

RST – Raport științific și tehnic *in extenso*

Etapa 2. Recoltarea probelor și analiza bacteriologică și moleculară a acestora

Perioada de raportare: 29/12/2018 — 27/12/2019

Titlul proiectului: ANTIMICROBIAL RESISTANCE MANURE INTERVENTION STRATEGIES / STRATEGII DE INTERVENȚIE ASUPRA GUNOIULUI DE GRAJD CU PRIVIRE LA REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE

Acronimul proiectului: ARMIS

Cod proiect: COFUND-JPI-EC-AMR-ARMIS Nr. contract: 40/2018

Durata: 35 luni (01.06.2018 – 30.04.2021)

Director proiect: Prof. Dr. Ana Maria de Roda Husman

Coordonator: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM): Prof. Dr. Ana Maria de Roda Husman

Partener 1: University of Western Ontario Department of Biology, London, Canada: Dr. Ed Topp

Partener 2: University of Guelph, Department of Pathobiology, Guelph, Canada: Dr. Patrick Boerlin

Partener 3: Research Institute of the University of Bucharest, Faculty of Biology: Prof. Dr. Mariana Carmen Chifiriuc

Partener 4: Justus-Liebig University, Institute for Applied Microbiology Heinrich-BuffRing, Gießen Germany: Prof. Dr. Dr-Ing. P. Kämpfer

Partener 5: Wageningen Livestock Research, Wageningen Research, The Netherlands: Ing. Paul Hoeksma

1. OBIECTIVE/ACTIVITĂȚI PREVĂZUTE

- Activitatea 2.1. Recoltarea probelor de gunoi de grajd/materii fecale/sol de la fermele de animale și izolarea de bacterii rezistente la antibiotice
- Activitatea 2.2. Identificarea bacteriilor rezistente izolate
- Activitatea 2.3. Determinarea profilului de rezistență la antibiotice a tulpinilor izolate
- Activitatea 2.4. Extracția ADN din probele biologice recoltate și realizarea reacțiilor qPCR pentru gene reprezentative selectate
- Activitatea 2.5. Managementul proiectului

2. REZUMATUL ETAPEI

În cadrul acestei etape a proiectului ARMIS s-a finalizat selectarea fermelor participante la studiu. Au fost selectate patru ferme de animale, respectiv două exploatații de suine în sistem integrat, cu o capacitate totală de 10.000 de capete, cu sectoare de reproducție, creștere și îngrășare în aceeași locație și două de bovine, destinate producției de lapte, cu capacitate de cazare de peste 300, respectiv 500 de animale, întreținerea realizându-se în varianta tehnologică mixtă, respectiv legată și liberă. De asemenea, au continuat studiile din etapa precedentă privind optimizarea protocoalelor de izolare a tulpinilor de enterococi rezistenți la vancomicină (VRE), *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină (MRSA), *E. coli* producătoare de beta-lactamaze de spectru extins (ESBL) și *Enterobacteriaceae* producătoare de carbapenemaze (CRE), prin două metode bazate pe cultivare: metoda directă și metoda cultivării prin îmbogățire. Tulpinile izolate au fost identificate cu ajutorul metodelor automate Maldi-Tof și Vitek, iar rezistența la antibiotice a fost confirmată prin Vitek și PCR. După optimizarea protocoalelor, a demarat, de asemenea, recoltarea și analiza probelor de gunoi de grajd, de la o fermă de porcine și una de bovine, fiecare fermă având câte 2 bazine aflate în faze diferite – un bazin în etapa finală, de golire și împrăștiere pe teren a compostului și un bazin în faza de umplere. Pe lângă probele de gunoi de grajd, prelevate din cisterna cu care se împrăștie compostul pe miriște, și respectiv, din conducta de alimentare, au fost colectate o serie de date privind furajarea și tratamentele administrate animalelor, metodologia de compostare și împăștiere a compostului. Analiza preliminară a probelor recoltate a evidențiat prezența majorității fenotipurilor de rezistență, cu excepția CRE, în probele prelevate de la ambele ferme, de suine și de bovine, atât la începutul, cât și finalul procedurii de compostare. Din probele de gunoi de grajd recoltate s-a extras ADN și s-a investigat prin Real-time PCR abundența genelor de rezistență. Toate cele patru tipuri de probe luate în studiu au prezentat niveluri similare de expresie a ADN_r 16S și a genei de rezistență bla_{oxa48}.

În ceea ce privește managementul proiectului, la fiecare 6 săptămâni au avut loc teleconferințe la care au participat reprezentanți ai țărilor membre ale consorțiului, în cadrul cărora au fost agreate procedurile de lucru standardizate utilizate pentru izolarea și confirmarea tulpinilor rezistente, a fost agreată varianta finală a logo-ului proiectului realizat de partenerul român și a fost stabilită structura website-ului proiectului. Rezultatele preliminare obținute au fost publicate într-o lucrare indexată BDI, prezentate la o conferință internațională și în cadrul a trei lucrări de finalizare a studiilor (o teză de doctorat, o teză de disertație și o teză de licență).

Activitățile propuse pentru aceasta etapă a proiectului au fost îndeplinite în totalitate.

Diseminarea rezultatelor

Articole BDI

Robert Ducu, Irina Gheorghe, Mariana Carmen Chifiriuc, Grigore Mihăescu, Ionela Sârbu. Prevalence of vancomycin resistance phenotypes among *Enterococcus* species isolated from clinical samples in a Romanian hospital. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 9 (6), 2019, 4699 – 4704. [file:///C:/Users/Carmen/Downloads/2069583796699704%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Carmen/Downloads/2069583796699704%20(1).pdf)

N.B. În ceea ce privește diseminarea rezultatelor, partenerii din cadrul consorțiului au agreat un plan de diseminare, care prevede ca **publicarea rezultatelor importante** obținute să se realizeze la finalul proiectului, **în reviste cu factor de impact foarte ridicat**. De aceea, pe parcursul proiectului, partenerii pot publica doar rezultatele secundare obținute, care nu vor face **obiectul publicațiilor majore**.

Conferințe internaționale

Othman Thamer Almahdawy, Irina Gheorghe, Omar Sadik Shalal, Dunya Alkurjia, Luminita Marutescu, Marcela Popa, Grigore Mihaescu, Otilia Banu, Carmen Chifiriuc. Resistance and virulence genes profiles in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* strains isolated from hospitalised patients in Bucharest, Romania. P2327, 29th ECCMID, Amsterdam, Netherlands, 13-16 April 2019.

Teza de doctorat

Othman Thamer Almahdawy- *Virulence and resistance markers in Gram-positive cocci of clinical importance*. Universitatea din București, 2019.

Teza de dizertatie

Mita Ioana- *Identificarea unor tulpini bacteriene rezistente la antibiotice în probe de gunoi de grajd*. Universitatea din Bucuresti, 2019

Teză de licență

Oana Marinescu - *Optimizarea unor metode de izolare și cuantificare a enterococilor rezistenți la vancomicină în probe de compost*, 2019