



**Y A-T-IL DES RISQUES LIÉS
À LA CONSOMMATION DE
PRODUITS FRAIS CONTENANT
DES BACTÉRIES TRANSGÉNIQUES ?**

Les bactéries échangent naturellement du matériel génétique. Dans le tube digestif, ces échanges sont fréquents dans la flore implantée chez l'individu. En revanche, ils sont plus rares avec les bactéries ingérées. Dans tous les cas, les bactéries qui reçoivent un gène de résistance aux antibiotiques ne s'implantent qu'en présence d'une forte sélection, comme une antibiothérapie. Dans les conditions actuelles, la dissémination de gènes recombinés dans la flore digestive est un phénomène rare sinon inexistant mais on ne peut pas exclure la probabilité de voir surgir des conditions favorables.

Les bactéries, appelées aussi microbes ou micro-organismes, car visibles uniquement à l'aide d'un microscope, sont des organismes monocellulaires qui se multiplient par division de telle sorte que chaque cellule donne naissance à deux cellules identiques. Chaque bactérie contient du matériel génétique, l'ADN, qui est présent essentiellement sur un chromosome. Cependant le chromosome est rarement le seul support de l'information génétique chez les bactéries puisqu'elles contiennent d'autres molécules que nous définirons plus loin, tels que les plasmides, les transposons et les virus bactériens qu'on appelle bactériophages ou phages.

Le matériel génétique des bactéries est en perpétuel évolution. Cette évolution a lieu au sein d'une même bactérie où on constate des réarrangements du matériel génétique. Ces réarrangements se produisent lors de la division bactérienne. Leurs causes sont multiples : délétions (élimination de segments d'ADN) ; duplications (segments d'ADN copiés en plusieurs exemplaires) ; inversions (changement de sens). Cette évolution est aussi la conséquence d'échanges de matériel génétique entre bactéries différentes. Grâce à ces échanges du matériel génétique nouveau est introduit dans les bactéries hôtes qui acquièrent ainsi des propriétés nouvelles.

Par quelles voies se font ces échanges ?

Le monde bactérien empreinte des voies multiples et variées pour échanger du matériel génétique. Chacun de ces moyens est plus adapté à certaines catégories de bactéries ou à certains environnements dans lesquels les bactéries se nichent habituellement.

La transformation

C'est le procédé par lequel des segments d'ADN libres passent dans des cellules bactériennes dites compétentes. Cet ADN s'insère dans le chromosome de la cellule réceptrice pour être exprimé. Ce mode de transfert est rencontré plus fréquemment chez les bactéries du sol pour la simple raison que les molécules d'ADN libres sont peu dégradées et conservent plus longtemps leur pouvoir transformant dans cet environnement.

La conjugaison

Ce phénomène de transfert fait appel à un accouplement entre une bactérie donatrice dite mâle et une bactérie réceptrice dite femelle. Les bactéries mâles contiennent un facteur de fertilité qui est transféré à la bactérie réceptrice qui devient à son tour bactérie mâle, on dit qu'elle est masculinisée. Ce facteur de fertilité peut également mobiliser le chromosome de la bactérie donatrice vers la bactérie réceptrice.

Le transfert de plasmides

Les plasmides sont des mini chromosomes qui se multiplient de façon autonome dans la bactérie. Ils peuvent se transférer d'une bactérie donatrice à une réceptrice et sont alors définis comme plasmides conjugatifs. Ce moyen de transfert est aussi appelé conjugaison. On pense que les plasmides sont des chromosomes facultatifs, car la bactérie n'en a pas besoin pour assurer sa multiplication dans des conditions naturelles de croissance. Mais ils jouent

un rôle essentiel dans l'adaptation et la survie des bactéries hôtes dans des environnements hostiles. L'exemple le plus caractéristique est celui des plasmides de résistance aux antibiotiques. La présence de ces plasmides confèrent aux bactéries un avantage sélective et une aptitude à survivre aux traitements aux antibiotiques.

La transposition

Certains segments d'ADN qui font partie du matériel génétique de la bactérie ont la capacité de se déplacer le long du chromosome bactérien ou du plasmide. Ces éléments mobiles sont appelés transposons. Ils sont capables de se mouvoir du chromosome vers le plasmide et du plasmide vers le chromosome dans la même cellule. Ils peuvent se transformer en éléments conjugatifs qui se transfèrent d'une bactérie à une autre comme un plasmide. Les transposons jouent un rôle très important dans l'évolution génétique du monde bactérien. Ils sont responsables de multiples réarrangements du matériel génétique chez la bactérie qui les héberge et chez les bactéries qui les reçoivent lors de transpositions conjugatives. Comme les plasmides ils sont souvent porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques et contribuent à la dissémination de ces gènes dans l'environnement.

La conjugaison et la transposition sont les voies de transferts les plus répandues dans les environnements riches en microorganismes, car il nécessitent des contacts étroits entre les protagonistes pour se réaliser. On les observe tout particulièrement dans les boues activées des stations d'épuration, dans les sédiments et dans le tractus digestif comme nous le verrons plus loin.

La transduction

C'est le transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire de bactériophages. Les bactériophages sont constitués d'une molécule de matériel génétique protégée par une coque. Ils infectent des bactéries de façon très spécifique et peuvent dans certaines circonstances modifier le patrimoine héréditaire de la bactérie qu'ils infectent. Ils sont aussi le véhicule de matériel génétique qu'ils transportent d'une bactérie à une autre : ces phages injectent dans la bactérie infectée soit leur propre matériel soit du matériel génétique de la bactérie dans laquelle ils se sont multipliés. Ces molécules s'insèrent dans le chromosome bactérien et deviennent partie intégrante du patrimoine génétique de la bactérie infectée. Comme ces molécules véhiculées peuvent être de grandes tailles la transduction constitue un moyen de faire exprimer par les bactéries des gènes de fabrication de substances variées telles que des protéines, des hormones etc.

Transferts de matériel génétique

La question des transferts de matériel génétique au sein de la flore microbienne du tube digestif doit être abordée de deux façons :

- les échanges génétiques spontanés dans la flore d'un individu ;
- les transferts par les bactéries vivantes ingérées.

Le tube digestif de l'homme et de l'animal est colonisé en permanence par un grand nombre de microorganismes. Chez l'homme, cette population est d'environ cent mille milliards de bactéries. Les genres bactériens présents ne se retrouvent pas tous à la même densité, au même niveau de population. Ainsi, certaines bactéries s'établissent à des niveaux allant de 1 à 100 milliards par gramme de matières fécales. elles sont alors classées dans la flore dominante. D'autres sont 100 à 1000 fois moins nombreuses que les précédentes et sont classées dans la flore sous-dominante.

On sait que la plupart des bactéries qui colonisent le tube digestif sont porteuses de plasmides, de bactériophages et de transposons. On peut s'attendre à ce que des échanges spontanés entre ces bactéries soient fréquents. En effet le tube digestif semble être un des microcosmes le plus favorable pour le transfert de gènes par conjugaison et transposition grâce à son énorme densité bactérienne qui favorise les contacts intimes nécessaires à ces modes de transfert.

Y a-t-il des échanges génétiques spontanés au sein de la flore microbienne d'un individu ?

Pour répondre à cette question, un modèle expérimental de souris à flore humaine et maintenues dans des conditions de confinement absolu a été utilisé. Ces souris sont au départ indemnes de toute flore microbienne, sans germes, et maintenues en isolateurs. Elles sont ensuite inoculées par voie orale avec une flore complexe d'origine humaine. Ceci a permis de montrer que les bactéries anaérobies strictes de la flore dominante de cette flore portent des transposons conjugatifs. Les transferts spontanés de ces transposons à d'autres bactéries de la flore autochtone ont été suivis pendant plus de trois ans à l'Unité d'Ecologie et de Physiologie du Système Digestif (UEPSD). La flore est restée très stable puisqu'aucune bactérie ayant acquis la résistance aux antibiotiques portée par les transposons conjugatifs n'est apparue. Ceci peut s'expliquer par le fait que de tels transferts ne se réalisent pas dans le tube digestif. Une autre explication est possible : des transferts ont bien lieu mais à très basse fréquence. Les souches qui en résultent, les transconjugants, sont incapables de se multiplier et d'atteindre des niveaux de population perceptibles et capables de coloniser durablement l'intestin. Pour apporter une réponse définitive à ces

questions, il a fallu élaborer des modèles expérimentaux.

Pour savoir si le tube digestif était un milieu favorable aux transferts génétiques, plusieurs équipes de chercheurs dont l'UEPSD ont eu recours à l'utilisation d'animaux à flore très simplifiée. Des souris sans germes ont été associées avec une souche donatrice contenant un plasmide conjugatif et avec une souche réceptrice. Ceci afin de se mettre dans les conditions optimales de transfert, c'est-à-dire de favoriser l'implantation conjointe de la donatrice et de la réceptrice à des niveaux élevés. Dans ces conditions, on démontre que les transferts génétiques ont bien lieu dans le tube digestif et que les souches, qui résultent de ces transferts et qu'on appelle des transconjugants, sont capables de se multiplier et coloniser le tube digestif.

Une bactérie vivante ingérée est-elle capable de laisser un message génétique dans la flore autochtone ?

Comme nous l'avons expliqué précédemment les bactéries vivantes que nous ingérons fortuitement ou volontairement, dans les yaourts par exemple, n'ont aucune chance de s'implanter dans le tube digestif où elles ne font que transiter. Nous sommes en droit de nous demander si pendant son transit une bactérie est capable de transférer un plasmide conjugatif.

Un modèle de souris expérimentales à flore humaine a donc été créé. Ces souris sont obtenues à partir de souris sans germes maintenues en isolateur et inoculées avec les bactéries de la flore fécale humaine, afin de reproduire le microbisme de la flore digestive. Nous savons que la flore complexe a pour résultat d'exercer un effet de barrière à l'implantation de bactéries étrangères exogènes. Quand ces souris ingèrent une culture bactérienne composée de bactéries vivantes porteuses de plasmides conjugatifs, celles-ci sont rapidement éliminées, on dit qu'elles sont en transit dans le tube digestif. Néanmoins, nous avons montré que les plasmides contenus dans la souche en transit se sont transférés vers des souches réceptrices présentes dans la flore autochtone. Les transconjugants, qui sont isolés, sont à très faible niveau et sont incapables de s'implanter sauf quand la souris reçoit un antibiotique correspondant à la résistance conférée par le plasmide. Après antibiothérapie, les transconjugants deviennent un constituant permanent de la flore autochtone.

D'autres moyens permettent d'affirmer que des transferts ont lieu dans la flore digestive complexe et sont initiés par les plasmides et les transposons conjugatifs. Ces transferts sont très rares et peuvent avoir lieu entre bactéries appartenant à des espèces

ou à des familles très éloignées. La démonstration qu'on a de ces transferts est l'émergence de gènes de résistance aux antibiotiques suite à des prises de doses massives et répétées d'antibiotiques. Ces résistances apparaissent chez des bactéries où on ne les soupçonnait pas. Ceci signifie que les transferts ont lieu mais les transconjugants sont incapables de s'implanter en présence de la flore complexe qui a pour rôle principal d'exercer un effet de barrière à l'encontre de toute souche étrangère à l'écosystème. Les transconjugants qui se forment sont considérés comme des bactéries exogènes et sont rapidement éliminés par le transit intestinal. Leur émergence en flore dominante n'est rendue possible que sous la pression sélective des antibiotiques qui leur confèrent un avantage écologique. Ces transconjugants deviennent à leur tour des souches donatrices plus adaptées à l'écosystème digestif et sont responsables de la dissémination de gènes de résistance. C'est ce processus qui est à l'origine des réservoirs de souches dispensatrices de gènes de résistances multiples aux antibiotiques au sein des flores digestives de l'homme et de l'animal.

Quels sont les risques liés aux organismes génétiquement modifiés, les OGM ?

L'étude des transferts de gènes entre microorganismes dans le tube digestif revêt une importance toute particulière depuis le développement des techniques de génie génétique qui permettent la construction de microorganismes génétiquement modifiés par insertion de gènes étrangers (ADN recombiné). Dans un proche avenir, il est question de produire des microorganismes génétiquement modifiés destinés à la consommation par l'homme et l'animal. Avant leur mise en circulation, il est important de connaître leur capacité de survie, leur toxicité, ainsi que les risques de dissémination des gènes étrangers dans l'environnement du tube digestif.

Pour construire des OGM, les professionnels ont recours à des procédés de transferts de gènes par l'intermédiaire de plasmides ou de bactériophages. Afin de limiter toute dissémination de ces gènes dans l'environnement, on utilise des plasmides incapables de promouvoir leur transfert, des plasmides non autotransférables et non mobilisables et des bactériophages qui ont perdu tout pouvoir infectieux.

Or on a vu que les bactéries de la microflore digestive, que nous appelons les bactéries sauvages ont à leur disposition des moyens divers et nombreux pour échanger leur matériel génétique. On peut donc se demander si elles ne pourraient pas mettre en oeuvre toute cette extraordinaire «machinerie» pour promouvoir la mobilité de gènes recombinés portés sur des éléments non

autotransférables ou insérés sur le chromosome.

Nous avons recherché l'existence de ces éléments mobilisateurs au sein de microflores d'origine fécale humaine. Nous avons réussi à isoler des bactéries capables de promouvoir le transfert de plasmides, utilisés dans la construction des OGM, qui sont supposés être non transférables et non mobilisables. Cette mobilisation a été mise en évidence *in vitro*, en tubes à essais, mais jamais *in vivo* dans le tube digestif de souris à flore humaine. Les raisons sont de toute évidence celles que nous avons déjà évoquées, à savoir la très faible fréquence de ce type de transfert et l'inhibition d'implantation de souches étrangères dans le tube digestif.

Nos travaux permettent d'affirmer que la dissémination de gènes recombinés dans la flore digestive est un phénomène rare sinon inexistant. Le risque zéro est difficile à énoncer car on ne peut pas exclure la probabilité de voir surgir des conditions favorables à l'émergence de souches ayant acquis un gène recombiné.

Pour illustrer notre réserve, nous donnerons ici deux exemples qui ne sont pas pris dans les expériences avec les OGM, mais avec des plasmides et des transposons naturels, non génétiquement modifiés.

Le premier exemple concerne un plasmide isolé d'une souche de *Escherichia coli* d'origine humaine. Ce plasmide est conjugatif et les transconjugants obtenus *in vivo* avec de nombreuses souches réceptrices de *Escherichia coli* ne s'implantent pas et sont vite réprimés. Nous avons cependant isolé une

souche de *Escherichia coli*, elle aussi d'origine humaine dont les transconjugants ont un avantage écologique, c'est-à-dire qui s'implantent en flore dominante sans aucune pression sélective.

Le deuxième exemple concerne des transposons. Nous avons montré précédemment que les transposons contenus dans la fraction dominante d'une flore humaine étaient restés stables pendant plus de trois ans. Il n'en est pas de même quand cette flore est mise en contact avec une souche réceptrice de *Bacteroides uniformis* exogène. En effet cette souche, quand elle est inoculée aux souris, est capable de recevoir ces transposons et les transconjugants qui en résultent s'implantent durablement en flore dominante.

L'existence de ces deux phénomènes nous incite à la prudence et à recommander des contrôles très méthodiques à l'encontre de tout microorganisme qui serait destiné à la consommation par l'homme ou par l'animal.

Yvonne DUVAL-IFLAH

Unité d'Ecologie et de

Physiologie du Système Digestif

I.N.R.A. Centre de Recherche de Jouy-en-Josas
