktorija.preitakaite@gmc.vu.lt)

Gene-directed enzyme prodrug therapy is an emerging strategy for cancer treatment based on the delivery of a gene that encodes an enzyme which is nontoxic per se, but is able to convert a prodrug into a potent cytotoxin. While the development of enzyme-activated prodrugs is promising, there are several limitations, such as the lack of suitable enzyme variants and the limited choice of chemical bonds that could be activated. Therefore, the aim of this study was to determine the ability of bacterial amidohydrolases YqfB and RL\_D8 to activate prodrugs that would affect the viability of eukaryotic cancer cells. First, the HCT116 human colorectal carcinoma cell lines, which stably express the genes encoding the YqfB or the RL\_D8 enzymes, were generated by retroviral transduction. In parallel, a number of *N*<sup>4</sup>-acylated cytidine derivatives were selected *in vitro* as possible substrates of the YqfB and RL\_D8 enzymes. These potential prodrugs were also tested *in vivo* for their possible toxicity before the activation. Next, the transduced cells expressing the bacterial amidohydrolases were exposed to several concentrations of the new prodrugs (in the range of 1 to 100 μM) and their viability was assessed using the MTT assay. Finally, the data obtained was processed and statistical analysis was performed. The results show significant decrease in the viability of cell lines expressing either the YqfB or the RL\_D8 amidohydrolase, compared to the control cell line transduced with a vector without a gene insert. These results imply that the bacterial enzymes used in this study, together with the cellular cytidine deaminase, can convert the nontoxic prodrugs to a well-known chemotherapeutic drug 5-fluorouridine in eukaryotic cancer cell lines. In conclusion, our results suggest that bacterial YqfB and RL\_D8 amidohydrolases, together with the modified cytidine-based prodrugs, may serve as future enzyme-prodrug systems for gene-directed enzyme prodrug therapy.



## **E6. ANTIBACTERIAL EFFICACY OF SILVER NANOPARTICLES IN LIQUIDS, BINDERS, AND TEXTILES**

Bazilė Ravoitytė<sup>1</sup>, Guoda Varnelytė<sup>1,2</sup>, Robertas Galinis<sup>3</sup>, Gediminas Galinis<sup>3</sup>, Steve Devine<sup>4</sup>, Elena Servienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Botany, Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania

<sup>2</sup>Institute of Biosciences, Life Sciences Center, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

<sup>3</sup>Pro for nano, Vilnius, Lithuania

<sup>4</sup>Graphene Composites, Sedgefield, United Kingdom

[bazile.ravoityte@gamtc.lt](mailto:bazile.ravoityte@gamtc.lt)

Development of silver-based nanoparticles is an emerging field with a broad range of applications in science, technology, and industry. Nanomaterials are widely used in diagnostics, therapeutics, textiles and cosmetics. Efficacy of silver nanoparticles has been demonstrated against various Gram-positive and Gram-negative bacteria. This biocidal substance inhibits growth of multidrug-resistant bacteria and is capable to overcome antibiotic resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa*, ampicillin-resistant *Escherichia coli*, erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes*, strains of methicillin-resistant and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*.

In this work we examine antibacterial properties of silver-based nanomaterial inks, transparent solutions, and coatings of textiles. A selection of formulations, including those with an addition of stabilizing agents (e.g., polyvinylpyrrolidone) were tested. The activity against Gram-negative *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, and Gram-positive *Staphylococcus aureus* was tested using ISO standardized methods. The obtained results aid the optimization of the composition and levels of silver-based nanoparticles in products with high antibacterial properties.

This research was funded by the Agency for Science, Innovation and Technology (MITA) through the European structural fund (EUREKA) program (project No. 01.2.2-MITA-K-702-12-0002).

## E7. IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF NOVEL (S)-SELECTIVE AMINOTRANSFERASES FROM METAGENOMIC LIBRARIES

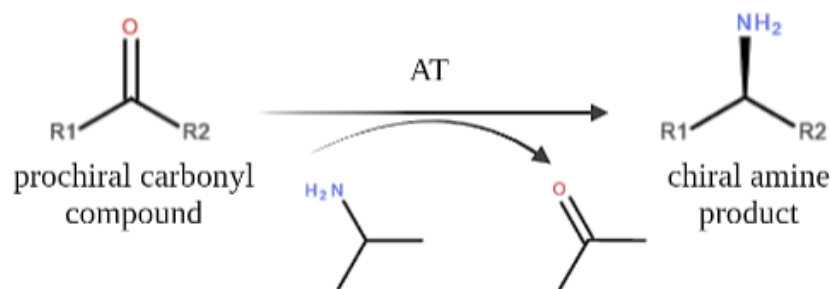
Rokas Statkevičius<sup>1</sup>, Justas Vaitekūnas<sup>1</sup>, Renata Gasparavičiūtė<sup>1</sup>, Jonita Stankevičiūtė<sup>1</sup>, Rolandas Meškys<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Vilnius University, Lithuania  
[rokas.statkevicius@gmc.vu.lt](mailto:rokas.statkevicius@gmc.vu.lt)

Chiral amine compounds are widely used as active pharmaceutical ingredients, agricultural chemicals, and other biologically active compounds [1]. Aminotransferases (AT) are enzymes that mediate the transfer of an amino group to a ketone acceptor. ATs have been already proven to be a promising catalyst in the synthesis of chiral amine compounds. The catalysis by ATs is performed under mild conditions, without the use of toxic metals and solvents, and has a higher stereo- and regioselectivity compared to the organic synthesis [2]. However, the broad application of such enzymes is restricted by a limited number of the identified ATs.

In this study, we searched for aminotransferases in the metagenomic DNA libraries using indol-3-ylmethylamine as a prochromogenic amino donor. We found and recombinantly expressed 18 different ATs. The experimental analysis revealed that the tested aminotransferases were active towards a wide variety of aromatic and aliphatic keto compounds and were capable of using isopropylamine as an amino donor (Fig. 1). In small-scale amination experiments, we were able to achieve a conversion of 95% for 2-acetylpyridine and 2-indanone using AT as a biocatalyst. Furthermore, some ATs showed activity towards monosaccharides and, therefore, could be employed for the synthesis of different aminopolyols – a class of products that are of particular interest as carbohydrate mimetics.

In summary, we successfully identified ATs active towards a wide scope of keto compounds. We showed ATs to be promising biocatalysts for chiral amine production.



**Figure 1.** Asymmetric synthesis using ATs.

[1] L.-J. Guan et al., “A new target region for changing the substrate specificity of amine transaminases,” *Sci. Reports* 2015 51, vol. 5, no. 1, pp. 1–11, Jun. 2015, doi: 10.1038/srep10753.

[2] F. Guo and P. Berglund, “Transaminase biocatalysis: Optimization and application,” *Green Chem.*, vol. 19, no. 2, pp. 333–360, 2017, doi: 10.1039/c6gc02328b.

## E8. CHARACTERIZATION OF NOVEL AMIDOHYDROLASE YQFB ANALOGS ACTIVE TOWARDS N<sup>4</sup>-ACYL CYTOSINE COMPOUNDS

Roberta Statkevičiūtė, Mikas Sadauskas, Rūta Stanislauskienė, Rolandas Meškys

Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania

[roberta.statkeviciute@bchi.stud.vu.lt](mailto:roberta.statkeviciute@bchi.stud.vu.lt)

Human activating signal cointegrator homology (ASCH) domain is widely dispersed in all domains of life and some prokaryotic viruses. Based on the known properties and functions of homologous domain-containing proteins in RNA metabolism, the ASCH domain is thought to be able to interact with RNA molecules as a transcription co-regulator. However, there is a lack of available experimental data highlighting the biological functions of this diverse protein superfamily.

In a previous study, a hypothetical ASCH domain-containing protein from *Zymomonas mobilis* was described as a monomeric ribonuclease, which degrades single-stranded RNA molecules *in vitro*. Recently, the *Escherichia coli* protein YqfB has been characterized as the smallest known amidohydrolase of just 103 amino acids. The primary substrate of the enzyme is the modified nucleoside N<sup>4</sup>-acetylcytidine (ac4C), which is highly abundant in both eukaryotic and prokaryotic RNA molecules. ac4C writers are quite well studied in prokaryotes, however, no proteins, responsible for the removal of acetyl modification, were identified.

Our study aimed to characterize hypothetical ASCH domain-containing proteins identified in mesophilic bacteria, such as *Buttiauxella agrestis*, *Cronobacter universalis*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Shewanella loihica*. To achieve this goal, recombinant protein purification and activity assays with modified cytosine and cytidine derivatives were performed. To determine whether amidohydrolase YqfB and its' analogs can bind RNA molecules, the electrophoretic mobility shift assay (EMSA) using radioactive isotope-labeled *E. coli* tRNA was applied.

Our findings show that based on the kinetic properties, the ac4C might be the primary substrate of YqfB analogs *in vivo*. However, the RNA-binding activities were not detected. Thus, this work provides new data about proteins belonging to the ASCH protein superfamily, the cellular role of which remains to be proven by further studies.

## E9. IDENTIFICATION AND CHARACTERISATION OF A NOVEL 2'-O-METHYLRIBONUCLEOSIDE DEMETHYLASE

Justas Stonkus<sup>1</sup>, Rasa Rutkienė<sup>1</sup>, Rita Meškienė<sup>1</sup>, Rolandas Meškys<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology and Biotechnology, Vilnius University, Lithuania

[justas.stonkus@gmc.stud.vu.lt](mailto:justas.stonkus@gmc.stud.vu.lt)

The universal genetic code is extended with various nucleoside modifications, including methylation of the base or the ribose part of a nucleoside. These modifications are critical for RNA folding, stability, and RNA-protein interactions. RNA methylation is known to be performed by a single-acting enzyme or an RNP complex, however, the study of catabolism and salvage of these methylated compounds is lacking. Therefore, our study was aimed to identify a gene coding for a novel enzyme that is involved in the biodegradation of 2'-O-methylated nucleosides.

The search for the novel enzyme was accomplished using a screening method that involves soil-based metagenomic libraries, an auxotrophic *E. coli*  $\Delta$ pyrFEC bacterial strain, and 2'-O-methylcytidine (Cm). After the library screening, a plasmid with an ~850 kb insert was isolated and sequenced. Corresponding amino acid sequence analysis showed that the insert contained a gene that codes for a novel 2-oxoglutarate and iron (II) dependent oxygenase, and this newfound protein was named FJS. To further study FJS oxygenase activity *in vitro*, the FJS gene was cloned into the pLATE31 expression vector and expressed in *E. coli* HMS174 (DE3) strain. The molecular weight of purified recombinant FJS protein was determined by gel filtration chromatography analysis and its enzymatic activity was investigated using TLC and HPLC-MS.

During this study, it was found that purified recombinant FJS is a dimer consisting of two 33 kDa subunits and catalyzes the demethylation of 2'-O-methylated nucleosides at the 2'-O position, deallylation of 2'-O-allyluridine and showed no activity towards nucleosides modified at the 3'-O position. Best to our knowledge, demethylation is a novel type of reaction for enzymes, that catalyze the degradation of 2'-O-methylated nucleosides, as other known examples are nucleoside hydrolases (e.g., RK9NH), performing 2'-O-methylated nucleoside hydrolysis into a 2'-O-methyl ribose and a nucleobase.

# E10. MALTOŽĘ SURIŠANČIO BALTYMO IR ŽALIAI FLUORESCUOJANČIO BALTYMO EKSPONAVIMAS MIELIŲ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* LAŠTELIŲ PAVIRŠIUJE

Ieva Šapronytė<sup>1</sup>, Rasa Petraitytė-Burneikienė<sup>1</sup>, Arūnė Verbickaitė<sup>1</sup>

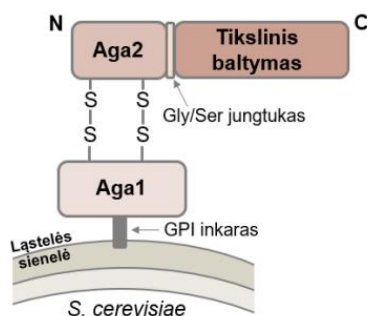
<sup>1</sup>Biotechnologijos institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuva  
[ieva.sapronyte@gmc.stud.vu.lt](mailto:ieva.sapronyte@gmc.stud.vu.lt)

Baltymų eksponavimas ant mielių ląstelių paviršiaus yra daug žadanti technologija, leidžianti ląstelės paviršiuje įterpti tikslinius peptidus ar baltymus, išlaikant santykinai nepriklausomą jų erdvinę struktūrą ir biologinį aktyvumą. Ši technologija remiasi tikslinius peptidus ar baltymus koduojančių genų suliejimu su mielių ląstelės sienelės baltymo genu, šitaip yra užtikrinamas tikslinio baltymo įtvirtinimas ląstelės išorėje [1]. Mielių *Saccharomyces cerevisiae* panaudojimas tikslinių peptidų ar baltymų įterpimui jų paviršiuje suteikia galimybę ląsteles, eksponuojančias skirtingus baltymus, pritaikyti daugelyje biotechnologijos sričių, pavyzdžiui, įvairių medžiagų bioadsorbicijoje, ląstelių-biokatalizatorių ar valgomų vakcinų kūrimui [2].

Viena iš dažniausiai naudojamų baltymų eksponavimo sistemų remiasi mielių *Saccharomyces cerevisiae* poravimosi baltymu a-agliutininu, kurį sudaro du subvienetai – Aga1 ir Aga2. Tikslinio baltymo genas yra priliejamas prie Aga2 subvienetą koduojančio geno. Susintetintas sulietinis baltymas per du disulfidinius tiltelius jungiasi su ląstelės sienelėje per glikozilfosfatidilinozitolio (GPI) inkarą įsitvirtinusi Aga1 subvienetu (1 pav.) [3].

A-agliutinino pagrindu sukurta baltymų eksponavimo sistema yra nauja mūsų laboratorijos tyrimų kryptis. Norint pritaikyti šią sistemą, pirmiausia reikia nustatyti jos efektyvumą ir panaudojimo potencialo galimybes. Šio tyrimo tikslas buvo išbandyti a-agliutinino baltymų eksponavimo sistemą mielių *Saccharomyces cerevisiae* ląstelių paviršiuje įtvirtinant maltozę surišantį baltymą (MBP) ir žaliai fluorescuojantį baltymą (GFP). Šiame darbe MBP ir GFP baltymus koduojantys genai buvo įklonuoti į Aga2 raiškos vektorius. Gautomis plazmidėmis transformuotas mielių kamienas, kuriame koduojamas Aga1 subvieneto genas. Tikslių baltymų eksponavimas mielių ląstelių paviršiuje patvirtintas imunofluorescentinės mikroskopijos ir imunobloto metodais.

Šis darbas suteikė pagrindą, leidžiantį taikyti a-agliutinino sistemą tolimesniems tyrimams ir pritaikymo galimybėms.



1 pav. A-agliutinino sistemos schema. Aga2 ir tikslinis baltymas yra atskirtas Gly/Ser jungtuku.

[1] Han, L., Zhao, Y., Cui, S., & Liang, B. (2018). Redesigning of Microbial Cell Surface and Its Application to Whole-Cell Biocatalysis and Biosensors. *Applied biochemistry and biotechnology*, 185(2), 396–418.

[2] Yang, X., Tang, H., Song, M., Shen, Y., Hou, J., & Bao, X. (2019). Development of novel surface display platforms for anchoring heterologous proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial cell factories*, 18(1), 85.

[3] Mashangoane, B. F., & Chirwa, E. N. (2022). Cell surface display of palladium binding peptide on *saccharomyces cerevisiae* EBY100 cells using the a-agglutinin anchor system developed for the biosorption of Pd(II). *Minerals Engineering*, 176, 107325.

Pranešimų santraukų knyga  
Konferencija "MIKROBIOLOGIJA 2022"  
Balandžio 28-29 d.  
Birštonas

Iliustracijos ir spauda

Iliustracija „Mikroorganizmai Lietuvos fone“ sukurta naudojant BioRender.com grafinio dizaino įrankius.

Spauda ant kaklajuosčių ir konferencijos maišelių sukurta naudojant Creative Cloud® Express™ programinę įrangą.

Iliustracija santraukų knygoje sukurta naudojant Microsoft PowerPoint programinę įrangą. Iliustracijoje naudojama bakterijų 3D vizualizacija gauta iš Adobe® Stock iliustracijų kolekcijos. Iliustracijos numeris #74430853. Standartinė licenzija. Iliustracijos autorius Peterschreiber.media.

Lietuvos mikrobiologų draugija  
[www.mikrobiologija.lt](http://www.mikrobiologija.lt)