

L'acquisition de gènes de résistance à des antibiotiques des PGM par des bactéries

Louis-Marie Houdebine*

L'usage excessif des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire ainsi que pour l'alimentation animale ont fait émerger des résistances à certains antibiotiques. Une question qui se pose est celle de savoir si l'utilisation de tels gènes pour la culture de PGM peut amplifier ce phénomène.

Les bactéries sécrètent des toxines, les antibiotiques, pour éliminer les autres bactéries avec lesquelles elles sont en compétition. Pour ne pas s'autodétruire, les bactéries possèdent des gènes de résistance à leurs propres antibiotiques. Ces gènes sont essentiellement portés par des mini-chromosomes circulaires que l'on appelle des plasmides. Les bactéries échangent couramment leurs plasmides et c'est pour cela qu'elles acquièrent aussi rapidement des résistances à des antibiotiques. Les antibiotiques qui tuent des bactéries, mais non les cellules animales et humaines, peuvent être utilisés comme médicaments anti-infectieux. Nous sommes donc naturellement résistants à ce type d'antibiotiques qui, sinon, seraient des poisons. Ceux qui tuent aussi les cellules animales et végétales sont très couramment utilisés pour sélectionner des cellules. Il suffit pour cela de transférer un gène de résistance dans les cellules et d'ajouter l'antibiotique correspondant dans le milieu de culture. Seules les cellules qui ont et expriment le gène de résistance survivent. En pratique, le gène de résistance est co-transféré avec le gène d'intérêt que l'on souhaite en fait introduire dans les cellules. Les deux gènes peuvent être transférés en même temps mais séparément ou ils peuvent être liés et portés par le même plasmide.

Cette technique est à la base du clonage de gènes. Pour séparer et amplifier individuellement des fragments d'ADN contenant des gènes à partir d'un mélange, on ouvre une multitude de copies du plasmide contenant un gène de résistance et on introduit dans la brèche un fragment quelconque d'ADN du mélange. Les plasmides sont transférés dans des bactéries à raison d'un des plasmides par bactérie. L'addition de l'antibiotique élimine toute les bactéries qui n'ont pas capté de plasmide. Les bactéries résistantes sont amplifiées sous forme de colonies, ce qui permet de séparer et d'amplifier chaque fragment d'ADN. Cette technique permet d'associer des éléments de gènes d'origines diverses et ce sont ces constructions de gènes qui peuvent être utilisées pour obtenir des plantes ou des animaux transgéniques.

Pour donner naissance à des plantes ou à des animaux génétiquement modifiés, il est nécessaire, selon les cas, de transférer les gènes directement dans des embryons ou dans des cellules capables de participer au développement d'un embryon. Pour sélectionner les cellules qui ont capté le gène, il est possible d'utiliser un gène de résistance à un antibiotique.

Les gènes de résistance à un antibiotique sont donc placés sous la dépendance d'un régulateur bactérien, végétal ou animal, lorsqu'ils sont utilisés pour sélectionner respectivement des bactéries, des cellules de plantes ou des cellules d'animaux. Si l'on

ne prend pas soin d'éliminer les gènes de résistance à des antibiotiques, ils se retrouvent intégrés dans le génome des plantes ou des animaux, à côté des gènes d'intérêt.

La question qui s'est posée est celle de savoir si les gènes de résistance présents dans les plantes transgéniques peuvent se désolidariser du génome des plantes, pénétrer dans des

* Directeur de recherche honoraire de l'Inra. Membre Correspondant de l'Académie d'Agriculture de France

bactéries et les rendre résistantes aux antibiotiques en question. Une telle éventualité est théoriquement possible.

On sait que si l'on isole l'ADN total de plante portant un gène de résistance à un antibiotique et qu'on le met en présence de bactéries dans des conditions artificielles connues pour favoriser la pénétration d'ADN, il apparaîtra un petit nombre de colonies de bactéries résistantes à l'antibiotique et ayant effectivement capté le gène de résistance. Ce phénomène est infiniment moins probable entre des plantes cultivées et des bactéries sauvages et ce pour diverses raisons : 1) l'ADN se dégrade quand la plante meurt ; 2) l'ADN ne pénètre que très difficilement spontanément dans des bactéries ; 3) l'intégration de l'ADN dans le génome d'une bactérie est très peu fréquente ; 4) un gène de résistance ayant des éléments régulateurs de gènes végétaux ne serait pas actif dans des bactéries ; 5) le gène de résistance intégré et fonctionnel ne se disséminerait pas en l'absence de pression de sélection apportée par l'antibiotique qui n'est pas présent dans les champs, les gènes de résistance des plantes transgéniques n'ont pas été trouvés dans les bactéries de champs où de telles plantes ont été cultivées pendant plusieurs années ; 6) le transfert et le fonctionnement du gène de résistance ne peut avoir lieu que dans des bactéries compatibles avec celle d'où provient le gène ; 7) le gène de résistance ne poserait des problèmes sanitaires que si les bactéries receveuses sont pathogènes ; 8) l'acquisition d'un gène de résistance par des bactéries n'aurait qu'un impact négligeable sur la possibilité d'utiliser l'antibiotique en question à des fins cliniques ou vétérinaires. C'est la conclusion des experts de l'OMS (Organisation mondiale de la santé), de l'EMA (Agence européenne des médicaments) et de l'EFSA (Agence européenne de sécurité alimentaire) (1). Cette conclusion est valable même pour les antibiotiques considérés comme stratégiques pour l'Homme. Une des raisons est que de multiples gènes de résistance à des antibiotiques sont déjà présents dans les bactéries de notre environnement. Ces gènes sont portés par des plasmides et ils ont donc infiniment plus de chances de se transmettre à d'autres bactéries que ceux qui sont séquestrés dans l'ADN des PGM (2).

Le transfert à des bactéries de gènes de résistance à des antibiotiques des plantes transgéniques est une question légitime qui a déjà reçu les réponses qui conviennent il y a plus de 10 ans (3). Aucun fait nouveau ne justifie une réouverture de ce dossier. Seuls les tout premières PGM de moins en moins utilisées possèdent des gènes de résistance à des antibiotiques.

Les plantes génétiquement modifiées contiennent parfois des gènes de sélection non dépendant d'antibiotiques. D'autres techniques sont également utilisées, en particulier l'élimination spontanée du gène de sélection en le plaçant en dehors de la partie des vecteurs d'*Agrobacterium tumefaciens*, ou encore l'intégration dans deux chromosomes différents du gène d'intérêt et du gène de sélection suivie d'une élimination spontanée de ce gène lors de la reproduction sexuée.

(1) « Statement of EFSA on the consolidated presentation of opinions on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants » 2009. *The EFSA Journal* 1108: 1-8.

(2) Demaneche S., Sanguin H., Pote J., Navarro E., Bernillon D., Mavingui P., Wildi W., Vogel T. M., and Simonet P. 2008 Antibiotic-resistant soil bacteria in transgenic plant fields. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 3957-3962.

(3) *Gènes de résistance aux antibiotiques et plantes transgéniques* (2001). Édité par L. Clavilier, F. Hervieu et O. Letodé. Inra Editions, 206 pages.