Répartition des gènes de résistance aux antibiotiques dans le lisier de biogaz du modèle « porc-biogaz-fruit (PBF) »

ARG = acide aminé

Points forts

- Les boues de biogaz de PBF étaient une source de pollution de *tetC, tetM, tetO, tetW* et *sul* 1.
- Les particules de petite taille (< 250 µm) présentes dans la boue de biogaz transportaient principalement des ARG.
- Les hôtes potentiels de l'ARG dans les boues de biogaz sont principalement anaérobies.
- Les particules ARG inférieures à 250 µm nécessitent une filtration plus stricte, notamment dans les zones humides anaérobies.

Résumé

En tant que modèle d'agriculture écologique largement adopté, le système « porc-biogaz-fruits (PBF) » est devenu une voie clé pour la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques (GRA) du fumier de volaille aux agroécosystèmes via le lisier de biogaz.

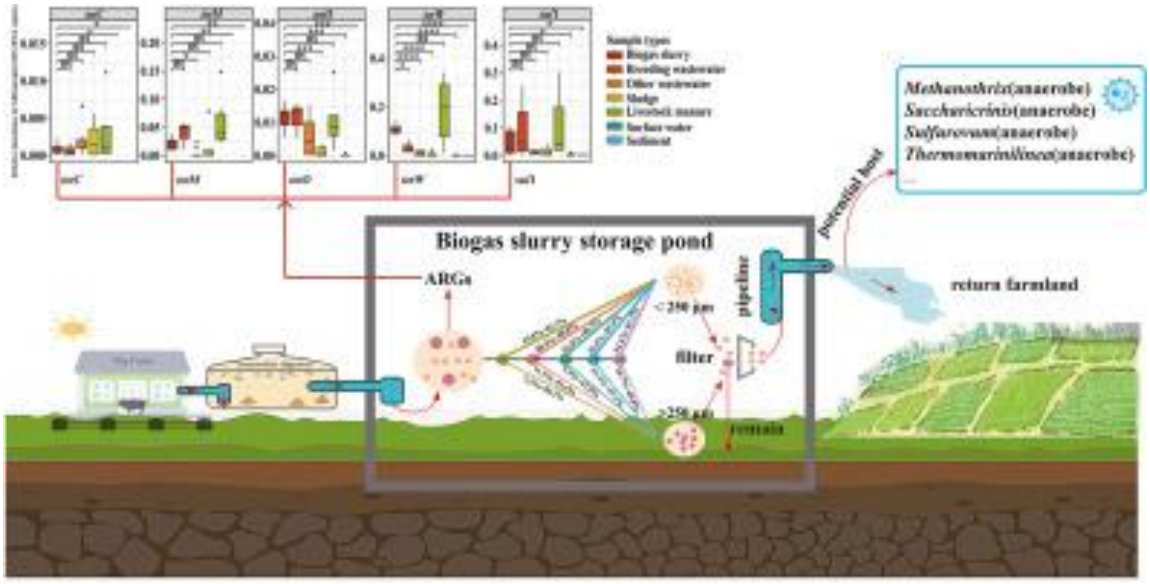
Cependant, les schémas de distribution et de transmission des GRA dans le lisier de biogaz du système PBF restent mal compris. Neuf GRA courants et le gène de l'intégron de classe 1 (*intI* 1) ont été détectés et quantifiés dans des échantillons de lisier de biogaz provenant de sept fermes PBF de la ville de Huazhou, Guangdong, Chine, par PCR quantitative.

Les abondances des gènes ont été analysées plus en détail sur différentes tailles de particules. Les résultats ont indiqué que le lisier de biogaz servait de réservoir pour *tetC* , *tetM* , *tetO* , *tetW* et *sul* 1. Les abondances de ces GRA étaient significativement plus élevées que celles des échantillons environnementaux naturels, et leurs niveaux étaient comparables, voire supérieurs, à ceux détectés dans les eaux usées et les boues.

Ces résultats ont mis en évidence le risque élevé de contamination par les ARG et sa propagation potentielle par l'application de boues de biogaz. Les petites particules (< 250 µm) transportaient significativement plus d'ARG que les particules plus grosses, l'analyse du réseau identifiant les genres anaérobies (par exemple, *Methanothrix*) comme hôtes potentiels dominants des ARG. Les particules inférieures à 250 µm, agissant comme principaux porteurs d'ARG, nécessitent un contrôle de filtration plus strict dans les zones humides anaérobies comme les rizières. Sur la base des schémas d'adaptation des hôtes, l'application préférentielle de boues de biogaz dans l'agriculture en zone sèche (par exemple, les vergers) est recommandée pour atténuer les risques de dissémination des ARG, bien que la validation sur le terrain des taux de survie des hôtes reste nécessaire.

Cette étude fournit une base théorique pour une meilleure gestion du modèle PBF.

Résumé graphique



Introduction

La technologie de digestion anaérobie est une méthode largement utilisée pour traiter les déchets de l'élevage porcin, offrant des avantages tels qu'une faible consommation d'énergie, une récupération d'énergie et un processus bien établi (Duan et al., 2020 ; Li et al., 2020). Le lisier de biogaz dérivé du lisier de porc traité en anaérobie est riche en nutriments et est utilisé comme engrais organique très efficace, offrant une alternative durable aux engrais chimiques (Luo et al., 2021). Ces dernières années, des pays comme la Chine, ainsi que plusieurs pays d'Europe et des États-Unis, ont adopté la digestion anaérobie du lisier de porc, favorisant le retour du lisier de biogaz dans les champs agricoles pour faciliter le recyclage des nutriments et la réduction des coûts (Abubaker et al., 2013 ; Wang et al., 2020).

Cependant, bien que l'application de boues de biogaz améliore les niveaux de nutriments du sol, elle présente également des risques environnementaux potentiels, notamment par la dissémination de polluants environnementaux, tels que les gènes de résistance aux antibiotiques (ARG), dans l'écosystème du sol.

Les ARG font référence à des gènes spécifiques présents dans le génome microbien qui confèrent une résistance aux antibiotiques (Pruden et al., 2006 ; Rysz et Alvarez, 2004). La crise de résistance aux antibiotiques causée par les ARG a été reconnue par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme l'un des trois problèmes de santé publique mondiaux les plus critiques du 21e siècle (OMS, 2014). En tant que contaminants environnementaux émergents, les ARG sont principalement introduits dans l'environnement par le rejet de fumier animal (Matthiessen et al., 2016 ; Xin et al., 2018 ; Zhang et al., 2022b), le fumier de porc étant identifié comme l'une des sources les plus importantes de stockage et de dissémination des ARG (Liu et al., 2019 ; Zhang et al., 2021b).

En particulier, les ARG qui confèrent une résistance à des antibiotiques spécifiques, notamment les sulfamides (Cheng et al., 2013), les tétracyclines (Guo et al., 2020), les macrolides (Ma et al., 2017), le chloramphénicol (Li et al., 2013a) et les quinolones (Li et al., 2012), ainsi que le gène de l'intégrase (Ma et al., 2017), sont fréquemment détectés dans des échantillons environnementaux en grande abondance, ce qui en fait des indicateurs clés pour suivre la propagation de la résistance dans les écosystèmes agricoles.

Des études ont montré que la digestion anaérobie peut réduire l'abondance des ARG dans le lisier de porc dans une certaine mesure (Gao et al., 2022a) ; cependant, une quantité

considérable d'ARG reste dans le lisier de biogaz. Sanz et al. (2021) ont rapporté que les concentrations d'ARG dans le lisier de biogaz provenant des fermes porcines sont particulièrement élevées, en particulier pour s *ul* 1 et *tetM* , avec des valeurs atteignant jusqu'à 10^{10} -10^{11} copies/g. Xu et al. (2023) ont également constaté que l'abondance absolue totale d'ARG dans le lisier de biogaz porcin était de $2,85 \times 10^{8}$ copies/mL, les principaux ARG, notamment *sul* 1, *sul* 2, *ermB* , *strA* , *tetM* , *tetQ* et *tetW* , présentant des abondances allant de 1,83 à $6,81 \times 10^{7}$ copies/mL. Par conséquent, l'application de lisier de biogaz contribue inévitablement à la propagation des ARG dans les sols agricoles.

Le modèle « porc-biogaz-fruits » (PBF) est un système agricole écologique, utilisé depuis longtemps dans le sud de la Chine et largement répandu aujourd'hui. Dans ce modèle, le lisier de biogaz est généralement stocké dans des bassins de stockage après production et, après des durées de stockage variables, transporté par pipeline vers les champs agricoles (par exemple, vergers, champs de légumes et rizières) pour être utilisé comme engrais. En tant que modèle d'agriculture écologique, son principe fondamental réside dans l'utilisation du lisier de biogaz comme lien entre l'élevage porcin et la production végétale, favorisant ainsi le recyclage efficace des déchets, de l'énergie et des engrais (Chen, 1997). Par conséquent, ce modèle est devenu une voie importante pour la diffusion des GRA issus du fumier de bétail et de volaille vers les terres agricoles et l'environnement naturel du sud de la Chine (Lu et al., 2021). Cependant, les caractéristiques de distribution et de transmission des GRA dans le lisier de biogaz dans ce modèle restent insuffisamment comprises.

Premièrement, en tant que source régionale importante d'émissions d'ARG, la plage spécifique de concentrations d'ARG dans ce système reste incertaine. De plus, le potentiel de propagation des ARG présents dans les boues de biogaz vers les terres agricoles est influencé par leur état physique. La plupart des ARG se trouvent principalement dans les cellules de micro-organismes (Samanta et al., 2022 ; Zhang et al., 2018b).

Dans les boues de biogaz, les communautés microbiennes sont dominées par les bactéries et les archées, dont les cellules sont principalement attachées à des particules en suspension de différentes tailles (Zhang et al., 2018a). Cela suggère que les particules de différentes tailles représentent les principaux vecteurs d'ARG dans les boues de biogaz.

En entrant dans les bassins de stockage, les grosses particules (supérieures à 250 µm) se déposent rapidement au fond du bassin par gravité et deviennent des sédiments de fond, ce qui réduit la probabilité que les ARG associés à ces particules soient attirés dans le pipeline de transport. Par conséquent, leur potentiel de propagation vers les terres agricoles diminue. De plus, de nombreux modèles PBF utilisent l'irrigation goutte à goutte ou par aspersion à la sortie des canalisations de lisier de biogaz. Pour éviter le dépôt de particules dans les canalisations et le colmatage des sorties, des filtres à mailles plus fines (250 µm ou moins) sont généralement utilisés pour filtrer les particules plus grosses.

Par conséquent, seuls les GRA associés à des particules plus petites (moins de 250 µm) sont plus susceptibles d'être transportés vers les terres agricoles (Wang et Chen, 2022). Cependant, les hôtes bactériens et archéens des GRA présents dans ces particules plus petites du lisier de biogaz, ainsi que leur potentiel de dissémination après leur pénétration dans les terres agricoles, restent mal connus. Il est crucial de traiter ces questions pour contrôler efficacement le risque de propagation des GRA dans le modèle PBF.

À Huazhou, dans la province du Guangdong, en Chine, on compte plus de 100 fermes écologiques PBF. Pour cette étude, des échantillons de lisier de biogaz ont été prélevés dans sept fermes représentatives. L'accent a été mis sur l'analyse des types typiques de GRA, notamment : (1) la détermination de leurs plages de concentration et l'évaluation du niveau de contamination

en les comparant aux GRA présents dans différents environnements ; et (2) l'examen de leur distribution sur des particules de différentes tailles, en insistant particulièrement sur les petites particules, ainsi que l'identification des hôtes bactériens et archéens potentiels de ces GRA. Cette étude visait à élucider les schémas d'enrichissement des GRA dans le lisier de biogaz et ses particules de différentes tailles au sein du système PBF. En analysant les caractéristiques de distribution des GRA et de leurs hôtes microbiens potentiels, nous avons évalué les risques de transmission associés à l'épandage de lisier de biogaz en agriculture. Ces résultats fournissent une base scientifique pour optimiser les stratégies de gestion du lisier afin de concilier les avantages écologiques de l'agriculture avec la nécessité de contrôler la pollution environnementale.

Informations sur les fermes porcines

Nous avons sélectionné sept fermes écologiques PBF représentatives à Huazhou, désignées GC, GF, GX, RF, WL, YR et ZJ (Fig. 1) (des informations détaillées sont fournies dans le Tableau S1). Dans ces fermes, le lisier de biogaz est produit à partir de lisier de porc par digestion anaérobie dans des cuves de biogaz, puis stocké dans des bassins de stockage avant d'être épandu sur les terres agricoles selon les besoins pour la fertilisation. La durée de stockage du lisier de biogaz dans les bassins varie selon les fermes, allant généralement de quelques semaines à quelques semaines.

Quantification des ARG dans les boues de biogaz

La figure 2 présente l'abondance absolue (copies/mL) de différents ARG et *d'intI* 1 dans des échantillons de lisier de biogaz provenant de sept élevages porcins. Les neuf ARG et *intI* 1 sélectionnés ont été détectés dans chaque échantillon de lisier de biogaz, bien que leurs niveaux d'abondance varient. Des études antérieures ont montré que dans certains échantillons riches en ARG, tels que le fumier de bétail et les eaux usées domestiques, *tetW* , *tetM* , *tetO* et *sul* 1 sont généralement dominants, avec des concentrations significativement plus élevées que celles des cinq autres ARG (Cheng et al., 2013 ; Guo et al.,

Conclusions

En conclusion, cette étude a démontré que les boues de biogaz du système PBF constituaient un réservoir majeur d'ARG, les petites particules (< 250 µm) servant de vecteurs primaires, en particulier pour les ARG à haut risque tels que *tetO* , *tetM* , *tetW* et *sul* 1. Le séquençage du gène de l'ARNr 16S a également révélé que la communauté microbienne de ces petites particules était principalement composée de genres anaérobies, tels que *Methanothrix* , qui prospèrent dans des environnements riches en matières organiques et localement anaérobies.

Déclaration de contribution d'auteur

Huamei Chen : Rédaction – version originale, visualisation, validation, méthodologie, investigation, analyse formelle, conceptualisation. **Yingqi Liao :** investigation, conceptualisation. **Shanshan Chen :** investigation, analyse formelle. **Wenqing Huang :** visualisation, analyse formelle. **Zian Yang :** investigation, conservation des données. **Guanbao Ye :** méthodologie, investigation. **Rongmin Zhang :** Rédaction – relecture et édition, méthodologie, conceptualisation. **Yunxiao Chong :** Rédaction – relecture et édition, supervision, projet.

Déclaration d'intérêts concurrents

Les auteurs déclarent qu’ils n’ont aucun intérêt financier concurrent connu ni aucune relation personnelle qui aurait pu sembler influencer le travail rapporté dans cet article.

Remerciements

Ce travail a été soutenu par le Programme scientifique et technologique de Guangzhou , Chine (n° 2023B03J1331) et le Système technologique industriel agricole moderne de la province du Guangdong (n° 2024CXTD17).

Références (62)

- J. Abubaker *et al.*

Structure de la communauté bactérienne et activité microbienne dans différents sols amendés avec des résidus de biogaz et du lisier de bétail
Appl. Écol. du sol
(2013)

- P. Anburajan *et al.*

Rôle de la détection et de l'extinction du quorum dans la digestion anaérobie : une revue de la littérature
Environ. Rés.
(2023)

- ET Anthony *et al.*

Potentiel des méthodes à faible coût pour l'élimination des bactéries résistantes aux antibiotiques et de leurs gènes dans les communautés à petit budget : une revue
J. Ing. des procédés de l'eau
(2021)

- R. Chen

Systèmes d'élevage, de biogaz et de production de fruits dans le sud de la Chine
Ing. écol.
(1997)

- W. Cheng *et al.*

Abondance et persistance des gènes de résistance aux antibiotiques dans les élevages : une enquête approfondie dans l'est de la Chine
Environ. Int.
(2013)

- C. Du *et al.*

Analyse métagénomique de la structure de la communauté microbienne et de la distribution des gènes de résistance dans le lac Daihai, en Chine
Environ. Pollut.
(2022)

- N. Duan *et al.*

Analyse du cycle de vie de la digestion anaérobie du lisier de porc couplée à différentes technologies de traitement du digestat
Environ. Int.
(2020)

- Y. Feng *et al.*

Structure de la communauté microbienne et profils de résistance aux antibiotiques dans les sédiments ayant une longue histoire d'aquaculture
J. Environ. Manag.
(2023)

- WX Gao *et al.*

Étude des changements dans les caractéristiques des gènes de résistance aux antibiotiques à différents stades de réaction de la digestion anaérobie à haute teneur en solides avec du fumier de porc
Environ. Pollut.
(2022)

- Y. Gao *et al.*

Métagénomique et analyse de réseau élucidant la coordination entre les bactéries fermentaires et les microalgues dans un nouveau réacteur de couplage bactéries-algues (BACR) pour le traitement des eaux usées de la mariculture
Eau Res.
(2022)