

Fiche projet 2021-83 - BactResist Dissémination d'antibiorésistance dans les BV ruraux

TITRE DU PROJET :

Evaluation de la dissémination de gènes de résistance bactériens à l'échelle d'un petit bassin versant rural en lien avec la pédologie, l'usage des sols et le fonctionnement hydrologique. **BactResist**

RESPONSABLE SCIENTIFIQUE DU PROJET :

Jean MARTINS (IGE Grenoble UMR 5001) & Sylvie NAZARET (LEM Lyon UMR 5557)

EQUIPES DE RECHERCHES ZABR CONCERNEES et CONTACT SCIENTIFIQUE DE L'EQUIPE

IGE UMR 5001 Grenoble : Jean MARTINS, Guillaume Nord, Cédric Legout, Marie-Christine Morel, Lorenzo Spadini, Céline Duwig, Laurent Oxarango, Armelle Crouzet.

LEM UMR 5557 Lyon : Sylvie NAZARET, Sabine Favre-Bonté, Elisabeth Brothier, Agnès Richaume

AUTRES PARTENAIRES

(préciser leur degré d'implication et leur accord) 181003301/0

- Recherche :
- Institutionnel :

THEME DE RATTACHEMENT ZABR

Flux polluants, écotoxicologie, écosystèmes (FPPE), Flux - Formes - Habitats - Biocénoses (FFHB)

THEME DE RATTACHEMENT AGENCE DE L'EAU -QUESTIONS AGENCE DE L'EAU

Thème : La protection, la restauration des milieux et les gains écologiques

Thématique : Restauration, fonctionnement physique

Q22 : Quels impacts des substances sur l'écosystème et l'état écologique du Rhône ?

Q24 : Quels apports du fleuve à la mer et quelles tendances ?

Q44 : Quels sont les enjeux de santé-environnement ?

SITE OU OBSERVATOIRE DE RATTACHEMENT ZABR

BV Claduègne, Ardèche (OHMCV)

RESUME DU PROJET GLOBAL (15 lignes max)

La présence généralisée des produits pharmaceutiques, et en particulier des antibiotiques, dans les milieux naturels est aujourd'hui avérée, notamment en lien avec l'accroissement des sources diffuses de ces produits et grâce à l'amélioration des performances analytiques. La contrepartie est le développement incontrôlé de résistances bactériennes aux antibiotiques largement lié à l'adaptation des espèces indigènes mais aussi à la dissémination de bactéries résistantes à ces antibiotiques (BRA pour Bactéries Antibio-Résistantes) dans les écosystèmes, qui sont de plus en plus identifiés comme des réservoirs de bactéries pathogènes, parfois multi-résistantes. Par ailleurs, la présence conjointe dans l'environnement de contaminants chimiques tels que les métaux, co-sélecteurs de résistances, contribue à la persistance de ces BRA. L'antibiorésistance est ainsi devenue une préoccupation majeure de santé publique, et dans la perspective One Health et EcoHealth « Une seule santé », il convient de considérer la part des activités anthropiques dans la dissémination et la persistance de gènes de résistance aux antibiotiques (GRA) ou de BRA exogènes et d'évaluer leurs conséquences sur la biodiversité et les fonctions des communautés microbiennes indigènes des milieux naturels terrestres et aquatiques. En milieu rural, l'augmentation de l'activité d'élevage (porcins, ovins, bovins, volailles, ...) participe à l'augmentation du relargage de nutriments et de microorganismes ou de leurs gènes vers les sols et les eaux avec des risques potentiels pour la santé des écosystèmes (changements de biodiversité et de la qualité globale) et des humains (pandémies,...). Dans ce contexte, ce projet vise à évaluer la prévalence de GRA dans les sols et eaux de surface à l'échelle d'un petit bassin versant rural sujet à divers types d'occupation des sols et de contamination, l'objectif étant de déterminer les sources et les pressions de sélection contrôlant la dynamique spatiale et temporelle de ces gènes. Pour cela, nous proposons de suivre la qualité bio-physico-chimique à l'exutoire du BV de la Claduègne et en différents sous-bassins en fonction de l'usage des sols et des élevages présents. Ainsi, les résultats de suivis spatio-temporels sur environ 12 sites stratégiques nous permettront de mettre en regard la

dynamique de l'ABR avec les données existantes de contamination chimique (projet récent Pharma BV), la pédologie, l'usage des sols et le fonctionnement hydrologique du bassin (suivi récurrent via OHMCV).

Livrables :

Une base de données de la qualité physicochimique des eaux de surface de la Claduègne collectées pendant le projet.

Une base de données de la distribution des gènes d'antibiorésistance dans les sols et les eaux de surface de la Claduègne collectés pendant le projet.

Une meilleure compréhension de la dynamique de l'antibiorésistance dans un BV rural en lien avec les sources potentielles identifiées et monitorées et les caractéristiques pédo-hydrologiques du bassin.

Présentation des résultats aux acteurs locaux du BV : gestionnaires du territoire (gestionnaires cours d'eau et STEP), acteurs de l'agriculture (chambre d'agriculture, agriculteurs, éleveurs, vétérinaires) et du tourisme (camping) (Conférences, formations, entretiens, débats...).

ENCART 2021-83-BactResist- IGE UMR 5001 (Martins Jean)

- Tache de l'équipe dans le projet

Suivi hydrologique et échantillonnage d'eaux, de sols et de microorganismes. Corrélation des dynamiques de gènes et des propriétés du bassin. Modélisation des flux de bactéries et de gènes d'antibiorésistance à l'échelle du BV.

ENCART 2021-83-BactResist-LEM UMR 5557 (Nazaret Sylvie)

- Tache de l'équipe dans le projet

Analyse des gènes d'antibiorésistance et suivi de la dynamique de bactéries au sein du BV rural.

FINALITES ET ATTENDUS OPERATIONNELS (1 p. maxi) :

Une meilleure connaissance combinée de la nature et du niveau des principaux antibiotiques et gènes de résistance rencontrés dans les bassins versants ainsi que de leurs sources et du rôle de ces différents facteurs dans leur dynamique et leur devenir permettra de mieux comprendre leur dissémination à grande échelle. A terme, elle contribuera à limiter l'émission de ces produits pharmaceutiques et des microorganismes porteurs d'antibiorésistances vers les milieux naturels et/ou à proposer des stratégies de mitigation adaptées.

Les connaissances issues de ce projet seront présentées aux gestionnaires des écosystèmes ruraux afin de leur permettre de mieux appréhender la problématique de l'antibiorésistance et de sensibiliser les acteurs de l'agriculture et de la santé aux risques associés à la dissémination volontaire ou non de ce type de ressources biologiques contenues dans les résidus organiques ou déchets animaux.

L'accroissement de nos connaissances sur les trajectoires futures de la biodiversité microbienne des écosystèmes pourrait ainsi être d'une grande utilité pour les gestionnaires de ces milieux et les décideurs qui cherchent à comprendre la sensibilité de la biodiversité des sols et eaux et des fonctions des écosystèmes en réponse aux activités anthropiques et à leurs effets (Delgado-Baquerizo et al., 2020). L'azote, un nutriment majeur pour le fonctionnement des écosystèmes et dont la disponibilité est un facteur clé pour la gestion des sols en contexte agricole, est retenu comme modèle pour évaluer les effets d'intrants contenant potentiellement des gènes de résistance aux antibiotiques, voir directement des antibiotiques.

OBJECTIFS ET METHODOLOGIE (2 p. maxi) :

Contexte

Les antibiotiques ont révolutionné la santé humaine en contrôlant les infections microbiennes (Kumar et al., 2019) et, plus récemment, en les utilisant comme pesticides et additifs alimentaires pour augmenter la production dans l'agriculture et l'élevage (Gonzalez Ronquillo et Angeles Hernandez, 2017 ; Cowieson et Klünter, 2019). Leur utilisation intensive a cependant conduit à leur libération régulière et répétée dans les écosystèmes au point que de nombreux milieux aquatiques et terrestres sont aujourd'hui contaminés par des antibiotiques (Anses 2020, Morel et al. 2014, Di Cesare et al. 2016, Archundia et al. 2017, Cycoń et al., 2019). Parallèlement, les activités humaines telles que l'épandage de déchets organiques, traités ou non, contribuent à la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques (GRA) ou de bactéries résistantes aux antibiotiques (BRA) dans les sols (Kelsic et al., 2015 ; Nicoloff et Andersson, 2016 ; Yelin et Kishony, 2018). L'influence de cet apport de BRA exogènes sur les communautés bactériennes indigènes des sols et autres compartiments environnementaux, couplés à la présence de contaminants chimiques co-sélecteurs d'antibiorésistance (i.e. antibiotiques, métaux, biocides,...) et les impacts environnementaux associés sont de plus en plus évidents mais encore mal compris, bien que des processus de transfert horizontal des gènes de résistance vers les agents pathogènes humains, ou de co-sélection de résistance aient été montrés (e.g. Di Cesare et al. 2016). Ainsi les pressions de sélection exercées par les niveaux de contaminations aux antibiotiques des milieux mais aussi d'autre contaminants (co-sélection), sont aujourd'hui bien reconnues depuis les années 1980 (co-sélection de résistance par divers types de métaux, biocides antiseptiques, désinfectants, pesticides...), bien que peu documentées pour ce qui est des études *in situ*.

Les communautés microbiennes des sols et des eaux, quantitativement dominantes, sont impliquées dans un large éventail de fonctions des écosystèmes (Delgado-Baquerizo et Eldridge, 2019 ; Tedersoo et al., 2014) comme la décomposition, la pathogénèse, les cycles des nutriments (Stürmer et al., 2018) avec des implications pour le bien-être humain (santé humaine, production alimentaire ; Wall et al., 2015) et la durabilité des écosystèmes (Bahram et al., 2018 ; Tedersoo et al., 2014). L'introduction de BRA exogènes dans les écosystèmes, notamment terrestres et aquatiques, est apparentée à l'invasion microbienne, un concept décrivant le transport de microbes hors de leur habitat d'origine dans un nouvel environnement en raison, par exemple, du changement climatique, des activités anthropiques ou de la migration

forcée de plantes ou d'animaux (Thakur et al., 2019). La dynamique de ces BRA est largement responsable de la dynamique de l'ABR dans les écosystèmes, et contrôlée par la capacité des BRA à survivre dans le milieu et entrer en compétition avec les microorganismes indigènes des milieux, notamment ceux impliqués dans les grands cycles biogéochimiques comme le carbone ou l'azote, centraux pour le fonctionnement des écosystèmes et déterminants pour leur gestion. Ainsi, cette dynamique des BRA exogènes, ou invasion biologique, peut induire des effets restructurants sur les communautés microbiennes des écosystèmes (notamment vis à vis des BRA indigènes), perturbant ainsi leurs biodiversité, fonctions et productivité, et donc la qualité des milieux (Kinnunen et al. 2018). Pour ce qui est des communautés bactériennes et plus précisément des BRA, une des conséquences de ces phénomènes, amplifiés par les niveaux de contamination qui favorisent l'installation des BRA dans les écosystèmes (Xu et al. 2021), est leur survie durable dans les milieux et les modifications pérennes de la biodiversité microbienne (Amalfitano et al. 2014, De Schryver et al. 2014, Mallon et al. 2015, Van Elsas et al. 2007, Cao et al., 2016, Xu et al. 2021).

Objectifs

Dans ce contexte, le projet BactResist vise à évaluer la prévalence des GRA dans les sols et eaux de surface à l'échelle d'un petit bassin versant rural sujet à divers types d'occupation des sols et de contaminations afin de déterminer les sources et les pressions de sélection (antibiotiques ou autres polluants) contrôlant la dynamique spatiale et temporelle de ces gènes. Pour cela nous envisageons d'évaluer plus particulièrement la contribution de pratiques agricoles (i.e. pâturage, épandage d'amendements organiques d'origine animale, viticulture...) et des contaminants introduits au travers de ces pratiques (antibiotiques, métaux lourds, pesticides...) connus pour (co)-sélectionner la résistance aux antibiotiques. Nous considérerons également leur effet sur des groupes majeurs de microorganismes modèles impliqués dans le cycle d'azote, élément central du fonctionnement et de la qualité des milieux, en lien notamment avec la fertilité des sols ou l'eutrophisation. L'objectif est de mettre en regard les mesures d'ABR avec la nature et l'usage des sols, l'hydrologie du bassin et sa contamination et les effets sur des groupes de microorganismes indicateurs du fonctionnement des écosystèmes.

Méthodologie

Le site « Rivières Cévenoles » est envisagé pour cette étude, et en particulier le bassin versant de la Claduègne (sous bassin de l'Auzon) situé dans le Bas-Vivarais en Ardèche. Ce BV présente une spécificité régionale forte avec la mixité de zones agricoles (prairies, élevages et vignes) et de zones de sols dégradés sur marnes (apports sédimentaires importants) avec des zones de pâturage (>5500 unités de gros bétail), des zones potentielles d'épandage de boues d'épuration ainsi que de stations d'épuration, des zones d'habitation ou touristiques (2 grands campings) et d'un hôpital (Tableau 1), connus pour être des sources potentielles de produits pharmaceutiques et donc d'antibiorésistance (Rapport ANSES, 2020). Ce bassin versant est par ailleurs instrumenté pour un suivi à haute fréquence spatiale et temporelle des précipitations et des flux hydro sédimentaires depuis 2010 (Nord et al, 2016) dans un contexte de cours d'eau intermittents soumis à des événements hydrologiques intenses et très variables spatialement (site pilote OHMCV). Ce contexte hydrométéorologique donne une importance particulière aux premières crues de l'année (période automnale) pour la mobilisation des sédiments et des polluants/microorganismes associés lors de la remise en eau des rivières. Cette spécificité sera prise en compte dans notre stratégie d'échantillonnage qui sera calquée sur celle mise en œuvre dans le projet ZABR IDESOC (en cours) et impliquant le partenaire IGE qui génère des données relatives à l'hydrologie, à l'érosion des sols et aux pollutions chimiques...

Nous proposons de nous appuyer sur la base de données existantes et sur celles acquises dans ce projet pour affiner les corrélations entre la dynamique de l'ABR et les caractéristiques environnementales ainsi que sur les résultats obtenus dans le cadre du projet PharmaBV (2017-2019).

Tableau 1 : Sources potentielles de produits pharmaceutiques et gènes de résistance aux ATB dans le bassin versant

Hôpital Claude Dejeu	344 lits
Élevage	5500 UGB
STEP Villeneuve de Berg	2600 Eghab
Deux campings	>1000 hab (été)

Ainsi, ce projet sera basé sur la méthodologie d'échantillonnage stratégique mise au point dans le projet PharmaBV, sur la base d'enquêtes auprès d'éleveurs et vétérinaires et sur le suivi de produits pharmaceutiques ainsi que pendant la thèse de Nico Hachgenai (en cours à l'IGE) sur la dissémination de l'antiparasitaire Ivermectine. En effet, en milieu rural, l'augmentation du nombre et de la diversité d'élevages (porcins, ovins, bovins, volailles, ...) participe à l'augmentation du relargage de nutriments et de microorganismes vers les sols et les eaux, notamment au travers des excréments animaux sur les pâturages, avec les risques potentiels pour la santé des écosystèmes et humains (Monaghan et al., 2007). Les pratiques d'élevage peuvent donc être une source significative de pollutions chimiques et biologiques diffuses dans les zones rurales (Wilcock et al., 2006), en parallèle aux épandages de produits résiduels, contenant souvent divers métaux en traces. Dans le cadre de ce projet, nous proposons de suivre la qualité physicochimique et bactérienne à l'exutoire du BV de la Claduègne et en différents sous-bassins en fonction de l'usage des sols et des élevages présents.

Stratégie d'échantillonnage :

Le site d'étude.

Comme précisé ci-dessus, nous proposons de développer le projet BactResist sur le site Rivières Cévenoles, en particulier le bassin versant de la **Claduègne** (43 km²) qui présente des zones agricoles (prairies, élevages et vignes) et également des zones de sols dégradés sur marnes (apports sédimentaires importantes) et un climat dominé par l'influence méditerranéenne. La partie septentrionale du bassin versant se caractérise par le plateau du Coiron situé entre 600 et 1000 m d'altitude et constitué de roches basaltiques délimité par un contour de falaise. Les deux tiers méridionaux du bassin sont composés de roches sédimentaires marno-calcaires et situés dans une gamme d'altitude comprise entre 200 et 500 m. Les types de sols sont fortement influencés par la géologie du bassin versant. Les principaux types d'utilisation des terres sont des pâturages, des vignes et des forêts de feuillus le long des vallées incisées. L'élevage est aussi une activité importante sur le bassin : élevage bovin extensif sur les prairies du plateau du Coiron, élevages porcins, caprins et avicoles sur les coteaux

marno-calcaires. Le bassin versant de la Claduègne est instrumenté depuis 2011 pour [un suivi à haute fréquence spatiale et temporelle des précipitations et des flux hydro sédimentaires](#) dans un contexte de cours d'eau intermittents soumis à des événements hydrologiques intenses et très variables notamment à l'automne et au printemps (site pilote OHMCV). Nous envisageons environ 12 sites de prélèvements stratégiquement placés sur le bassin, où seront suivis dans les eaux de surface et dans leurs sédiments sur 2 années et les 4 saisons, l'hydrologie, la qualité physicochimique de l'eau, le niveau de plusieurs indicateurs d'antibiorésistance et l'abondance des bactéries ainsi que 3 métaux traces, en lien avec de possibles co-sélections d'antibiorésistance. Nous proposons aussi de déterminer ces paramètres ponctuellement dans les principaux sols du BV ainsi que dans leurs eaux de ruissellement lors de plusieurs événements pluvieux et dans les différents déchets ou amendements organiques utilisés sur le bassin.

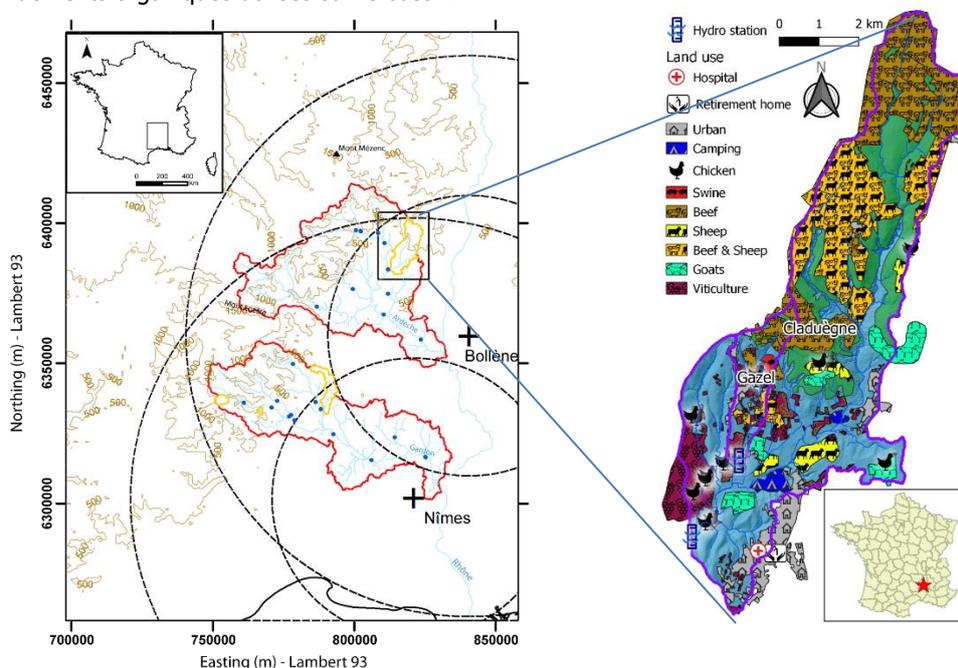


Figure 1 : Localisation du site d'étude de la Claduègne situé dans le BV de l'Auzon, qui fait partie des sites pilotes de l'OHMCV (Projet FloodScale, Braud et al., 2014). Les BV du Gardon (2062 km²) dans le sud et de l'Ardèche (2388 km²) dans le nord sont délimités en rouge et les stations hydrométriques opérationnelles sont présentées sous forme de points bleus tout au long des rivières principales. Le sous bassin de la Claduègne est visualisé par un rectangle noir, détaillé dans la carte de droite avec les usages des sols et les activités agricoles et de tourisme (Hachgenai et al. 2020).

Éléments chimiques :

Les ions majeurs ainsi que quelques éléments métalliques traces (ETM) principaux (Cu, Zn et/ou Cd) connus pour favoriser la persistance des BRA par des phénomènes de co-sélection de résistances aux métaux et aux antibiotiques, pour lesquels des gènes de résistance sont connus seront suivis dans le projet. Pour les ions majeurs, BactResist s'appuiera sur les analyses effectuées dans le cadre des missions de suivi du SNO OHMCV et dans le projet ZABR IDESOC. Seuls les ETM seront analysés spécifiquement dans BactResist lors des épandages, et dans les sols et rivières échantillonnés ponctuellement ainsi que lors de 2 à 3 épisodes pluvieux générant des crues.

Microorganismes et gènes de résistance

Nous nous intéresserons à divers indicateurs/marqueurs d'antibiorésistance qui sont la prévalence et l'abondance des *Escherichia coli* résistants aux céphalosporines de 3^{ème} génération et un certain nombre de GRA et de gènes de résistance aux métaux. La prévalence et l'abondance d'*Escherichia coli* résistants seront évaluées par une approche de microbiologie pasteurienne impliquant la culture sur des milieux sélectifs. Celles des gènes de résistance aux antibiotiques ou aux métaux impliqueront une quantification par qPCR en temps réel et/ou ddPCR selon une méthodologie déjà décrite pour les sols et les amendements organiques (Cavé et al, 2016) et bien maîtrisée au LEM. Cette recherche sera réalisée sur l'ADN méta-génomique d'échantillons de sol, sédiment ou eau. Les gènes ciblés correspondent à la résistance vis-à-vis de différentes classes d'antibiotiques (sulfamides, tétracyclines, macrolides, glycopeptides, quinolones, et céphalosporines) susceptibles d'être retrouvés dans les déchets d'origine animale et/ou recommandés comme indicateurs pertinents pour l'étude de la dynamique de l'antibiorésistance par l'ANSES (Saisine 2016-SA-0252 - Antibiorésistance et environnement, 2020). Nous ciblerons ainsi un allèle des gènes *sul*, *tet*, *erm*, *van*, *qnr*, *bla*CTX-M et l'intégron de classe 1, *int1*. Pour ce qui est de la résistance aux métaux, nous nous intéresserons aux gènes *cop/cus* et *czc* impliqués respectivement dans la résistance au cuivre, au zinc et au cadmium. Ces gènes ont la particularité d'être co-localisés sur les génomes et co-transférés par transfert horizontal de gènes avec des GRA. Le niveau de ces gènes sera comparé dans tous les échantillons étudiés à celui du gène codant l'ARNr 16S des bactéries, indicateur de leur abondance globale. Ces données seront mises en regard des mesures pédologiques et hydrologiques ainsi que des données de contaminations chimiques obtenues dans cette étude (ETM) ou des projets Pharma-BV (2018) et Idesoc (2021).

Suivi de l'effet des GRA sur un indicateur microbien : le groupe fonctionnel nitrifiant des sols et des eaux du bassin versant

Nous nous intéresserons au suivi des archées et des bactéries oxydatrices de l'ammonium (AOA et AOB). Celles-ci constituent de bons modèles biologiques car elles sont responsables de la première étape de la nitrification et occupent des niches différentes. Leur abondance relative est en effet conditionnée dans les sols par différents facteurs comme le pH et la teneur en nutriments, notamment la disponibilité en NH_4^+ (Taylor et al. 2012 ; Sun et al. 2019) mais leur sensibilité à des perturbations d'origine anthropique est différente [e.g. les AOB sont plus résistantes que les AOA à la présence de Zn dans un sol (Mertens et al. 2009) ; les AOA sont plus résistantes à l'enrofloxacin et au Cd dans un sol contaminé après 28 jours d'exposition (Wang et al. 2018) ; l'exposition répétée d'un sol à du fumier contaminé au sulfadiazine a montré une augmentation d'un facteur 15 du ratio AOA/AOB (Ollivier et al. 2013)]. Les gènes *amoA* des AOA et des AOB codant le site actif de l'ammonium monooxygénase seront quantifiés par qPCR et le ratio sera utilisé comme un indicateur d'effet des GRA sur la communauté microbienne fonctionnelle. En parallèle des mesures de l'activité de nitrification seront réalisées sur les échantillons environnementaux (sol et eau) par photométrie (Smartchem 200, KMP Analytics, France).

DUREE DU PROJET :

La durée du projet sera de 2 ans afin de pouvoir réaliser les campagnes de terrain sur 2 saisons complètes pour l'échantillonnage des sols (1 campagne) et des eaux de surfaces et MES (4 campagnes, en étiage et en crue) sur 18 mois (2 saisons pluvieuses) plus 6 mois pour les analyses, traitements des données, modélisation et valorisation des résultats.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Amalfitano S, Coci M, Corno G, Luna GM. A microbial perspective on biological invasions in aquatic ecosystems. *Hydrobiol.* 2014; 746:13–22.
- Anses. Saisine 2016-SA-0252 - Antibiorésistance et environnement, Décembre 2020.
- Archundia, D., C. Duwig, F. Lehembre, S. Chiron, M-C Morel, B. Prado, M. Bourdat-Deschamps, E. Vince, G. Flores Aviles and J.M.F. Martins. Antibiotic pollution in the Katari subcatchment of the Titicaca Lake: major transformation products and occurrence of resistance genes. *Sci. Total Environ.* 576: (15) 671–682. 2017.
- Bahram, M., Hildebrand, F., Forslund, S.K. *et al.* Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature* **560**, 233–237 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0386-6>
- Cao J., C. Wang, Z. Dou, D. Ji. Independent and combined effects of oxytetracycline and antibiotic-resistant *Escherichia coli* O157:H7 on soil microbial activity and partial nitrification processes. *Soil Biol. Biochem.* 98: 138-147. 2016.
- Cowieson, A.J., Kluever, A.M., 2019. Contribution of exogenous enzymes to potentiate the removal of antibiotic growth promoters in poultry production. *Anim Feed Sci Tech* 250, 81–92.
- Cycoń, M., Mroziński, A., Piotrowska-Seget, Z., 2019. Antibiotics in the soil environment degradation and their impact on microbial activity and diversity. *Front. Microbiol.* 10, 338. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00338>.
- Delgado-Baquerizo, M., Eldridge, D.J. Cross-Biome drivers of soil bacterial alpha diversity on a worldwide scale. *Ecosys.* 22: 1220–1231. 2019.
- De Schryver P, Vadstein O. Ecological theory as a foundation to control pathogenic invasion in aquaculture. *ISME J.* 2014;8:2360–8. 2014.
- Di Cesare A., E.M. Eckert, G. Corno. Co-selection of antibiotic and heavy metal resistance in freshwater bacteria. *J. Limnol.* 75: 59-66. DOI: 10.4081/jlimnol.2016.1198. 2016.
- Gonzalez Ronquillo, M., Angeles Hernandez, J.C., Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: review of impact and analytical methods. *Food Control.* 72, 255–267. 2017.
- Hachgenei, N., Spadini, L., Nord, G., Duwig, C., Legout, C., Martins, J., Morel, M.C. (2019), A multidisciplinary, multiscale approach to understand the sources and fate of veterinary pharmaceutical products in a mesoscale Mediterranean watershed, EGU General Assembly, Geophysical research abstracts, Vienne, Vol. 21, EGU2019-9330. Kelsic, E.D., Zhao, J., Vetsigian, K., Kishony, R., Counteraction of antibiotic production and degradation stabilizes microbial communities. *Nature* 521 (7553), 208–516. 2015.
- Kinnunen, M., Dechesne, A., Albrechtsen, HJ. *et al.* Stochastic processes govern invasion success in microbial communities when the invader is phylogenetically close to resident bacteria. *ISME J* 12, 2748–2756. 2018.
- Mallon CA, Elsas JD van, Salles JF. Microbial invasions: process, patterns, and mechanisms. *Trends Microb.* 23:719–29. 2015.
- Mertens et al. Bacteria, not archaea, restore nitrification in a zinc-contaminated soil. *The ISME Journal* (2009) 3, 916–923.
- Monaghan R., R.J. Wilcock, L. Smith, B. Tikki Setty, B. Thorrold, D. Costall. Linkages between land management activities & water quality in an intensively farmed catchment in southern New Zealand, *Agric Ecosys. & Environ.* 118:211-222. 2007
- Morel M.C, L. Spadini, K. Brimo, JMF. Martins. Speciation study in the SMX-Cu-pH-soil system by combining IR spectrometric and titrimetric approaches. Implications for retention prediction in soil. *Sci. Total Environ.* 481:266-273. 2014
- Nicoloff, H., Andersson, D.I., 2016. Indirect resistance to several classes of antibiotics in co-cultures with resistant bacteria expressing antibiotic-modifying or -degrading enzymes. *J Antimicrob Chemoth* 71 (1), 100–110.
- Nord Guillaume. (2016). *Auzon data paper* [Data set]. SEDOO OMP. <https://doi.org/10.6096/MISTRALS-HYMEX.1438>
- Ollivier et al., Effects of repeated application of sulfadiazine-contaminated pig manure on the abundance and diversity of ammonia and nitrite oxidizers in the root-rhizosphere complex of pasture plants under field conditions. *Frontiers in microbiology*, 2013 vol 4 article 22
- Stürmer, S.L., Bever, J. & Morton, J.B. Biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*): a phylogenetic perspective on species distribution patterns. *Mycorrhiza* **28**, 587-603 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0864-6>
- Sun et al., AOA and AOB communities respond differently to changes of soil pH under long-term fertilization. *Soil Ecol. Lett.* 2019, 1(3-4): 126–135, 2019).
- Taylor et al. Dynamics of ammonia-oxidizing archaea and bacteria populations and contributions to soil nitrification potentials. *The ISME Journal* (2012) 6, 2024–2032,

- Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N.S., et al. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346, 1256688. doi:10.1126/science.1256688. 2014.
- Thakur, M.P., van der Putten, W.H., Cobben, M.M.P., van Kleunen, M., Geisen, S., 2019. Microbial invasions in terrestrial ecosystems. *Nat Rev Microbiol* 17 (10), 621–631.
- van Elsas, J.D., Chiurazzi, M., Mallon, C.A., Elhottova, D., Kristufek, V., Salles, J.F., 2012. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109 (4), 1159–1164.
- Van Elsas, J.D., Hill, P., Chroňáková, A., Grekova, M., Topalova, Y., Elhottová, D., Křišťůfek, V. Survival of genetically marked *Escherichia coli* O157:H7 in soil as affected by soil microbial community shifts. *The ISME Journal* 1, 204-21. 2007.
- Wall, D., Nielsen, U. & Six, J. Soil biodiversity and human health. *Nature* **528**, 69–76. 2015.
- Wang H., A. M. Ibekwe, J. Ma, L. Wu, J. Lou, Z. Wu, R. Liu, J. Xu, S.R. Yates. A glimpse of *Escherichia coli* O157:H7 survival in soils from eastern China, *Sci. Total Environ.* 476–477: 49-56, 2014.
- Wang et al. Individual and combined effects of enrofloxacin and cadmium on soil microbial biomass and the ammonia-oxidizing functional gene. *Sci. Total Environ.* (2018) 624 : 900-907
- Wilcock R.J., R.M. Monaghan, J.M. Quinn, A.M. Campbell, B.S. Thorrold, M.J. Duncan, A.W. McGowan & K. Betteridge. Land-use impacts and water quality targets in the intensive dairying catchment of the Toenepi Stream, New Zealand, *New Zealand J. Marine and freshwater Research*, 40:1, 123-140, DOI:10.1080/00288330.2006.9517407. 2006
- Xia et al. Effects of antibiotic residuals in dewatered sludge on the behavior of ammonia oxidizers during vermicomposting maturation process. *Chemosphere* 218 (2019) 810-817).
- Xu H., Z. Chen, X. Wu et al. Antibiotic contamination amplifies the impact of foreign antibiotic-resistant bacteria on soil bacterial community. *Sci. Total Environ.* In Press. 2021
- Yelin, I., Kishony, R., 2018. Antibiotic Resistance. *Cell* 172 (5), 1136.
- Zhan et al., High Concentrations of the Antibiotic Spiramycin in Wastewater Lead to High Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea in Nitrifying Populations. *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49, 9124–9132.