

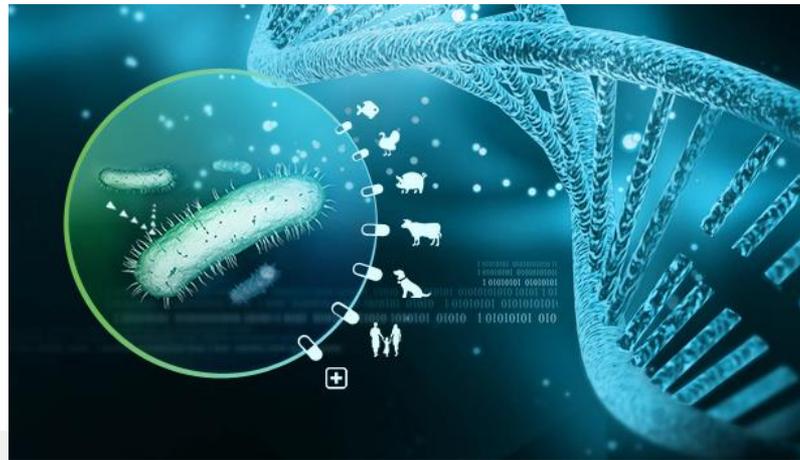


**CRAB**  
Centro di Riferenza Nazionale  
per l'Antibioticoresistenza.



# Progetto EFFORT

## (Ecology from Farm to Fork Of microbial drug Resistance and Transmission)



**Andrea Caprioli, DVM, PhD**

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA**

**Direzione Operativa Diagnostica Generale**



# Cos'è il progetto EFFORT

- Tipologia progetto: **Progetto di ricerca Europeo del Settimo Programma Quadro** per la ricerca e lo sviluppo tecnologico. Grant agreement N°: 613754.
- Durata del progetto: **5 anni** (60 mesi). Budget ~ 12 milioni
- Data di inizio del progetto: **01/12/2013**
- Area tematica: Ecology of drug resistant bacteria and transfer of antimicrobial resistance throughout the food chain.

# SITO WEB DEL PROGETTO:

<http://www.effort-against-amr.eu/page/project.php>

**EFFORT**  
AGAINST ANTIMICROBIAL RESISTANCE

Co-funded by the European Union

Search

The Project Activities Participants News & Events Publications Contact

Seleziona lingua

**NEWS**  
1st EFFORT Annual meeting  
Published on: Apr 28, 2015  
All news

**EVENTS**  
2nd EFFORT Annual meeting  
Date: Jan 12 - 14, 2016  
Location: Paris (TBC)  
All events

**CONSORTIUM**

**ANIMAL FARMS**

## EFFORT against antimicrobial resistance

The **EFFORT** (Ecology from Farm to Fork Of microbial drug Resistance and Transmission) project will provide scientific evidence and high quality data that will inform decision makers, the scientific community and other stakeholders about the consequences of anti-microbial resistance (AMR) in the food chain, in relation to animal health and welfare, food safety and economic aspects. Specifically, **EFFORT** will strive to answer the following fundamental, but complex questions demanded by risk managers:

- What is the impact of antimicrobial usage in food-producing animals on human exposure to AMR determinants?
- What are the most important transmission routes and sources of human exposure to AMR determinants?
- What is the impact on human health of transfer of AMR determinants between commensals and pathogenic microorganisms?
- How can human exposure to AMR determinants through food-producing animals be reduced?
- What is the most cost-effective way of monitoring antimicrobial resistance occurrence in

Facebook Twitter LinkedIn

# Cos'è il progetto EFFORT

- PARTNER COINVOLTI: **20 Istituzioni scientifiche** in rappresentanza di 10 differenti paesi Europei.
- COORDINATORE scientifico del PROGETTO: Prof. Jaap Wagenaar, Utrecht University, Olanda.
- ENTE PARTNER ITALIANO: **Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (IZSLT), Direzione Operativa Diagnostica Generale, Centro di Referenza Nazionale e Laboratorio Nazionale di Riferimento per l'Antibiotico-Resistenza.**



# EFFORT coinvolti 10 paesi europei

- Belgio,
- Bulgaria
- Danimarca
- Francia
- Germania
- Italia
- Olanda
- Polonia
- Spagna
- Svizzera



# EFFORT obiettivi generali 1

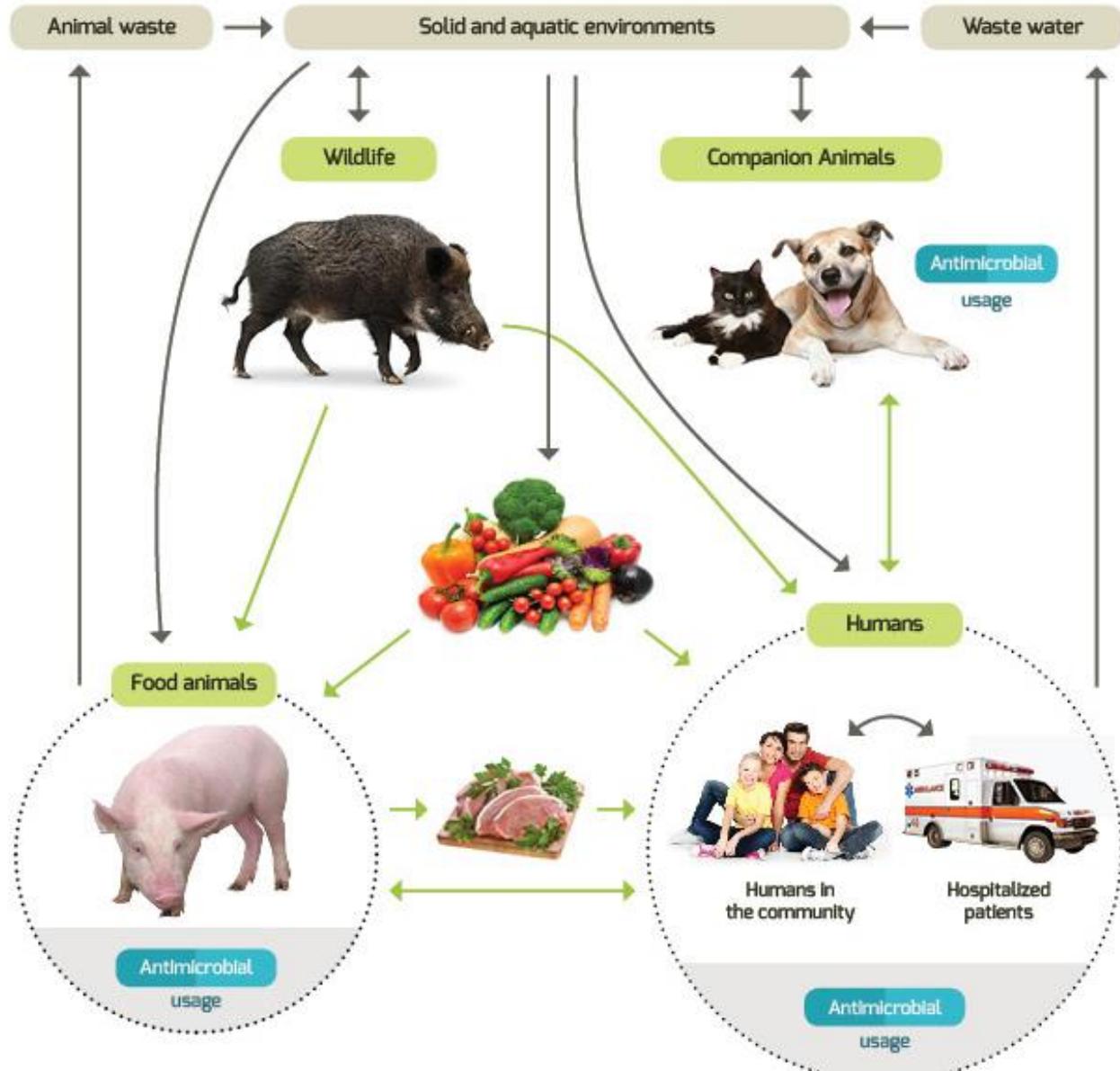
- Meglio comprendere l'eco-epidemiologia dell'antibiotico-resistenza di origine animale.
- Meglio comprendere i complessi meccanismi di trasferimento delle resistenze.
- Quantificare il livello di esposizione al fenomeno all'antibiotico-resistenza attraverso diverse vie di trasmissione dagli animali all'uomo.
- Mettere a punto dei modelli predittivi per valutare e se possibile limitare il rischio di esposizione all'uomo dagli animali.
- Valutare le misure di controllo e di management migliori per arrivare, in Europa, ad una diminuzione dell'uso degli antimicrobici nella pratica veterinaria, senza intaccarne il benessere.

# EFFORT obiettivi generali 2

- Utilizzare i risultati al fine di informare la comunità scientifica ed altri stakeholders riguardo le conseguenze dell'antibiotico-resistenza nella catena alimentare.
- Supportare decisioni di tipo politico in termini di prioritizzazione delle opzioni di gestione del rischio lungo la filiera produttiva alimentare, tenendo conto sia aspetti riguardanti lo stato di salute ed il benessere degli animali, sia aspetti di sicurezza alimentare, sia aspetti di tipo economico. Management!

# EFFORT obiettivi generali

EFFORT studies the complex **ecology of antimicrobial resistance (AMR)** and the interactions between bacterial communities, commensals and pathogens in animals, the food chain and the environment.



# Struttura del progetto

Il progetto EFFORT è strutturato in **10 WPs.**

**8 Work Packages (WPs)** scientifici tra loro interconnessi ed in **2 WPs di disseminazione** delle conoscenze acquisite.

I diversi WPs si occupano di:

Epidemiologia, ecologia, genomica e metagenomica, impatto dell'antibiotico-resistenza sulla Sanità Pubblica ed impatto economico.

# EFFORT Work Packages

WP-1

**Integrated evidence base for the food chain**

WP-2

**Molecular approaches for determining the molecular ecology and epidemiology of antimicrobial resistance genes**

WP-3

**Ecology and transfer of resistance mechanisms**

WP-4

**Epidemiological analysis of antimicrobial resistance patterns in humans and the environment**

WP-5

**Relationship between farming practices, antimicrobial usage, animal health and resistance**

WP-6

**Intervention studies aiming at reducing antimicrobial usage and resistance in pig and poultry production**

WP-7

**Quantification of exposure to antimicrobial resistance through different transmission routes from animals to humans**

WP-8

**Economic impact analysis**

WP-9

**Project dissemination and training**

WP-10

**Project management**

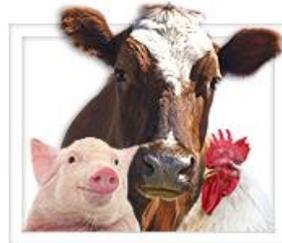
# Struttura del progetto

L'IZSLT è fondamentalmente coinvolto nel **WP1** (**Integrated evidence base for the food chain**) che ha come obiettivi principali la raccolta di campioni e di informazioni epidemiologiche, la messa a punto di protocolli standard, la produzione e la disseminazione di dati sulla resistenza fenotipica agli antimicrobici (AMR) e sul consumo di antibiotici (AMU).

# Obiettivi WP1

Effettuati una serie di studi trasversali in nove dei paesi coinvolti su:

- Animali allevati a scopo zootecnico: suini, polli, tacchini, bovini, pesci. Per l'Italia solo suini e polli (broiler)



- Animali selvatici: cinghiali



- Animali da compagnia: Cani e gatti



- Campioni ambientali: campioni di **polvere (EDC)** prelevati a livello di allevamenti zootecnici (Per l'Italia suini e polli).

- Alimenti, campioni umani



# Metodi WP1 ITALIA

Effettuati nell'arco di circa un anno i seguenti campionamenti distribuiti su tutto il territorio nazionale.

- **20 ALLEVAMENTI SUINI:** 25 campioni di feci + 4 EDC + compilazione questionario da ~ 150 domande.
- **20 ALLEVAMENTI POLLI (broiler):** 25 campioni di feci + 4 EDC + compilazione questionario da ~ 100 domande.
- **100 CAMPIONI FECI di CINGHIALI.**
- **50 CAMPIONI FECI di CANE + 50 CAMPIONI FECI DI GATTO** + compilazione questionario ~ 25 domande.

Raccolta dati su management, biosicurezza, welfare, prescrizioni ed utilizzo AB per singoli allevamenti/animali!!

# Metodi WP1

Coinvolti liberi professionisti per esecuzione campioni nel Nord Italia. Grazie anche alla collaborazione di colleghi ASL, di veterinari aziendali e degli allevatori !!!!

**Dr. Mario Gherpelli (SUIVET) (Suini e pets)**

**Dr. Marco Pegoraro (Polli, pets e cinghiali)**

**Dr. Enrico Giacomini (Pets e cinghiali)**

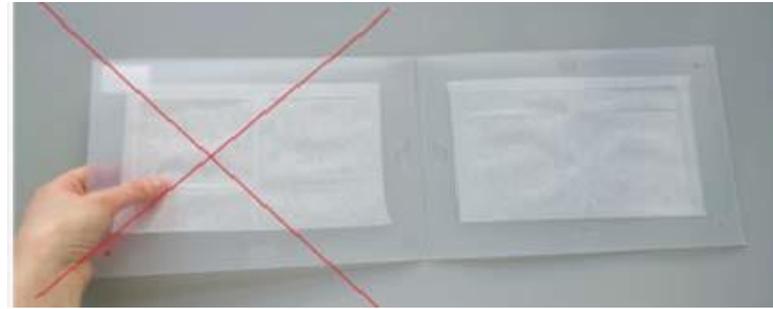


Altri...Dr. Mangili, Corrias, Bruni, Mariti, etc<sup>4</sup>

# Metodi: campioni feci

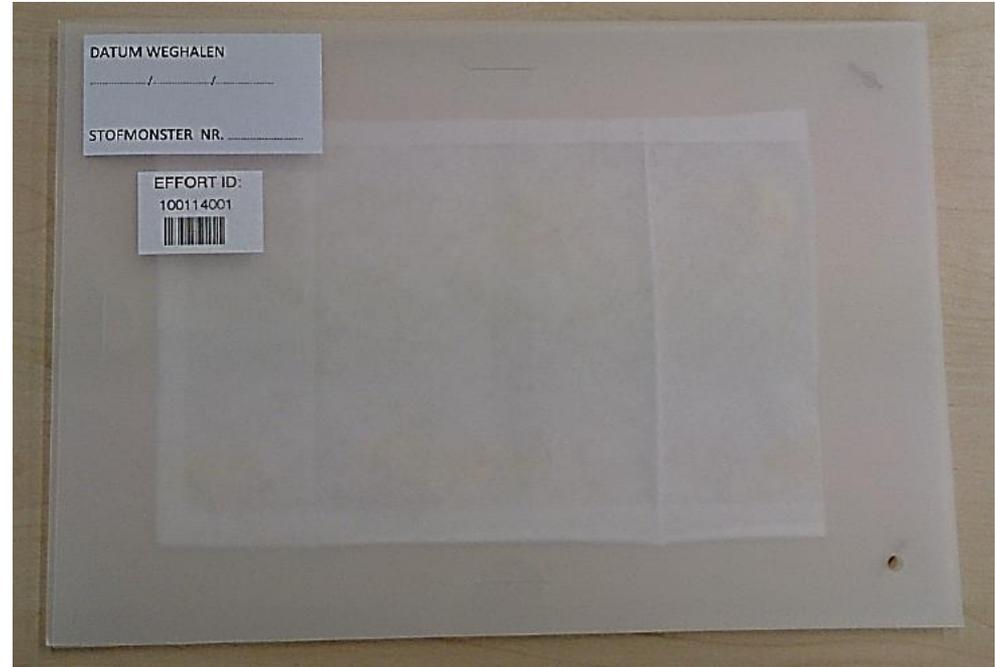


# Metodi: EDC

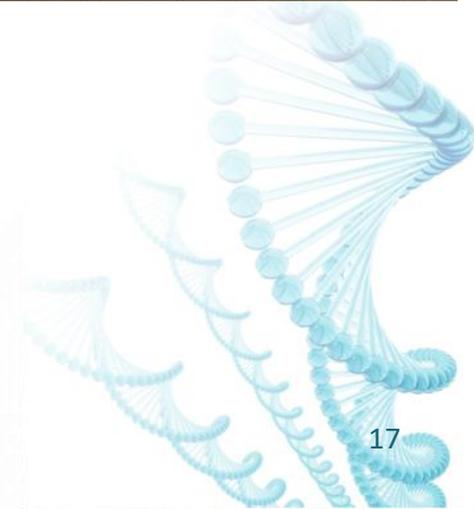


# Metodi: etichettatura

Italia: 600....



 PRIORITY PRIORITAIRE 90000000	 No stamp required Ne pas affranchir
IBRS/CCRI N° 58511	
<b>Réponse payée / Reply Paid</b>	
<b>Pays-Bas / The Netherlands</b>	
<b>Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS) t.a.v. Liese Van Gompel - EFFORT</b> Int. Business Return Service I.B.R.S. / C.C.R.I. Numéro 58511 3508 VH Utrecht The Netherlands	
<small> This is a UPU accepted label for returning goods up to 2kg free of charge to an international reply number. Please do not charge the customer. See <a href="http://www.upu.int/en/activities/letter-post-development/ibr.html">http://www.upu.int/en/activities/letter-post-development/ibr.html</a></small>	



# Metodi WP1 Italia: alimenti

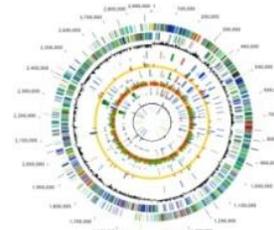


Effettuare i seguenti campionamenti distribuiti su un'area considerata rappresentativa del territorio nazionale (campioni effettuati nel comune di Roma).

- 100 campioni di **carne di suino** prelevati al dettaglio (50 da macellerie e 50 da supermercati).
  - 100 campioni di **carne di pollo** prelevati al dettaglio (50 da macellerie e 50 da supermercati).
- Altre U.O.: anche carni di bovini, tacchini, trote.

# Metodi: analisi campioni

Estrazione e purificazione DNA da campioni in pool →  
Danimarca → **Next generation sequencing** (Metagenomic  
analysis of antimicrobial resistance).



Estrazione e purificazione DNA campioni individuali → **qPCR**

Isolamento E. coli → **MIC** (EUVSEC plate)



EDC inviati direttamente in Olanda





**Supplement 3: Schematic overview of handling and storage of fecal samples**

**Individual fecal sample**

Minimal amount of feces collected per individual sample: 3g (preferably more)

For microbiological methods and detailed handling and storage procedures see section IV in the sampling protocol of WP1

**METAGENOMIC ANALYSIS & qPCR**

Store each individual sample

***E.coli***

Store every second sample taken on a farm (nr 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20)

Preferably fill each cryotube with the maximum amount of feces (2ml). Store 0.5g per tube as minimum.

Store feces directly without adding broth or chemical

Fill a 2ml cryotube (#1). Store at -80C

Fill a 2ml cryotube (#2). Store at -80C

Suspend the sample 1/10 (w/v) in BPW with 20% glycerol in a 2ml cryotube (#3). Store the at -80C.

Create a pooled sample and store in duplicate

**Pooled sample 1**  
Preferably 0.5 g/individual sample will be used for a pooled sample

**Pooled sample 2 (backup)**  
Preferably 0.5 g/individual sample will be used for a pooled sample

After pooling, the remaining amount of feces of every second sample taken on a farm (nr 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20) will be used for DNA isolation for qPCR. If no feces is left from cryotube #1, it is allowed to use feces from the back up tube. Keep the feces stored pending analysis.

**DNA Isolation**  
Isolate DNA according section IV-C of the sampling protocol

Store the extracted DNA in duplicate at -20C pending analysis.  
Detailed shipment procedures need to be developed yet and will be updated in a later stage.



# Risultati ancora parziali...work in progress....



Al 3° anno di progetto

L'intero consorzio ha **raccolto circa 12,000 campioni** da:

- Allevamenti (suini, polli, bovini, tacchini, pesci)
- Macelli (suini e polli)
- Supermercati, macellai e pescherie (carni di suino, pollo, bovino, tacchino, pesci)
- Animali da compagnia (cani e gatti)
- Animali selvatici (cinghiali)
- Campioni ambientali
- Campioni umani (feci di allevatori e di personale che lavora presso macelli).

Italia >1400 campioni lavorati



# Risultati di laboratorio...work in progress.....



**Al 3° anno di progetto**

**Metagenomica:** sui 360 campioni previsti più di 2/3 sono già stati sequenziati.

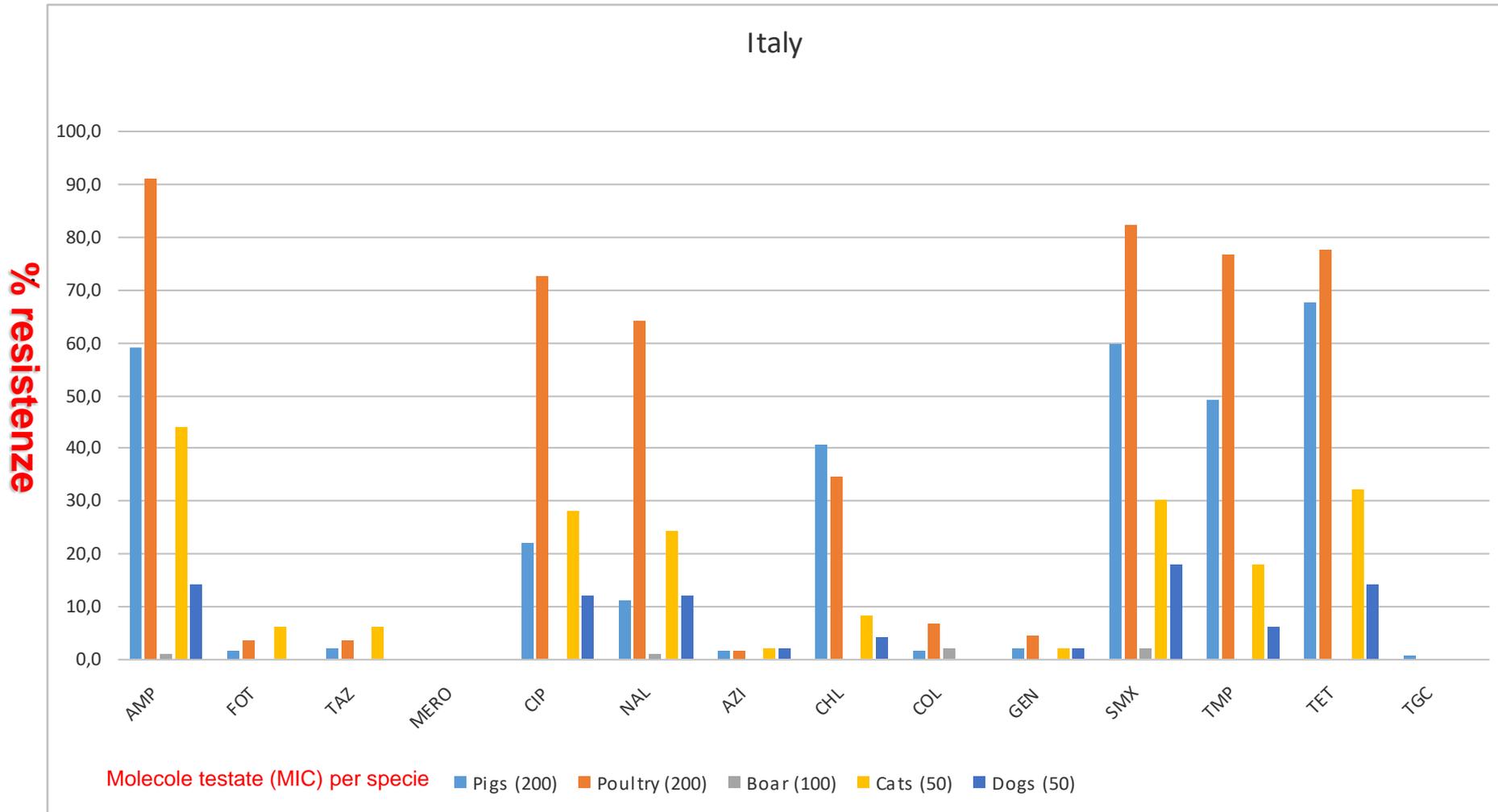
**Meccanismi di resistenza:** in fase di avanzamento gli studi per valutare l'ecologia ed i meccanismi di trasferimento dei fattori di resistenza (elementi genetici mobili).

**Intervention studies in allevamenti di polli e suini:** valutare ed implementare vari tipi di interventi (management) al fine di ridurre l'uso degli antibiotici e quindi l'AMR (100 aziende di polli e 100 di suini).

**AST:** calcolo della Concentrazione Minima Inibente (MIC), secondo quanto previsto dal progetto **su *E. coli* indicatori** isolati dalle feci (**Italia 600 isolati testati**).

# Risultati

## ITALIA risultati MIC *E. Coli* indicatori dalle feci



Resistenze fenotipiche riscontrate sono in linea con quanto già rilevato in Italia attraverso i piani di Monitoraggio e le attività descritte durante il corso di questa giornata!!

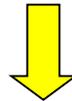
# Risultati...work in progress.....



## Al 3° anno di progetto

-Una massa imponente di dati e di informazioni relative ai campioni sono state raccolte mediante appositi questionari.

-In corso di elaborazione per poter essere utilizzate nelle previste analisi epidemiologiche/statistiche.



**Descrivere e quantificare in tutti gli allevamenti le pratiche di management, biosicurezza, benessere animale ed uso degli antimicrobici (AMU)**



**Studiare le relazioni tra tali parametri e le prevalenze di resistenza riscontrate (AMR)**

Ad oggi i dati sull'uso degli antimicrobici (AMU) nelle aziende di suini e polli sono già stati studiati e quantificati "defined daily/course dose for animals" (DDDvet e DCDvet)

# EFFORT risultati preliminari Italia AMU....Broilers

Classi molecole impiegate nell'allevamento del pollo da carne (20 aziende):

Amoxi + Colistina
Fluoroquinoloni
Macrolidi
Penicilline a spettro esteso
Polimixine
Trim&Sulfa

Durata media dei trattamenti x azienda: 8,2 giorni.

Spesso utilizzo di trattamenti di massa per via orale (acqua da bere)...metafilissi!

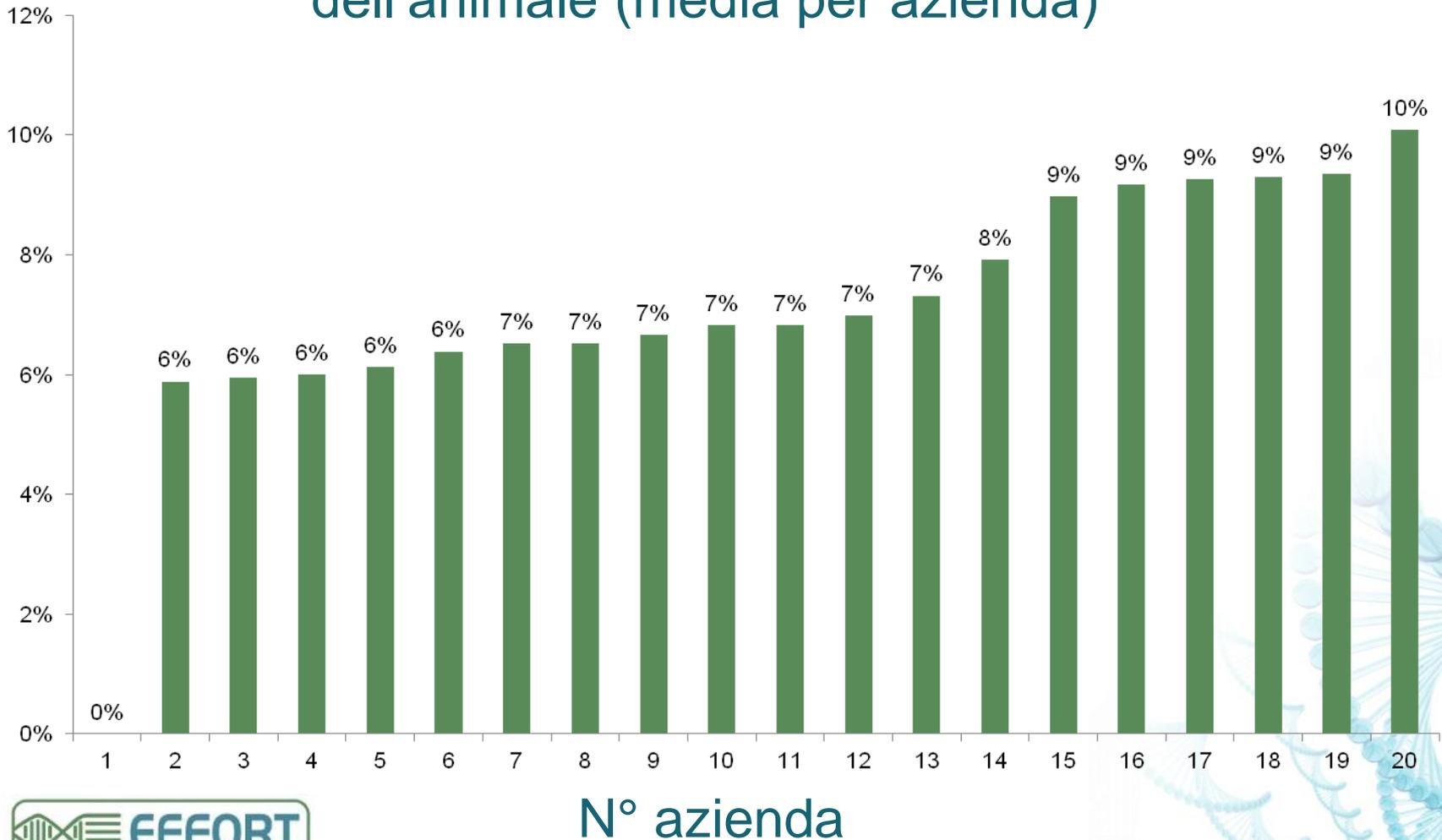
## Esempio azienda "X"

Classi molecole	Principi attivi	Dose d'uso (ml/litro d'acqua)	Via di somministrazione	Durata del trattamento (giorni)	Età al momento del trattamento (giorni)	DDDA	DCDA
Fluoroquinoloni	Enrofloxacina	0,5	orale (acqua da bere)	3	1	10	41
Penicilline a spettro esteso	Amoxicillina	150	orale (acqua da bere)	3	6	16	74
Macrolidi	Tilosina	100	orale (acqua da bere)	3	15	81	342
Trim&Sulfa	Sulfadiazine_TMP	1	orale (acqua da bere)	3	35	40,4	254

# Aziende di POLLI

Incidenza dei trattamenti con antimicrobici sulla base della  
used daily dose =

Percentuale dei trattamenti in proporzione alla vita  
dell'animale (media per azienda)



# EFFORT risultati preliminari **Italia AMU....suini**

- Utilizzo di tutte le classi di molecole, incluse cefalosporine di 3°-4° generazione.
- Spesso utilizzo di trattamenti di massa per via orale (premisccele, mangime medicato, acqua da bere)...metafilissi!

Durata media dei trattamenti x azienda: 51,3 giorni.

# EFFORT risultati preliminari Italia AMU....suini

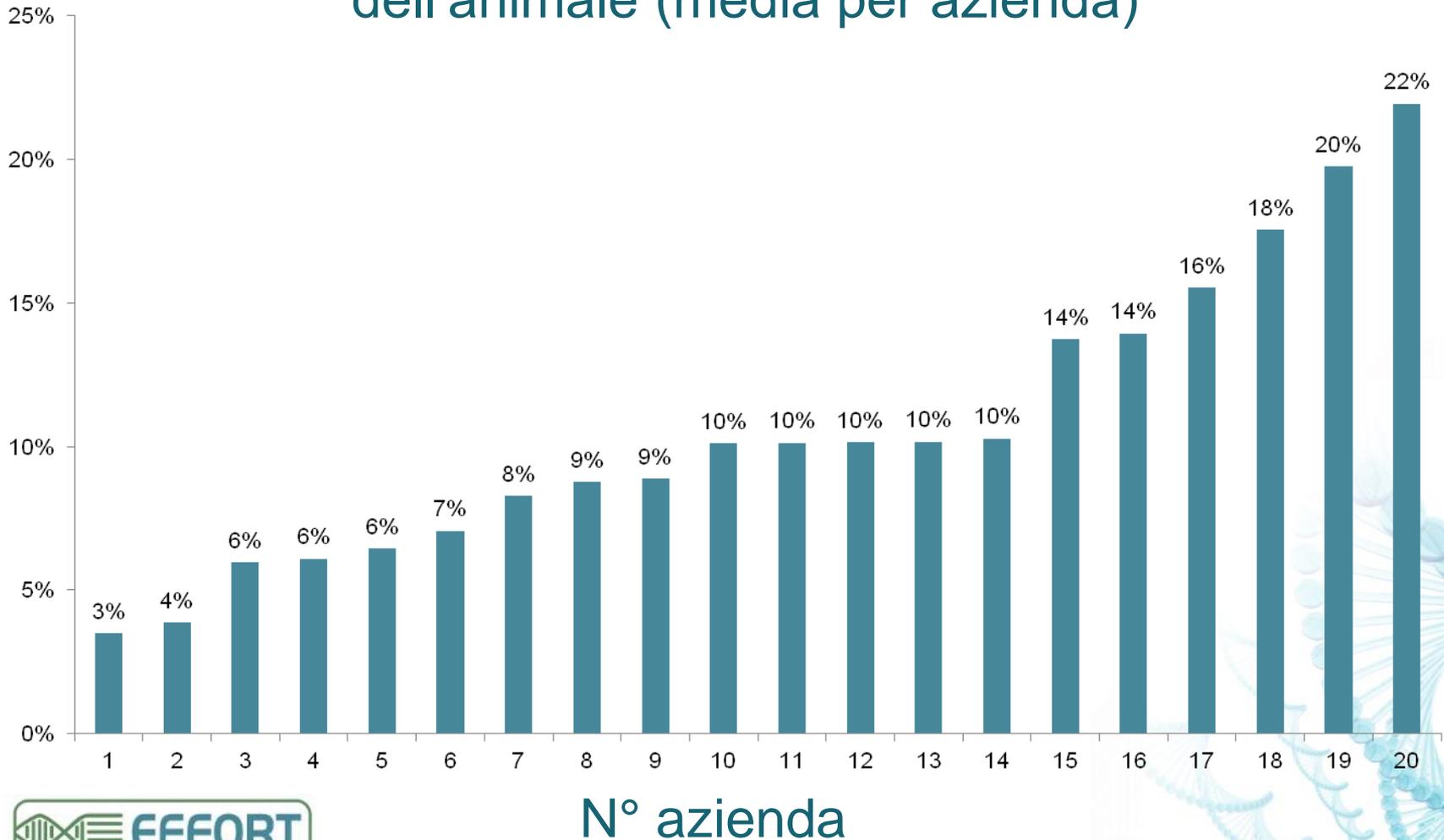
## Esempio azienda "Y"

Classi molecole	Principi attivi	Dose d'uso		Via di somministrazione	Durata del trattamento o (giorni)	Età al momento del trattamento (giorni)	Fase produttiva
Fluorochinoloni	Marbofloxacin	0.17	mg/kg animale	Parenterale	1	2	Suinetto lattante
Tetracicline	Chlortetracycline	3	sec	Spray	1	7	Suinetto lattante
Fluorochinoloni	Enrofloxacin	0.05	mg/kg animale	Parenterale	3	15	Suinetto lattante
Penicilline a spettro esteso	Amoxicillin	0.14	mg/kg animale	Parenterale	1	21	Svezzamento
Polimixina	Colistin Sulfate 12%	50	mg/kg animale	Acqua da bere	7	21	Svezzamento
Sulfonamidi e tetracicline	Sulfadimethoxine e Chlortetracycline	25000	mg/kg mangime	Premiscela medicata	5	21	Svezzamento
Amminoglicosidi	Gentamicin	170	ml/litro d'acqua	Acqua da bere	5	45	Post-svezzamento
Fenicoli	Thiamphenicol	0.25	mg/kg animale	Parenterale	2	60	Post-svezzamento
Tetracicline	Doxycycline	50	mg/kg animale	Acqua da bere	5	60	Post-svezzamento
Tetracicline	Doxycycline	57	mg/kg animale	Acqua da bere	5	110	Accrescimento-ingrasso
Fenicoli	Thiamphenicol	0.2	mg/kg animale	Parenterale	2	120	Accrescimento-ingrasso
Fenicoli	Florfenicol	0.075	mg/kg animale	Parenterale	2	120	Accrescimento-ingrasso
Fluorochinoloni	Enrofloxacin	0.05	mg/kg animale	Parenterale	3	120	Accrescimento-ingrasso
Polimixine	Colistin Sulfate 12%	50	mg/kg animale	Acqua da bere	5	135	Accrescimento-ingrasso
Macrolidi	Spiramycin	120	mg/kg animale	Premiscela medicata	5	135	Accrescimento-ingrasso
Chinoloni	Flumequine	60	mg/kg animale	Acqua da bere	5	135	Accrescimento-ingrasso
Fenicoli	Thiamphenicol	0.14	mg/kg animale	Parenterale	2	210	Accrescimento-ingrasso
Penicilline a spettro esteso	Amoxicillin trihydrate	0.02	mg/kg animale	Acqua da bere	3	260	Accrescimento-ingrasso
	Tot=14 differenti P.A.				Tot=62 g		

# Aziende di SUINI

Incidenza dei trattamenti con antimicrobici sulla base della  
used daily dose =

Percentuale dei trattamenti in proporzione alla vita  
dell'animale (media per azienda)



# EFFORT risultati preliminari **Italia AMU.....**

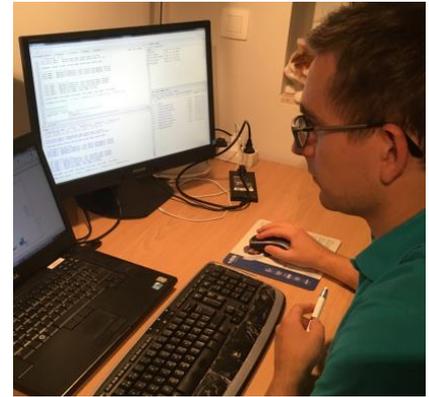
- Utilizzo consistente di trattamenti di massa per via orale...metafilissi!
- Utilizzo di trattamenti per una parte consistente della vita produttiva dell'animale!
- Utilizzo consistente anche di CIA! *“Più facili” e “più sicuri del risultato”*
- Risultati in linea con reports ESVAC “sorveglianza” europea del consumo di antimicrobici veterinari.

# Risultati...work in progress.....



I risultati ottenuti saranno utilizzati per:

- Analisi-epidemiologiche
- Intervention studies
- Analisi di rischio di esposizione all'uomo di germi resistenti
- Analisi sull'impatto economico dell'AMR



L'analisi dei dati raccolti e dei risultati ottenuti nei vari paesi viene effettuata in maniera aggregata (Olanda).....



The research leading to these results has received funding from the European Community's Seventh Framework Programme [FP7/2007-2013] under grant agreement n°613754.



**Grazie per l'attenzione!  
Domande?**



Universiteit Utrecht



WAGENINGEN UNIVERSITY  
WAGENINGENUR



SAFOSO



Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana

