

RST – Raport științific și tehnic *in extenso*

Etapa 3. Formularea unor strategii de comunicare a riscurilor legate de posibila expunere la RA provenite de la sistemele centralizate de tratare a gunoiului de grajd

Perioada de raportare: 30/12/2020 — 31/07/2021

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

OBIECTIVE/ACTIVITĂȚI PREVĂZUTE

- **Activitatea 1. Corelarea datelor obtinute in cadrul proiectului**
- **Activitatea 2. Managementul proiectului**

1. REZUMATUL ETAPEI

În cadrul acestei etape a proiectului, s-a finalizat prelevarea probelor de la cele 3 ferme de porcine, 2 ferme de bovine și 2 ferme de bovine cu stație de biogaz, precum și analiza microbiologică a acestora, utilizând metodele standardizate agreate de toți partenerii proiectului. Pe durata întregului proiect, au fost recoltate un număr total de 72 probe, în cadrul a 11 campanii de recoltare, din care au fost izolate 1455 tulpini rezistente la antibiotice. Dintre acestea, au fost confirmate în urma identificării cu ajutorul tehnicii MALDITOF 381 de tulpini de *Escherichia coli* cu fenotip ESBL (EC-ESBL) și 154 de tulpini MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*).

Analizele microbiologice bazate pe cultivare directă și prin îmbogățire, ale probelor de gunoi de grajd compostat și ale celor colectate din diferite puncte de la două ferme prevăzute cu instalație producer de biogaz au arătat prezența tulpinilor de EC-ESBL în toate etapele de tratament al gunoiului de grajd. Abundența tulpinilor EC-ESBL în probele de gunoi de grajd procesate prin compostare și destinate utilizării agricole este suficient diminuată la minim 5 luni pentru fermele de bovine, 3 luni pentru cele de porcine, precum și în faza solidă rezultată la finalul procesului de tratare a gunoiului de grajd prin digestie anaerobă. Genele codificatoare pentru ESBL au fost, în ordine descrescătoare a frecvenței, *bla_{CMY-2}*, *bla_{CTX-M}*, și *bla_{TEM}*. Tulpinile de EC-ESBL au prezentat gene de rezistență și la alte clase de antibiotice, respectiv quinolone (*qnrA* și *qnrB*) și polimixine (*mcr1-3*). Genele *mcr 1,2,3* conferă rezistență la colistin, un antibiotic de ultimă linie, prezența acestora în probele de gunoi de grajd reprezentând un aspect îngrijorător deoarece aceste tulpini pot coloniza fermierii și pot contamina produsele agricole. Tulpinile MRSA au fost recuperate din probele de gunoi de grajd exclusiv după îmbogățire, ceea ce sugerează abundența foarte redusă și riscul minim de diseminare a acestora prin intermediul gunoiului de grajd utilizat ca fertilizator în agricultură, comparativ cu EC-ESBL.

Rezultatele obținute în cadrul acestui proiect confirmă prezența și diseminarea genelor de antibioretistență în fermele zootehnice și subliniază importanța administrării corecte a tratamentelor cu antibiotice, a respectării standardelor de fermă, precum și necesitatea formulării unor recomandări privind rata maximă admisă a abundenței acestor bacterii rezistente în probele de gunoi de grajd procesate prin compostare și prin digestie anaerobă și a unor măsuri de supraveghere a procedurilor de stocare a gunoiului de grajd.

În cadrul acestei etape, s-au realizat întâlniri online (la fiecare șase săptămâni) între partenerii consorțiului, în cadrul cărora s-a agreat prelungirea perioadei de implementare a proiectului, pentru finalizarea activităților de prelevare și procesare a probelor, analiza rezultatelor și concretizarea planului de diseminare a rezultatelor (scrierea în colaborare a articolelor științifice care prezintă comparativ rezultatele obținute în fiecare dintre țările participante). În cadrul acestei etape echipa partenerului român a publicat un articol ISI, a prezentat 4 lucrări la o conferință națională și au fost efectuate 5 lucrări de licență.

Diseminare:**Articole ISI publicate:**

1. Antibiotic resistance profiles in cultivable microbiota isolated from some Romanian natural fishery lakes included in Natura 2000 network, Lazăr Veronica, Gheorghe Irina, Curuțiu Carmen, Savin Ioana, Marinescu Florica, Cristea Violeta Corina, Dumitru Dobre, Popa Gabriela Loredana, Chifiriuc Mariana Carmen, Popa Mircea Ioan, BMC Veterinary Research, 17, 52, 2021, <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02770-8>

Conferințe naționale:

1. Fundamentarea unor strategii de intervenție asupra gunoiului de grajd pentru diminuarea riscului asociat rezistenței la antibiotice - Proiectul ARMIS, Popa Marcela, Chifiriuc Marian Carmen, Postolache Carmen, Măruțescu Luminița, Simpozionul cercetătorilor, 17-18.04.2021, online
2. Caracterizarea rezistenței la antibiotice a unor tulpini de *Escherichia coli* producătoare de beta lactamaze izolate din gunoi de grajd transformat în biogaz și compostat, Mușat Ana-Maria, Măruțescu Luminița, Simpozionul cercetătorilor, 17-18.04.2021, online
3. Detectarea și spectrul de sensibilitate la antibiotice al unor tulpini de *Staphylococcus* rezistent la metilicilină izolate din gunoi de grajd compostat, Turea Ana Maria, Măruțescu Luminița, Simpozionul cercetătorilor, 17-18.04.2021, online
4. Rezistența la antibiotice a tulpinilor de *Acinetobacter baumannii* izolate din gunoi de grajd transformat în biogaz și compostat, Dinu Iulia Adelina, Gheorghe Irina, Talapan Daniela, Miliță Nicoleta, Romascu Luminița, Popa Marcela, Măruțescu Luminița, Chifiriuc Mariana Carmen, Simpozionul cercetătorilor, 17-18.04.2021, online

Lucrări de licență:

1. Analiza profilurilor de sensibilitate la antibiotice ale unor tulpini de *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicina izolate din probe de gunoi de grajd compostat, Turea Ana Maria, Măruțescu Luminița, iun. 2021, Facultatea de Biologie, Universitatea din București
2. Studiul unor markeri fenotipici și genotipici de rezistență la antibiotice la tulpini de *Escherichia coli* producătoare de beta-lactamaze izolate din probe de gunoi de grajd, Mușat Ana-Maria, Măruțescu Luminița, iun. 2021, Facultatea de Biologie, Universitatea din București
3. Rezistența la antibiotice a tulpinilor de *Acinetobacter baumannii* izolate din gunoi de grajd transformat în biogaz și compostat, Dinu Iulia Adelina, Chifiriuc Mariana-Carmen, iun. 2021, Facultatea de Biologie, Universitatea din București
4. Rezistența la antibioticele β -lactamice la tulpini de Enterobacterii izolate din probe de gunoi de grajd Badea Alexandra-Eliana, Chifiriuc Mariana-Carmen, Barbu Ilda, iun. 2021, Facultatea de Biologie, Universitatea din București
5. Rezistența transferabilă la antibioticele β -lactamice, quinolone și polimixine la tulpini de bacili Gram-negativi izolate din gunoi de grajd, Belu Ioana, Chifiriuc Mariana-Carmen, Barbu Ilda, iun. 2021, Facultatea de Biologie, Universitatea din București