

Résumé

La contamination généralisée des cours d'eau par les substances pharmaceutiques engendre un risque écotoxicologique pour les organismes aquatiques. Les biofilms microbiens, qui jouent des rôles écologiques importants dans ces écosystèmes (production primaire, recyclage de la matière organique, etc.), sont susceptibles d'être impactés par ces substances. Cependant, il est difficile d'établir des liens de causalité entre les concentrations mesurées dans les cours d'eau et les effets sur les communautés microbiennes exposées.

Dans ce contexte, ce travail de thèse repose sur deux objectifs principaux. Premièrement, il vise à évaluer les liens entre différents niveaux d'exposition à des substances pharmaceutiques et des impacts structurels et fonctionnels sur des biofilms microbiens périphytiques et sédimentaires. De plus, il vise à évaluer la pertinence d'étudier l'acquisition de tolérance microbienne à certaines substances pharmaceutiques modèles (approche PICT – *Pollution-Induced Community Tolerance*) pour diagnostiquer la pression chimique exercée par ces contaminants sur les biofilms de rivière. Pour répondre à ces objectifs, deux approches complémentaires ont été mises en œuvre.

Tout d'abord, une expérience de translocation a été réalisée *in situ*, dans un cours d'eau présentant un gradient de contamination par différentes substances pharmaceutiques. Après quatre semaines de croissance dans un site amont (station référence) et aval (station contaminée), des biofilms périphytiques ont été déplacés de l'un à l'autre afin de simuler une amélioration ou une dégradation de la qualité chimique. Des tests de toxicité aiguë sur la photosynthèse ont mis en évidence une acquisition de tolérance des communautés phototrophes à deux substances modèles (aténolol et diclofénac), associée à des modifications de structure et de diversité au sein des communautés de diatomées (approche de métabarcoding ciblant le gène *rbcL*). Pour ces deux substances, la translocation a permis d'observer progressivement une adaptation (tolérance accrue) ou au contraire une résilience (perte de tolérance) de ces communautés suite à leur déplacement vers l'aval et vers l'amont.

En complément, deux expériences en microcosmes ont permis de tester individuellement, et pour une gamme de cinq concentrations, les effets de trois substances modèles (diclofénac, ofloxacine et sulfaméthazine) sur des biofilms sédimentaires et périphytiques issus de ce même cours d'eau. Dans le sédiment, une adaptation à la biodégradation de la sulfaméthazine a été observée après une exposition de 47 jours aux plus fortes concentrations nominales de cet antibiotique (1 et 10 mg·kg⁻¹ poids sec). Cela était associé à une augmentation de l'abondance du gène fonctionnel *sadA* et de modifications de la structure et de la diversité des communautés bactériennes. L'ofloxacine a également affecté la structure et la diversité de ces communautés, ainsi que la plupart des activités microbiennes hétérotrophes mesurées, malgré des concentrations plus faibles dans le sédiment.

(maximum de 251 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ poids sec). Les communautés périphytiques ont également été impactées par certains niveaux d'exposition aux trois substances testées individuellement, avec par exemple un impact de l'ofloxacine sur la diversité et la structure des communautés bactériennes et de diatomées, et un impact du diclofénac sur la plupart des paramètres fonctionnels mesurés.

Toutefois, contrairement aux hypothèses du concept PICT, les valeurs de tolérance mesurées lors des deux expériences en microcosmes n'ont pas permis de distinguer les communautés chroniquement exposées à la substance utilisée pour ces mesures. Cette absence de tolérance acquise pourrait s'expliquer par l'origine des communautés, issues d'un site déjà contaminé par de nombreux produits pharmaceutiques, ayant possiblement sélectionné des espèces tolérantes lors de la phase initiale de croissance *in situ*.

Mots-clés : biofilm, substances pharmaceutiques, PICT (pollution-induced community tolerance), rivière.

Abstract

Widespread contamination of rivers by pharmaceutical substances poses an ecotoxicological risk to aquatic organisms. Microbial biofilms, which play important ecological roles in these ecosystems (such as primary production, recycling of organic matter, etc.), are likely to be impacted by these substances. However, it is difficult to establish causal links between the concentrations measured in rivers and the effects on exposed microbial communities.

In this context, this thesis has two main objectives. Firstly, it aims to evaluate the links between different levels of exposure to pharmaceuticals and structural and functional impacts on periphytic and sedimentary microbial biofilms. In addition, it aims to assess the relevance of studying the acquisition of microbial tolerance to certain model pharmaceuticals (PICT approach – *Pollution-Induced Community Tolerance*) to diagnose the chemical pressure exerted by these contaminants on river biofilms. To meet these objectives two complementary approaches were implemented.

First, a translocation experiment was conducted *in situ*, in a river with a gradient of contamination by various pharmaceutical substances. After four weeks of growth at an upstream (reference) site and a downstream (contaminated) site, periphytic biofilms were moved from one to the other to simulate an improvement or deterioration in chemical quality. Acute toxicity tests on photosynthesis revealed that phototrophic communities acquired tolerance to two model substances (atenolol and diclofenac), associated with changes in structure and diversity within diatom communities (metabarcoding approach targeting the *rbcl* gene). For these two substances, translocation made it possible to observe a gradual adaptation (increased tolerance) or, conversely,

resilience (loss of tolerance) of these communities following their translocation downstream and upstream.

In addition, two microcosm experiments were conducted to individually test the effects of three model substances (diclofenac, ofloxacin and sulfamethazine) on sedimentary and periphytic biofilms from the same river, across a range of five concentrations. In the sediment, adaptation to sulfamethazine biodegradation was observed after 47 days of exposure to the highest nominal concentrations of this antibiotic (1 and 10 mg·kg⁻¹ dry weight). This was associated with an increase in the abundance of the functional *sadA* gene and changes in the structure and diversity of bacterial communities. Ofloxacin also affected the structure and diversity of these communities, as well as most of the heterotrophic microbial activities measured, despite lower concentrations in the sediment (maximum of 251 µg·kg⁻¹ dry weight). Periphytic communities were also impacted by certain levels of exposure to the three substances tested individually, with for example, an impact of ofloxacin on the diversity and structure of bacterial and diatom communities, and an impact of diclofenac on most of the functional parameters measured.

However, contrary to the assumptions of the PICT concept, the tolerance values measured in the two microcosm experiments did not allow for the distinction of communities chronically exposed to the substance used for these measurements. This lack of acquired tolerance could be explained by the origin of the communities, which came from a site already contaminated by numerous pharmaceutical products, possibly selecting tolerant species during the initial phase of growth *in situ*.

Keywords: biofilm, pharmaceuticals, PICT (pollution-induced community tolerance), river.