

# **Problèmes éthiques posés par les microorganismes génétiquement modifiés**

*Gautier Michel, Laboratoire de microbiologie et hygiène alimentaire, UMR STLO 1253, Agrocampus, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 RENNES CEDEX*

( N.B : les mots suivis d'un astérisque sont définis dans un lexique joint au texte )

Contrairement aux expérimentations effectuées sur l'homme et l'animal, l'utilisation des microorganismes ainsi que leurs modifications génétiques n'entraînent pas chez ceux-ci de phénomènes de douleur et de souffrance tels qu'on les entend en général. Les problèmes éthiques posés par les microorganismes modifiés génétiquement (MGM) vont donc être essentiellement liés aux conséquences qu'implique cette utilisation sur la biosphère terrestre : les microorganismes étant présents partout y compris dans les niches écologiques les plus impropres à la vie, les répercussions peuvent être d'une ampleur considérable et irréversible

Afin de bien comprendre dans quelle mesure ces MGM peuvent être dangereux pour l'homme et son environnement il sera nécessaire, d'une part de définir ce que sont les MGM et dans quel contexte on les utilise ou on peut aussi potentiellement les utiliser (cela fera l'objet de la première partie) et d'autre part, de définir les risques posés par ces utilisations (cela fera l'objet de la seconde partie). Ensuite après avoir montré dans une troisième partie la relativité de ces risques, nous nous poserons dans la question de l'utilité réelle de ces MGM (leur utilisation est-elle indispensable ou non ?) car finalement, devant le manque de connaissances actuelles, le moyen le plus définitif de résoudre ce problème éthique est peut-être de réduire leur utilisation. Enfin nous concluons sur le rôle du chercheur dans l'émergence de ces nouveaux organismes qu'il ne peut pas encore totalement contrôler.

## **1. Qu'est-ce qu'un microorganisme génétiquement modifié ?**

### **1.1. Quels sont les microorganismes concernés ?**

Sur un arbre phylogénétique\* rassemblant tous les organismes vivants, la majeure partie de ceux-ci, en termes de diversité, sont des microorganismes : une branche de cet arbre comprend les bactéries vraies appelées aussi eubactéries tandis que les deux autres branches comprennent d'une part les archaebactéries et d'autre part les microorganismes eucaryotes\*

qui rassemblent entre autres les protozoaires, les algues unicellulaires ainsi que les levures et moisissures (Baptiste *et al.*, 2004).

Dans ces trois grandes catégories de microorganismes, ce sont les bactéries qui ont été les plus modifiées génétiquement. Cependant on trouve, mais plus rarement, parmi les eucaryotes, des moisissures et des levures qui ont aussi donné lieu à des manipulations génétiques.

Nous n'aborderons pas dans ce chapitre le problème des virus qui, n'étant pas autonomes puisqu'ils ont besoin d'un autre organisme pour se multiplier, posent un problème à part.

## **1.2. Qu'est-ce qu'un microorganisme modifié génétiquement ?**

Un microorganisme est considéré comme modifié génétiquement si :

- on y a transféré du matériel génétique par une méthode non naturelle, c'est à dire autre que la conjugaison, la transformation et la transduction naturelles.
- on y a transféré du matériel génétique manipulé *in vitro*. Dans ce cas, même si la méthode de transfert est naturelle, on considère que le microorganisme est tout de même génétiquement modifié.

Le gène que l'on a fait entrer dans la bactérie peut être homologue, c'est à dire qu'il provient de la même espèce, ou hétérologue, provenant alors d'une autre espèce ou d'un autre genre bactérien (c'est, par exemple, le cas du clonage dans *Pseudomonas* d'un gène de *Bacillus thuringiensis* codant un insecticide) (Wilson and Lindow, 1993). Un gène hétérologue peut aussi provenir d'une cellule animale ou d'une cellule végétale (c'est le cas, par exemple, du clonage du gène codant pour l'insuline humaine dans *Escherichia coli* ).

L'ADN que l'on a manipulé *in vitro* (ADN étranger) peut être :

- soit intégré dans un vecteur de clonage, c'est à dire un ensemble de gènes capable de permettre aux gènes que l'on a transférés dans la bactérie de se répliquer dans celle-ci ; dans ce cas l'ADN étranger est constitué du gène cloné ainsi que de gènes souvent hétérologues constituant le vecteur de clonage.
- soit intégré sur le chromosome ; dans ce cas l'ADN étranger est en général exclusivement constitué du gène cloné.

### **1.3. Dans quels cas utiliser les microorganismes et a fortiori les microorganismes modifiés génétiquement ? Sont-ils utiles ?**

On peut distinguer 5 catégories d'utilisation des microorganismes faisant ou pouvant faire appel aux OGM.

- a) pour la production de molécules ou de biomasse en fermenteur,
- b) pour la production d'aliments fermentés,
- c) pour des utilisations variées dans l'environnement (dans l'agriculture, la dépollution, etc.),
- d) pour la production de souches à intérêt thérapeutique (vaccins vivants, par exemple),
- e) pour l'acquisition de connaissances fondamentales.

Dans certaines technologies, les microorganismes peuvent être rejetés vivants dans l'environnement où ils peuvent éventuellement se multiplier. Pour parer à ce risque, de nombreux pays interdisent dans leur législation ces technologies utilisant les OGM.

#### ***1.3.1. L'utilisation des microorganismes en fermenteur***

Depuis le milieu du XX<sup>ème</sup> siècle, les microorganismes sont utilisés très couramment pour la production de nombreuses molécules nécessaires aux industries pharmaceutiques, agro-alimentaires et chimiques. Ils sont, de plus, produits en fermenteur pour la constitution de levains nécessaires aux industries des aliments fermentés.

En industrie pharmaceutique, de nombreuses molécules, telles que les antibiotiques ou la vitamine B12, par exemple, sont produites par des microorganismes qui les synthétisent naturellement. A celles-ci s'ajoutent, plus nombreuses, celles dont le gène a été cloné dans un microorganisme (par exemple l'insuline humaine, l'hormone de croissance, le vaccin contre l'hépatite B). Toutes ces molécules sont commercialisées depuis de nombreuses années et font partie de l'arsenal thérapeutique quotidien des pays développés (à ce titre, l'insuline recombinante est produite depuis 1983) (Swartz, 2001).

En agro-alimentaire ce sont des produits intermédiaires tels que les enzymes\* (par exemple les amylases, la chymosine), les acides aminés\*, les acides organiques, voire les acides nucléiques\* qui sont produits par les microorganismes. De la même manière que précédemment, ces molécules peuvent être naturellement synthétisées par les microorganismes ou issues d'un MGM.

Enfin, en industrie chimique on trouve de nombreuses molécules, telles que les enzymes, les acides organiques, les biocarburants produites par les microorganismes.

Le principe de la production de molécules en fermenteur consiste à cultiver dans une enceinte, en général close, contenant un milieu nutritif adéquat, le microorganisme responsable de la production de la molécule désirée. Cette opération se fait en général en atmosphère confinée, et, en théorie, ne conduit pas au rejet de microorganismes dans l'environnement. Elle doit répondre à des exigences communautaires (Directives européennes 90/219 et 98/81). En vue de maîtriser la technologie, de nombreuses autorisations de cultures de MGM ont été délivrées depuis quelques dizaines d'années (Directive européenne 2001/18/CE). Elles ne sont en principe accordées qu'après une procédure d'évaluation complète des risques pour la santé publique et pour l'environnement.

Les espèces microbiennes modifiées génétiquement pour la production de molécules intéressantes sont assez peu diversifiées puisque ce sont souvent des microorganismes modèles étudiés depuis longtemps et pour lesquels les technologies de l'ADN recombinant sont très élaborées et bien maîtrisées. Ce sont essentiellement des bactéries (par exemple *E. coli* (Baneyx, 1999), *Bacillus subtilis*) et des levures (notamment *Saccharomyces cerevisiae*) (Ostergaard *et al.*, 2000).

### ***1.3.2. La production des aliments fermentés***

Les microorganismes interviennent en tant qu'agent principal dans la production de très nombreux aliments fermentés. En Europe, de nombreuses souches de MGM servant à cette fabrication sont depuis longtemps disponibles dans les laboratoires de recherche mais ne sont pas encore pour des raisons législatives, utilisées contrairement aux U.S.A.

Le pain, le vin, les fromages, le beurre, la crème fraîche, les yaourts, le kéfir, les viandes fermentées (saucisson, salami), les légumes fermentés (choucroute, olives) sont produits grâce à l'activité d'une flore microbienne extrêmement variée. Certains aliments fermentés sont produits à partir d'une flore microbienne complexe et en partie mal connue (qu'on peut qualifier de flore sauvage) provenant de la matière première et de l'environnement (certains fromages fermiers, bières et pains au levain); d'autres sont fabriqués à partir de levains industriels de composition plus simple et de flore identifiée (nombreux fromages faits à partir de lait pasteurisé par exemple) et enfin d'autres aliments fermentés contiennent à la fois une

flore sauvage complexe et une flore industrielle rajoutée volontairement et maîtrisée (c'est le cas notamment des aliments fermentés dont la matière première ne peut être stérilisée comme les saucissons secs, etc.).

Quoi qu'il en soit, hormis la plupart des boissons fermentées et du pain, les aliments fermentés en fin de fermentation contiennent en général environ  $10^9$  microorganismes/gramme. Suivant le type d'aliment, cette flore est plus ou moins vivante, lorsque l'aliment est ingéré par le consommateur. La flore microbienne transite alors dans son tube digestif sans en général y demeurer définitivement et se retrouve par conséquent dans l'environnement via les fèces.

### *Pourquoi utiliser des OGM dans le cas des aliments fermentés ?*

Les aliments à flore complexe sont intéressants en raison de propriétés organoleptiques élaborées, mais ils peuvent être le siège du développement de microorganismes pathogènes. De plus leur production est difficile à maîtriser en raison d'une flore microbienne fluctuante selon les conditions environnementales. En revanche les aliments à flore maîtrisée sont moins intéressants d'un point de vue organoleptique mais plus sûrs quant à leurs propriétés hygiéniques.

Depuis plusieurs années, afin d'élaborer des produits fermentés à flore maîtrisée aussi intéressants d'un point de vue organoleptique\* que les aliments à flore sauvage, les industriels ajoutent à leurs levains de nouvelles espèces bactériennes isolées à partir des aliments à flore sauvage. Or jusqu'à un passé très récent les garanties de totale innocuité de ces nouvelles espèces n'ont pas été fournies par les industriels, rendant ainsi hypothétique la salubrité de ces aliments. L'utilisation de MGM pour la production des aliments fermentés résoudrait d'une part ce problème lié à l'utilisation de flore mal connue et permettrait d'autre part, grâce à la construction de souches améliorées, de surmonter différents problèmes technologiques.

L'utilisation des MGM pour la production des aliments fermentés est très règlementée tout au moins dans la communauté européenne. La présence de microorganismes vivants ingérés par l'homme dans ces aliments est une barrière à l'utilisation de MGM. Quoiqu'il en soit de nombreuses souches bactériennes et de levures améliorées quant à leurs propriétés industrielles sont disponibles dans les laboratoires de recherche de nombreuses équipes internationales.

### ***1.3.3. L'utilisation des microorganismes pour des utilisations variées dans l'environnement (dans l'agriculture, la dépollution, etc.)***

Les microorganismes interviennent dans de nombreux processus de dépollution, dont le plus répandu est l'épuration des eaux, processus faisant intervenir une flore sauvage très complexe. Des méthodes de dépollution de composés plus spécifiques (hydrocarbures, lisiers, pesticides divers...) ont aussi été développées et font intervenir une flore sélectionnée, moins complexe quant à sa diversité. Cependant ces flores sont loin d'avoir une action optimale et nécessitent donc des améliorations génétiques. De nombreux OGM microbiens possédant les propriétés en adéquation avec le procédé (résistantes au substrat à dégrader, bonne implantation dans le milieu, etc..) ont été développés en laboratoire mais, pour des raisons de législation, ne peuvent actuellement être utilisés : ils font courir le risque de dissémination non contrôlée dans l'environnement.

Enfin, en agriculture, des souches microbiennes sont utilisées pour favoriser la croissance des plantes et la protection des cultures. De la même manière que précédemment il a été nécessaire de construire des souches recombinées génétiquement afin d'optimiser les procédés. L'utilisation de ces souches dans l'environnement est actuellement interdite en Europe mais autorisée depuis quelques années aux Etats-Unis. C'est ainsi que des souches de *Sinorhizobium meliloti* améliorées génétiquement pour améliorer la fixation d'azote par la plante sont utilisées depuis 1997 pour ensemercer les cultures de légumineuses.

De même, des pesticides (Nogall et Mattch) employant d'autres espèces améliorées génétiquement (*Agrobacterium radiobacter*) sont utilisés dans les sols.

### ***1.3.4. La production de souches à intérêt thérapeutique***

Par leur faculté à se maintenir ou à transiter sur les muqueuses de l'homme et de l'animal, les microorganismes peuvent être utilisés pour soigner ou prévenir certaines pathologies. Par exemple une souche de *Lactobacillus jensenii* a été modifiée pour sécréter au niveau de la muqueuse vaginale la protéine CD4 utilisée par le virus HIV pour pénétrer dans les lymphocytes. Cette protéine sécrétée sert ainsi de leurre pour le virus (Chang *et al.*, 2003). Même si ces MGM permettent de résoudre de gros problèmes thérapeutiques, ils ne sont toujours pas utilisés en raison de leur éventuelle dissémination dans l'environnement.

### ***1.3.5. L'utilisation des microorganismes en laboratoire pour l'acquisition de connaissances fondamentales***

Une autre et non moindre utilisation de microorganismes modifiés génétiquement est leur emploi en laboratoires de recherches, car ils permettent de mieux comprendre le fonctionnement des microorganismes. De nombreux gènes appartenant à une grande variété d'espèces microbiennes ont été ainsi clonés et ont donné lieu à des milliers de souches MGM servant de matériel d'étude aux chercheurs.

En résumé, en Europe actuellement, les microorganismes génétiquement modifiés sont essentiellement utilisés pour la production de molécules en fermenteur. En effet, dans ce cas, les micro-organismes sont maintenus dans une atmosphère confinée qui théoriquement évite leur passage dans le milieu environnemental. Grâce à eux, on produit des molécules utilisées en industries pharmaceutiques, agroalimentaires et chimiques

Aux Etats-Unis, la situation est quelque peu différente car certaines souches de MGM sont utilisées pour la production d'aliments fermentés et, d'une manière plus générale, dans des processus environnementaux.

## **2. Quels sont les risques causés par les microorganismes modifiés génétiquement ?**

Grâce à leur caractère unicellulaire et leur relative simplicité, les microorganismes ont la faculté de se multiplier très rapidement ; c'est ainsi qu'*Escherichia coli* donne naissance à 2 nouvelles cellules en 20 minutes lorsqu'elle est cultivée dans un milieu de culture optimum. De même, *Lactococcus lactis* se divise en 30 minutes lorsqu'elle est cultivée dans du lait pour l'élaboration des fromages à pâte molle.

Cette faculté associée à une extrême petite taille qui favorise une dispersion très efficace par le vent et l'eau dans l'environnement, permet aux microorganismes d'atteindre une très grande variété de potentielles niches écologiques.

Leur extrême faculté à coloniser ces niches écologiques permet aux microorganismes de s'adapter à des environnements très variés et pouvant être extrêmement difficiles pour tout autre organisme vivant. En effet, les bactéries font preuve d'une souplesse génétique extrême qui est due, d'une part au fait qu'elle sont haploïdes (elles ne possèdent qu'un seul chromosome impliquant que toute mutation\* s'exprime) et, d'autre part, au fait qu'elles peuvent acquérir des gènes à partir d'autres microorganismes (transferts horizontaux).

Ces mutations et acquisitions de nouveaux gènes donnent lieu à l'apparition de très nombreux variants microbiens qui seront sélectionnés par la pression du milieu environnemental, si les facultés qu'ils ont acquises leur permettent de mieux s'adapter à cet environnement.

Le danger causé par les microorganismes génétiquement modifiés est donc d'une part lié à leur dispersion dans l'environnement et d'autre part à la possibilité qu'ils ont de s'adapter à un nouvel environnement. Ce faisant, par leur développement, ils pourront, en modifiant l'équilibre écologique microbien, animal et végétal, perturber plus ou moins profondément cet environnement. Si cependant ils ne peuvent pas se développer dans celui-ci, ils pourront éventuellement transférer leur matériel génétique modifié à d'autres microorganismes et ainsi conduire à l'apparition de nouveaux variants qui eux-mêmes auront peut-être la faculté de perturber profondément cet environnement.

## **2.1. Que peut-il se passer lorsqu'un microorganisme modifié génétiquement est libéré dans l'environnement ?**

### ***2.1.1. Possibilités de transferts de gènes à d'autres organismes***

Les microorganismes ont la capacité d'acquérir de nouveaux gènes provenant d'autres microorganismes vivants ou de cadavres microbiens présents dans le milieu environnemental. Dans ce dernier cas, l'ADN libre dans l'environnement est souvent dégradé, bien que certains milieux, comme les sédiments marins, limitent cette dégradation.

Il existe trois grands types de mécanismes de transferts génétiques entre les microorganismes : la conjugaison, la transformation et la transduction.

La conjugaison : certains gènes appelés « gènes de transfert » ont comme fonction de promouvoir le transfert de gènes entre deux cellules bactériennes ; ils provoquent un rapprochement entre les cellules et permettent par l'établissement d'un pont cytoplasmique\*, le passage d'ADN entre les deux bactéries (on aura alors une bactérie dite « donneuse » et une dite « receveuse »). En général les gènes de transfert sont portés par des plasmides (petites boucles d'ADN à répllication indépendante du chromosome) qui se répliquent à la fois dans la bactérie donneuse et dans la bactérie receveuse. Ces plasmides ne sont pas constitués que de gènes de transfert mais aussi d'autres gènes qui souvent permettent aux bactéries de s'adapter à une niche écologique (gènes codant de nombreux mécanismes de résistance ou permettant l'assimilation d'éléments nutritifs par exemple). Si bien qu'une bactérie ayant acquis un



plasmide par conjugaison pourra à son tour le transférer et aura acquis de nouvelles propriétés. Ces plasmides (dits conjugatifs) ne peuvent cependant pas être transférés à toutes les espèces bactériennes. En effet il existe une spécificité d'hôte qui fait que certains plasmides vont pouvoir se répliquer et s'exprimer dans des espèces très variées d'un point de vue phylogénétique tandis que d'autres auront un spectre d'hôte étroit ne leur permettant de se répliquer et de s'exprimer que dans peu d'espèces, voire au sein d'une seule espèce bactérienne. Ce spectre d'hôte contrôle et limite d'une certaine manière le transfert conjugatif dans le monde bactérien. Dans le cas des MGM, assez fréquemment certaines améliorations génétiques sont codées et portées par un plasmide (appelé alors vecteur de clonage). Pour limiter les transferts de gènes, ces vecteurs ne portent pas de gènes de transfert. Il est cependant possible qu'ils puissent être transférés à une autre bactérie s'ils sont en compagnie d'un plasmide conjugatif. En effet lors de la conjugaison, des plasmides ne possédant pas les gènes de transfert peuvent profiter de la machinerie enzymatique mise en place par le plasmide conjugatif pour passer en même temps que celui-ci dans la bactérie receveuse. Cependant les vecteurs ainsi transférés doivent ensuite être capables de se répliquer et de s'exprimer dans la bactérie receveuse.

La transformation est un mécanisme qui permet à certaines bactéries de recueillir l'ADN exogène (ADN libre dans le milieu environnemental et provenant de cellules mortes et lysées) et de l'intégrer dans son génome. Ce mécanisme qui a été très bien décrit chez quelques espèces bactériennes permet aux bactéries de réparer leur génome lorsque celui-ci est abîmé (en échangeant les gènes altérés avec d'autres provenant de bactéries mortes) mais aussi d'acquérir de nouveaux gènes provenant d'autres bactéries. De la même manière que précédemment, ce mécanisme ne permet pas aux bactéries d'acquérir n'importe quel gène. En effet l'ADN pénétrant dans la bactérie doit pouvoir s'intégrer dans le génome et doit donc posséder une certaine homologie de séquence pour permettre la recombinaison\* avec le chromosome. De plus, lorsque des espèces possèdent ce mécanisme, celui-ci peut-être plus ou moins efficace et il n'est pas encore établi que toutes les espèces le possèdent ou en possèdent un similaire.

La transduction est le passage d'un ADN bactérien dans une autre bactérie via un bactériophage, celui-ci étant un virus spécifique des bactéries. Lorsqu'une bactérie est infectée par un bactériophage, ce qui arrive extrêmement fréquemment dans la nature, il arrive que ce virus, lorsqu'il se multiplie dans la cellule bactérienne, emporte avec lui de l'ADN bactérien à la place d'ADN phagique. Lorsqu'il réinfecte une nouvelle bactérie, il y injecte

alors cet ADN bactérien. Si celui-ci est un plasmide, il pourra éventuellement se maintenir dans la bactérie. S'il s'agit d'ADN chromosomique, il pourra éventuellement s'intégrer au chromosome dans la mesure où il possède suffisamment d'homologie pour qu'une recombinaison puisse se produire. Dans le cas des OGM bactériens, le transfert de l'ADN modifié peut très bien se produire par transduction; la faculté qu'aura le vecteur de clonage à se répliquer dans la bactérie receveuse dépendra de son spectre d'hôte et s'il s'agit d'ADN chromosomique, la faculté de s'intégrer au chromosome dépendra du degré d'homologie avec l'ADN de la bactérie receveuse.

Ces mécanismes de transfert de gènes peuvent permettre à une flore diversifiée d'acquérir de nouvelles propriétés. Cela veut dire qu'un microorganisme modifié génétiquement pourra potentiellement transférer, mort ou vivant, les gènes que l'on aura modifiés au laboratoire.

L'acquisition non contrôlée de nouveaux gènes par des microorganismes peut conduire éventuellement à l'apparition de nouveaux germes pathogènes (par acquisition de gènes intervenant dans la colonisation d'un nouvel organisme par exemple ou intervenant dans la virulence). Ces transferts de gènes peuvent aussi conduire à des réactions biochimiques non désirées pouvant avoir un impact sur l'environnement (dégradation de composés végétaux importants par exemple) ou à la production de composés toxiques.

On peut aussi imaginer que ces transferts de gènes peuvent conduire à l'apparition de nouveaux variants microbiens qui pourront acquérir des propriétés leur permettant de coloniser une nouvelle niche écologique et de supplanter la population endogène et ainsi perturber l'équilibre microbien.

Si les transferts de gènes entre les microorganismes sont fréquents et si les mécanismes sont en partie identifiés, ils n'en restent pas moins préoccupants lorsqu'il s'agit de MGM ; par exemple des chercheurs ont montré que les transferts de gènes entre *Agrobacterium tumefaciens* (Demaneche *et al.*, 2001) qui est la bactérie utilisée pour modifier les gènes des végétaux et *Pseudomonas fluorescens*, se produisent certainement naturellement dans les sols. Les transferts génétiques entre les microorganismes et les organismes dits « supérieurs » par exemple sont encore moins connus, mais se produisent probablement. Par exemple, des chercheurs ont observé de tels transferts entre une bactérie (*Wolbachia sp*) et un insecte (*Callosobruchus chinensis*) (Kondo *et al.*, 2002).

### **2.1.2. Le développement de nouveaux microorganismes dans l'environnement**

Des microorganismes modifiés génétiquement sont souvent conçus pour une fonction déterminée. Il n'empêche que l'on ne connaît pas suffisamment les voies métaboliques microbiennes pour pouvoir complètement maîtriser l'apparition de nouvelles propriétés résultant de la modification des gènes en laboratoire. Si des modifications non prévues du métabolisme peuvent apparaître chez un microorganisme dont on a modifié le génome, il est aussi fort probable qu'elles puissent se produire chez d'autres espèces de l'environnement qui auront acquis par transfert horizontal ces gènes modifiés.

Il n'est pas inutile de rappeler ici que les microorganismes sont présents en nombre très important dans l'environnement (Par exemple au minimum  $10^9$  microorganismes par gramme dans un humus fertile,  $10^5$  par millilitre dans l'eau d'une rivière traversant une ville,  $10^9$  par millilitre en sortie de station d'épuration) et sont représentés par un nombre d'espèces diversifiées très important (plusieurs centaines dans le tube digestif des mammifères par exemple ou dans un réacteur anaérobie d'une station d'épuration). On peut ainsi comprendre que les possibilités de transferts génétiques entre ces microorganismes dans un écosystème donné sont fréquentes et peuvent conduire à l'apparition de variants plus adaptés.

Si ces nouvelles propriétés apportent un avantage sélectif à une espèce, il est possible que celle-ci étant mieux adaptée à un nouvel environnement, le colonise et perturbe ainsi profondément l'équilibre écologique qu'il soit microbien, végétal ou animal. Un tel problème est réellement envisageable. En effet, il n'a pas fallu attendre l'apparition des MGM pour y être confronté puisqu'on connaît quelques exemples où un microorganisme qui, par l'intervention humaine (en général accidentelle) s'est retrouvé dans une nouvelle niche écologique qu'il a ensuite colonisée, la perturbant ensuite très profondément. C'est le cas très connu de l'algue unicellulaire toxigène\* *Chrysochromulina polylepis* (Belsher *et al.*, 2003) qui, à cause des activités humaines (rejet de substances azotées dans la mer) a envahi une partie de la mer du nord et de la Manche entraînant des problèmes sanitaires importants car elle est responsable de la production de toxines pathogènes pour l'homme. Même si ce n'est pas un microorganisme, c'est aussi le cas de l'algue *Caulerpa taxifolia* (Belsher *et al.*, 2003) qui probablement à partir d'une vidange accidentelle des aquariums du musée océanographique de Monaco colonise actuellement les fonds marins de la Méditerranée, provoquant, elle aussi, la mort de la faune endogène.

### ***2.1.3. Multiplication de microorganismes pathogènes***

La recherche sur les microorganismes pathogènes nécessite entre autres le clonage de gènes codant les facteurs de pathogénicité dans d'autres espèces microbiennes créant ainsi des événements génétiques qui n'auraient probablement pas eu lieu naturellement et donc

l'apparition de souches présentant un pouvoir pathogène nouveau. Bien que ces expérimentations de laboratoire qui concernent aussi bien les secteurs végétaux, animaux et humains ne visent pas directement à la création de souches plus pathogènes mais à la compréhension des mécanismes de pathogénicité, nos connaissances actuelles ne peuvent assurer l'innocuité totale de ces microorganismes transgéniques. C'est ainsi que des chercheurs américains, en inhibant l'activité d'un gène de virulence chez *Mycobacterium tuberculosis*, ont créé un variant beaucoup plus virulent encore que la souche native (Shimono, 2003). Le problème est encore plus crucial lors du développement des armes biologiques : dans ce cas, le premier objectif est d'élaborer de nouveaux pathogènes contre lesquels une armée ou un pays ennemi ne pourra pas se défendre. C'est ainsi qu'une équipe américaine a modifié récemment le virus de la variole afin qu'il contourne les défenses immunitaires de l'homme mises en place par la vaccination ou qu'il soit résistant aux médicaments disponibles. Un autre travail a consisté à modifier le virus de la variole des vaches afin qu'il passe les barrières d'espèces et infecte d'autres espèces dont l'homme. Un des virus construits a montré une pathogénicité renforcée (*New Scientist*, 2003). De tels OGM peuvent échapper au contrôle des scientifiques et avoir des conséquences imprévisibles sur les espèces animales et humaines.

### **3. Il faut relativiser**

#### **3.1. Les modifications génétiques des microorganismes se produisent aussi naturellement**

La nature n'a pas eu besoin de l'homme pour modifier le patrimoine génétique des microorganismes. En effet, en raison d'un temps de génération extrêmement court (comparé à celui des êtres supérieurs tels que les animaux), leur permettant d'atteindre des populations très élevées en peu de temps, les populations microbiennes génèrent en permanence de très nombreux mutants. On peut définir un mutant comme un individu qui a un patrimoine génétique différent de celui de ses parents sans qu'il ait pour autant acquis par transfert horizontal de nouveaux gènes. Une mutation peut être une variation ponctuelle d'une base nucléotidique sur le génome ou un remaniement génétique (inversion, perte ou duplication de gènes).

Les phénomènes conduisant aux mutations peuvent être naturels ou induits par des agents extérieurs du milieu environnemental. C'est ainsi que, naturellement, certaines bases

composant les gènes peuvent se modifier et se transformer en autres bases. Des composants du milieu extérieur, tels que des rayonnements (par exemple les rayons ultraviolets) ou des molécules chimiques résultant de l'activité de l'homme ou de l'activité d'autres organismes - dont des microorganismes - peuvent être responsables de ces mutations.

Ces mutations résultent en fait de lésions du matériel génétique qui, mal réparées, vont donner lieu à un changement de l'information génétique. L'environnement exercera ensuite une sélection permettant l'émergence des mutants les plus adaptés. C'est ainsi que lorsque l'on soigne un malade atteint d'une infection bactérienne avec un antibiotique, on peut malencontreusement sélectionner par l'utilisation de l'antibiotique des mutants résistants à celui-ci. Ces quelques mutants résistants aux antibiotiques et très peu nombreux parmi la population bactérienne infectante, demeureront vivants et remplaceront ainsi toute la population originelle.

Cette apparition de mutants ayant acquis de nouvelles propriétés est en fait un phénomène très connu depuis très longtemps. C'est ainsi que l'on utilise depuis plusieurs dizaines d'années des levures mutantes spontanées adaptées à la technologie de la brasserie.

En raison de son caractère naturel et banal, la mutagenèse est couramment utilisée pour améliorer les propriétés des microorganismes dans tous les secteurs qui les utilisent (pharmaceutique, agroalimentaire, agriculture, dépollution etc..). Les souches ainsi modifiées peuvent être utilisées puis rejetées (ou utilisées) dans l'environnement sans poser de problème, éthique ou autre.

L'extrême diversité des espèces microbiennes ainsi que le niveau important des populations font que les transferts génétiques entre individus sont probablement considérables dans la nature, contribuant ainsi grandement aux facultés exceptionnelles d'adaptation des microorganismes aux variations de l'environnement. Si l'homme est capable de modifier génétiquement les micro-organismes par l'apport de nouveaux gènes, il n'est donc pas inutile de rappeler que cet apport se fait de manière naturelle dans l'environnement.

### **3.2. Les microorganismes recombinants sont peu adaptés à l'environnement**

Les « bêtes » de laboratoire ont tendance à perdre, lors de leur passage *in vitro*, leur capacité à coloniser un milieu ou même à se maintenir dans le milieu environnemental. En effet de nombreuses expériences ont montré que les souches modèles utilisées en laboratoire (*Escherichia coli*, *Saccharomices cerivisae*, *Bacillus subtilis*, etc...) une fois sorties des tubes à essai ont très peu de chances de survivre dans le milieu environnemental. En effet, ces

souches modèles utilisées en laboratoire ont par leurs cultures successives sur des milieux riches ou sélectifs, ou par les modifications génétiques effectuées par le chercheur, perdu depuis longtemps certaines de leurs facultés nécessaires à l'adaptation dans un milieu complexe colonisé par une flore diversifiée. Cette observation ne concerne pas seulement les espèces modèles puisque, même lorsque l'on isole une souche provenant du milieu environnemental, donc adaptée à une flore complexe et qu'on la cultive simplement quelques temps en laboratoire, elle perd très rapidement ses facultés lui permettant de s'implanter de nouveau dans le milieu d'où elle provient. Il n'empêche que ces microorganismes, même s'ils ne survivent pas dans le milieu environnemental, peuvent lors de leur mort et de la lyse cellulaire qui en résulte, libérer de l'ADN pouvant être capté par d'autres microorganismes

### **3.3. Les transferts de gènes sont limités**

Les événements de transfert génétique entre les microorganismes décrits précédemment ne permettent pas des flux de gènes entre toutes les espèces ; certains se limitent à certaines souches à l'intérieur d'une espèce, d'autres entre espèces proches ou plus rarement entre espèces phylogénétiquement éloignées et quelques-uns entre genres bactériens différents. Si un brassage total des gènes semble impossible, c'est parce qu'il existe de nombreux mécanismes génétiques limitant les transferts de gènes. Dans le cas d'un rejet d'un MGM dans l'environnement, ces mécanismes restreindront donc la diffusion des gènes modifiés à la flore sauvage.

Par exemple, la transduction ne permet généralement pas des transferts d'ADN entre espèces très différentes. En effet les mécanismes d'infection des bactériophages sont très spécifiques aux souches. Cela veut dire que les bactériophages ne peuvent en général infecter que des souches d'une même espèce, même si certains bactériophages, assez rares, peuvent passer les barrières d'espèces. De la même manière, la transformation naturelle des bactéries (passage à travers la paroi d'ADN étranger provenant du milieu extérieur dans le cytoplasme bactérien) nécessite pour certaines espèces la présence de séquences spécifiques sur le génome exogène. Cela veut donc dire que certaines bactéries ne pourront acquérir que de l'ADN comprenant ces séquences spécifiques et bien souvent spécifiques d'espèces.

Enfin, il existe divers mécanismes bactériens capables de dégrader l'ADN étranger entrant dans la bactérie (les systèmes de restriction/modification et le système SMR) le rendant par la suite inapproprié pour la bactérie.

De même, certains gènes ne peuvent s'exprimer que dans un certain type de bactéries. Par exemple, s'il est connu que les gènes de bactéries Gram positives\* s'expriment assez facilement chez les bactéries Gram négatives\*, l'inverse n'est pas toujours observé ; notamment certains promoteurs géniques permettant la transcription ne sont pas reconnus par les bactéries ayant capté les fragments d'ADN les possédant.

## **4. Cependant...**

### **4.1. Les possibilités d'adaptation des « bêtes de laboratoire » sont mal connues**

Si, par observation, il semble que les souches modèles et les souches modifiées en laboratoire aient perdu leurs capacités d'adaptation et de colonisation, nous ne sommes pas à l'abri d'un variant dérogeant à cette règle. Par exemple des chercheurs ont récemment constaté la survie de souches de *Sinorhizobium meliloti* améliorées génétiquement dans les sols pendant 6 ans même en l'absence des légumineuses avec lesquels elles entretiennent une symbiose (Donegan *et al.*, 1999).

### **4.2. Les transferts de gènes dans la nature sont mal évalués**

En effet, en raison de la complexité des relations existant entre les populations microbiennes au sein d'un écosystème, on a de très grandes difficultés à évaluer l'importance des flux de gènes entre les microorganismes, ainsi que la nature et la diversité des gènes en cause. Des études approfondies sont nécessaires pour évaluer l'importance de ces transferts dans l'évolution des microorganismes ainsi que la possibilité qu'aurait un microorganisme recombinant de transférer son ADN à un microorganisme naturel de l'environnement. Des études récentes ont montré que les souches de *Sinorhizobium meliloti* (Donegan *et al.*, 1999) améliorées génétiquement ont transféré de l'ADN à la flore endogène du sol et que ces transferts pouvaient être facilités dans le tube digestif d'arthropodes présents dans le sol.

### **4.3. Le génie génétique produit des modifications non réalisables naturellement**

Si des mutations et donc des modifications de gènes arrivent spontanément dans la nature et confèrent aux microorganismes de nouvelles propriétés, certaines modifications apportées par l'homme ne sont absolument pas réalisables spontanément dans la nature. C'est le cas, par

exemple, de la production d'hormones humaines comme l'insuline par *Escherichia coli*, grâce au clonage du gène humain dans la bactérie. En effet, la probabilité pour que l'apparition par mutation ou transfert génétique puisse se réaliser spontanément dans la nature est quasiment nulle.

De même, en raison des mécanismes qui limitent les transferts de gènes de taille différente, de nombreux gènes ne peuvent être échangés entre différentes espèces. Or, les chercheurs ont la possibilité de lever les barrières d'espèces et de permettre le transfert de gènes qui n'aurait pu se produire naturellement. C'est ainsi que certains chercheurs estiment que la combinaison des récoltes transgéniques avec les biopesticides génétiquement modifiés (comme *Agrobacterium radiobacter* et *pseudomonas fluorescens*) peut créer des recombinaisons génétiques susceptibles de dévaster la microflore et la microfaune des sols.

## **5. Peut-on éviter l'utilisation de microorganismes modifiés génétiquement ?**

### **5.1. Leur utilisation est-elle indispensable ?**

Les OGM microbiens peuvent potentiellement être utilisés pour la fabrication de molécules recombinantes\* (médicaments, produits intermédiaires de l'agroalimentaire), la production des aliments fermentés (boissons alcoolisées, produits laitiers...), la dépollution (eaux usées, hydrocarbures), l'amélioration de la production végétale en facilitant la symbiose entre les végétaux et les microorganismes (fixation d'azote), la substitution de diverses technologies (biolixiviation, etc.).

Les impératifs qui conduisent ou conduiront à leur utilisation peuvent être d'ordre économique et/ou relatifs à la santé humaine, animale ou végétale. A chaque fois qu'on utilise un MGM, il est primordial de comparer le risque lié à cette utilisation à celui qui existerait si le MGM n'était pas utilisé.

Dans le cas des molécules produites en fermenteur, le MGM n'est théoriquement pas rejeté dans le milieu environnemental. Pour qu'il n'y ait aucune fuite, les installations doivent être sécurisées ajoutant ainsi un surcoût au procédé. Quoiqu'il en soit, celui-ci peut-être maîtrisé, diminuant ainsi de façon considérable le risque lié à l'utilisation des MGM.

Certaines des molécules ainsi produites ont permis de soigner des pathologies pour lesquelles les alternatives pharmaceutiques étaient loin d'être équivalentes et présentaient même un



risque certain. Par exemple avant qu'elle ne soit produite à partir d'une souche de *E. coli* recombinée, l'hormone de croissance humaine était produite à partir d'hypophyses de cadavres humains. Or, certains lots provenant d'hypophyses contaminées par l'agent de la maladie de Creutzfeldt Jacob ont été responsables de cette maladie chez des enfants atteints de nanisme et soignés par cette hormone. Avant que l'insuline recombinante ne soit commercialisée, les diabétiques étaient soignés avec de l'insuline de porc modifiée contre laquelle, au bout d'un certain temps d'utilisation, l'organisme humain fabriquait des anticorps.

Outre ces avantages importants concernant la pureté et la qualité de la molécule, de tels clonages dans des microorganismes présentent, grâce aux facilités de production, les intérêts d'une part, de diminuer considérablement le coût de production et ainsi de soigner un plus grand nombre de malades et, d'autre part, d'effectuer des recherches permettant de trouver de nouvelles utilisations. Par exemple, l'hormone de croissance a maintenant d'autres applications (bien connues dans le milieu de la compétition sportive) que le rétablissement de la croissance des enfants atteints de nanisme.

Pour la production de médicaments, il semble indéniable que l'utilisation des MGM, dans la mesure où ils ne sont pas rejetés dans la nature, est un progrès pour nos sociétés. En revanche, de nombreuses autres molécules sont produites essentiellement à des fins économiques pour améliorer ou stabiliser un procédé technologique. C'est ainsi que de nombreuses enzymes sont utilisées dans la transformation des aliments : ce sont par exemple, les cas des amylases qui servent en brasserie, des protéases en industrie de la viande, de la chymosine lors de la fabrication fromagère. Il existe bien souvent d'autres alternatives à l'utilisation de ces molécules ; en effet elles peuvent être synthétisées naturellement par un microorganisme sans que celui-ci soit nécessairement un MGM (c'est le cas par exemple de *Bacillus subtilis* qui produit des protéases) ou être extraites d'un autre organisme (la chymosine est aussi extraite de la caillette de veau qui est utilisée traditionnellement depuis des siècles en technologie fromagère). Pour les détracteurs des OGM, la production de molécules à partir de ceux-ci peut être sujette à caution si elles peuvent être produites par un procédé alternatif. Il faut cependant se rappeler que le procédé mis en jeu (culture en fermenteur) ne rejette théoriquement pas de microorganismes modifiés dans l'environnement. De plus la réduction des coûts d'un procédé par l'utilisation de molécules issues de MGM peut permettre à une plus grande population la consommation des produits alimentaires dont ils sont issus.

Si les risques liés à l'utilisation d'un fermenteur semblent être maîtrisés, il en est probablement de même pour la plupart des molécules issues des OGM microbiens : en effet lorsqu'elles sont identiques aux molécules naturelles, le risque lié à leur ingestion semble être

faible. C'est ainsi que l'on consomme couramment des fromages fabriqués avec de la chymosine recombinante (qui a d'ailleurs été très utile lors de la crise ESB pour remplacer la caillette de veau qui était susceptible d'être contaminée par l'agent de l'ESB).

En ce qui concerne les MGM rejetés ou utilisés dans l'environnement, le risque lié à leur utilisation est plus important que précédemment car il est envisageable qu'ils perturbent les écosystèmes soit parce qu'ils auront transféré leurs gènes modifiés à un autre microorganisme, conférant à celui-ci des propriétés « colonisatrices » soit parce qu'ils se seront développés au détriment des espèces endogènes. C'est pourquoi actuellement en Europe, suivant un principe de précaution, l'utilisation de souches modifiées pour fabriquer des aliments fermentés destinés à la commercialisation est interdite. Il en est de même pour l'utilisation de souches destinées à la dépollution ou à améliorer la croissance ou la résistance des végétaux. Grâce à l'amélioration des technologies de clonage (insertion de gènes sur le chromosome par exemple), il se peut que la législation s'assouplisse comme cela s'est produit dans d'autres pays (les Etats Unis viennent d'autoriser l'utilisation d'une souche de *Rhizobium meliloti* modifiée dans l'environnement) et qu'on autorise l'usage de souches modifiées génétiquement dans les aliments et l'environnement.

En ce qui concerne les MGM disponibles pour la fabrication des aliments fermentés, ils visent essentiellement à améliorer les procédés de fabrication (la construction de souches de *L. lactis* résistantes aux bactériophages lors de la fabrication des fromages en est un bon exemple) ou améliorer les qualités organoleptiques, nutritionnelles et hygiéniques des aliments. Ces améliorations peuvent cependant être apportées par d'autres voies comme la sélection de souches non modifiées appropriées, des règles d'hygiène bien respectées, etc...

En ce qui concerne les MGM utilisés en dépollution, le problème est plus complexe car il est nécessaire de comparer les risques liés à leur dissémination dans l'environnement (ce qui est aussi une forme de pollution) avec ceux liés à la pollution sur l'environnement. Quoi qu'il en soit, il semble que si les MGM peuvent répondre ponctuellement à de tels problèmes, l'avenir est véritablement à la prévention de ces pollutions et au développement durable.

Le problème posé par les MGM utilisés en association ou en symbiose avec les végétaux est plus délicat. En effet, leur utilisation dans ce contexte vise à améliorer la productivité végétale ou à la résistance des cultures aux insectes nuisibles ou aux pesticides. Il est difficile de rejeter d'emblée une solution qui permette soit de diminuer les coûts de production soit d'augmenter la productivité surtout dans des zones où la culture végétale est difficile. Si des méthodes de cultures alternatives (culture sans engrais polluants, sans pesticides, etc...) ou de

développement durable apparaissent moins efficaces que la mise au point de techniques utilisant les MGM, il sera difficile de rejeter l'utilisation de ces derniers.

Cependant, comme dans le cas précédent, il est indispensable de mesurer le risque posé par la dissémination de ces MGM dans l'environnement. Tant que ce risque n'est pas défini il semble que le principe de précaution qui vise à ne pas les utiliser reste valable.

Le problème le plus délicat concerne les MGM utilisés vivants pour soigner certaines pathologies humaines et animales. C'est le cas par exemple d'espèces alimentaires telles que *Lactococcus lactis* qui ont été modifiées génétiquement de manière à sécréter au niveau des muqueuses (digestives par exemple) des molécules à effet thérapeutique (Chang *et al.*, 2003). Cette forme de thérapie semble très prometteuse et devrait dans certains cas, être plus efficace que l'allopathie classique. Ces souches ingérées par l'homme transitent dans le tube digestif et par conséquent sont rejetées vivantes dans l'environnement. C'est pourquoi une des voies de recherche actuelles est de construire des souches qui seront incapables de survivre hors du tube digestif. En attendant, si l'on compare les bénéfices qu'ils apportent avec les risques qu'ils posent potentiellement pour l'environnement, il paraît actuellement difficile de se positionner sur l'absolue nécessité de ces MGM.

La dernière catégorie, qui concerne les MGM produits au laboratoire, est de loin la plus fournie quant à la diversité des manipulations et des souches obtenues. Le clonage des gènes microbiens dans des microorganismes modèles tels que *E. coli*, *B. subtilis* ou *L. lactis*, qui est très souvent nécessaire pour acquérir des données sur leurs régulation et expression, est une opération souvent très difficile à contourner. C'est ainsi que les congélateurs des laboratoires de biologie moléculaire regorgent de souches modifiées génétiquement. La compréhension du génome procaryote a souvent été un préalable à la compréhension des génomes plus complexes tel que le génome humain, c'est pourquoi il semble impossible d'envisager d'abandonner les recherches utilisant des MGM, dans la mesure où, bien sûr, les dispositions évitant leur dissémination dans l'environnement sont rigoureusement suivies.

## **5.2. Le chercheur peut-il juger du bien-fondé de ses travaux ?**

Comme nous l'avons vu précédemment, puisque les études fondamentales sur les génomes et le fonctionnement des organismes nécessitent des manipulations génétiques, la construction d'OGM en laboratoire ne répond pas toujours directement à des impératifs économiques pouvant être discutables. L'expérience nous a montré cependant que ces avancées scientifiques servent aussi des intérêts qui vont à l'encontre du bienfait de l'homme et de son

environnement. Il semble cependant impossible de déterminer *a priori* les retombées qui, liées à l'acquisition de nouvelles connaissances scientifiques, seront nuisibles à l'homme.

Il est indéniable que l'acquisition de ces connaissances fondamentales est indispensable puisqu'elles conduisent par la suite à des recherches appliquées qui visent notamment à améliorer les conditions de vie de l'homme et à la préservation de son environnement.

Pourtant, le chercheur est en droit de remettre en cause certaines voies de recherche qui pourraient augmenter le risque vis-à-vis de la santé humaine, animale ou végétale ou vis-à-vis de l'équilibre écologique de la planète ; la construction de souches microbiennes améliorées quant à leur pouvoir pathogène pour parfaire l'arsenal des armes biologique en est une bonne illustration. Bien que cela soit difficile de prime abord, il appartient à chaque chercheur de s'inquiéter des éventuelles conséquences de ses travaux.

Cependant, la liberté du chercheur vis-à-vis de ses objectifs de recherche est de plus en plus entravée par des impératifs économiques ; pour travailler, il a besoin de financements qui dépendent des orientations scientifiques dictées par l'Etat ou des besoins des entreprises. Si ces dernières répondent directement à des impératifs économiques et finalement assez peu à des considérations humanitaires il n'en est pas nécessairement de même pour l'Etat. On constate cependant depuis quelques années en France que celui-ci a tendance à se désengager de la recherche provoquant ainsi un renforcement des liens entre les entreprises et les chercheurs.

## **6. En conclusion**

Depuis Pasteur, pour des raisons pratiques, le fonctionnement des microorganismes a été étudié *in vitro* sur des souches pures dans des conditions et milieux de laboratoire, ne révélant ainsi qu'une parcelle de la complexité du monde microbien. Si depuis quelques années, la communauté scientifique s'est rendue compte de la nécessité d'étudier les microorganismes dans leur environnement, il n'en demeure pas moins que les connaissances nécessaires pour comprendre le fonctionnement des écosystèmes microbiens sont insuffisantes. Cela implique qu'il est actuellement très difficile de prédire l'influence que pourrait avoir la dissémination de microorganismes génétiquement modifiés dans notre environnement. De nombreuses études, notamment sur les transferts de gènes, seront nécessaires dans les années à venir pour évaluer correctement les risques et par conséquent développer des MGM ne présentant aucun risque pour l'homme et son environnement. Actuellement, de nombreuses souches de MGM sont utilisées dans des conditions qui limitent ce risque (production en fermenteur). Pour les

autres, le principe de précaution est en théorie appliqué, notamment en Europe puisqu'une telle utilisation doit être validée par les autorités compétentes. Cependant, devant les réelles difficultés techniques permettant de détecter ces microorganismes, on peut en craindre une utilisation frauduleuse, notamment par les industriels. Pour ce qui est des recherches fondamentales effectuées sur les microorganismes et donnant lieu soit à de nouvelles souches modifiées soit à de nouvelles technologies, la question de la nécessité des recherches se pose au même titre qu'elle pose pour n'importe quel travail de recherche, toutes disciplines confondues.

## **Glossaire**

**Acide nucléique :** ADN, ARN

**Acides aminés :** Molécules composant les protéines

**Enzyme :** Substance protéique qui catalyse les réactions biochimiques en agissant en quantité infime et sans être modifiée par la réaction

**Eucaryote :** Dont les chromosomes sont enclos dans le noyau

**Gram positif, Gram négatif :** Deux groupes bactériens importants qui peuvent être différenciés en fonction de la composition de leur paroi

**Molécules recombinantes :** Molécules dont le gène a été cloné dans un autre organisme (ici dans un MGM)

**Mutation :** Modification du génome

**Organoleptique :** Qui affecte les organes des sens

**Phylogénétique :** Branche de la génétique qui étudie les modifications génétiques des espèces au cours de l'évolution

**Pont cytoplasmique :** Liaison entre les deux contenus cellulaires bactériens

**Recombinaison :** Réarrangement des gènes

**Toxinogène :** Produit une ou plusieurs toxines

## Bibliographie

Baneyx F., 1999. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*. *Current Opinion in Biotechnol.*, 10(5): 411-21.

Bapteste E., Boucher Y., Leigh J. and Doolittle W.F., 2004. Phylogenetic reconstruction and lateral gene transfer, *Trends in Microbiology*, 12(9): 406-11.

Belsher T., Lunven M., Le Gall E., Caisey X., Dugornay O. et Mingant C., 2003. Acquisition de données sur l'expansion de *Caulerpa taxifolia* et *Caulerpa racemosa* en rade d'Hyères et en rade de Toulon (France), *Oceanologica Acta*, 26 (2) : 161-166.

Bermudez-Humaran L.H., Langella P., Cortez-Perez N., Gruss A., Tamez-Guerra R. S., Oliveira S.C., Saucedo-Cardenas O., Montes de Oca-Luna R. and Le Loir Y., 2003. Intranasal Administration of recombinant *Lactococcus lactis* secreting Murine Interleukine-12 Enhances Antigen-specific Th1 Cytokine Production. *Infection and Immunity*, 71(4): 1887-96.

Chang T.L., Chang C.H., Simpson D.A., Xu Q., Martin P.K., Lagenaur L.A., Schoolnik G.K., Ho D.D., Hillier S.L., Holodniy M. and Lewicki J., 2003. Inhibition of HIV infectivity by a natural human isolate of *Lactobacillus jensenii* engineered to express functional two-domain CD4. *Proceedings of the national academy of sciences U S A*. 30, 100(20):11672-7.

- Demaneche S., Kay E., Gourbiere F. and Simonet P., 2001. Natural transformation of *Pseudomonas fluorescens* and *Agrobacterium tumefaciens* in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6) : 2617-21.

Directive Européenne 2001/18/CE

Directive Européenne 90/219 modifiée par la directive 98/81

[http://europa.eu.int/comm/research/science-society/ethics/legislation\\_fr.html](http://europa.eu.int/comm/research/science-society/ethics/legislation_fr.html)

Donegan K.K., Seidler R.J., Doyle J.D., Porteous A., Digiovanni G., Widmer F. and Watrud L.S., 1996. A field study with genetically engineered alfalfa inoculated with recombinant *Sinorhizobium meliloti* : effects on the soil ecosystem. *Journal of Applied Ecology*, 36 (6), p. 920.

Kondo N., Nikoh, Ijichi N., Shimada M. and Fukatsu T., 2002. Genome fragment of *Wolbachia endosymbiont* transferred to X chromosome of host insect. *Proceedings of the national academy of sciences U S A*, 29; 99(22):14280-5. Epub 2002 Oct 17.4.

*New Scientist issue*, 1 November 2003.

[http://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2003-10/ns-udl102903.php](http://www.eurekalert.org/pub_releases/2003-10/ns-udl102903.php)

Ostergaard S., Olsson L. and Nielsen J., 2000. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(1): 34-50.

Ruitton S., Javel F., Culioli J.M., Meinesz A., Pergent G. and Verlaque M., 2005. First assessment of the *Caulerpa racemosa* (*Caulerpales*, *Chlorophyta*) invasion along the French Mediterranean coast. *Marine pollution bulletin*, 2005 May 10.

Shimono N., 2003. Hypervirulent mutant of *Mycobacterium tuberculosis* resulting from disruption of the *mce1* operon, *Proceedings of the national academy of sciences U S A*, 100(26) : 15918-23.

Swartz J.R., 2001. Advances in *Escherichia coli* production of therapeutic proteins. *Current Opinion in Biotechnology*, 12, (2, 1) : 195-201.

Wilson M. and Lindow S.E., 1993. Release of recombinant microorganisms, *Annual Review of Microbiology*, 47 : 913-44.