

EFFET D'UN CHAMP ELECTROMAGNETIQUE A 2.45 GHZ, CONTINU OU MODULE, SUR LE TAUX DE MUTATIONS DE *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

A. Perrin^{*1}, C. Bachelet¹, P. Levêque², R. Malabiau³, J.C. Debouzy¹

**¹Unité de Biophysique Cellulaire et Moléculaire/Département de Radiobiologie,
Centre de Recherches du Service de Santé des Armées (CRSSA),
BP 87, 38702 La Tronche cedex, France.**

**²Institut de Recherche en Communications Optiques et Micro-ondes (IRCOM),
UMR n°6615 CNRS- Université de Limoges UMR 6615, 87060 Limoges, France.**

³DGA/DCN/STSN/CTSN, BP28, 83800 TOULON - Naval, France.

Au Centre de Recherches du Service de Santé des Armées, ce travail se situe dans le cadre d'un plus vaste projet de recherches visant à étudier les effets non thermiques des rayonnements non ionisants. (*Recherches financées par la DGA (Direction Générale de l'Armement)*).

Objectif

Cette étude s'intéresse aux effets génotoxiques des radiofréquences. L'objectif est de déterminer l'effet d'une exposition aux micro-ondes combiné à celui de substances cancérigènes sur le taux de mutation des bactéries *Salmonella typhimurium*. Un champ électromagnétique de fréquence 2.45 GHz, continu (CW) ou modulé à 217 Hz (PW) a été appliqué avec une densité de puissance de 8 mW/cm².

Matériel et méthodes

Le test classique de génotoxicité Ames IITM a été utilisé, son principe est basé sur l'utilisation de souches bactériennes du genre *Salmonella* spécialement sélectionnées, contenant différents types de mutations dans l'opéron histidine. Ces bactéries sont alors incapables de synthétiser l'histidine qui doit leur être fournie dans le milieu de culture. Lorsqu'il y a mutation, elles retrouvent leur caractère sauvage et peuvent alors pousser en l'absence d'histidine. Le nombre de colonies revertantes est facilement compté après ensemencement des bactéries dans un milieu sélectif dépourvu d'histidine.

Le test se déroule en trois phases principales, en milieu approprié à 37°C :

- Phase de croissance, pendant 17 h dans un milieu non sélectif. Les bactéries sont cultivées dans une flasque (5 ml/25 cm²) sous agitation, jusqu'à obtention de la densité voulue (DO 600 nm)

- Phase d'exposition à l'agent mutagène, pendant 90 minutes, sous agitation. Les bactéries sont réparties en plaques de 24 puits après dilution ($\cong 10^7$ bactéries par puits). 22 puits reçoivent la même dose d'agent mutagène, un n'en contient pas, c'est le contrôle négatif, un autre reçoit une dose pour obtenir une réversion de la totalité des clones, c'est le contrôle positif.
- Phase de sélection, après une nouvelle dilution, les bactéries sont cultivées pendant 48 h en plaques de 396 puits (chaque puits de la plaque précédente est réparti dans 48 micropuits). Le milieu de culture sélectif contient un indicateur de pH coloré (bromocresol pourpre) qui permet de détecter facilement les souches révertantes dont le métabolisme est actif.

Nous avons utilisé la souche TA 98 avec le 4-nitroquinoline-N-oxide (4-NQO) et le 2-nitrofluorène (2-NF) (Sigma) comme mutagènes chimiques standards. La concentration nécessaire en mutagènes pour obtenir un taux de réversion moyen d'environ 50% a été déterminée au préalable.

Un système d'incubation des cellules, ne générant aucune interférence avec le champ électromagnétique, a été développé. Les cellules irradiées et contrôles sont placées dans deux incubateurs identiques en plexiglas. L'antenne est placée alternativement au-dessus de l'un et de l'autre afin d'éviter un effet cage. La différence de température entre les deux enceintes est inférieure à 0.1°C. L'agitation des échantillons irradiés et contrôle est réalisée à l'aide d'un même agitateur.

Les bactéries sont exposées au champ électromagnétique continu (CW) ou pulsé (PW, signal carré), avec une densité de puissance de 8 mW/cm², durant la phase de croissance (16h) et/ou la phase d'incubation avec le mélange de mutagènes (90min). 22 tests identiques sont réalisés au cours d'une expérience, chaque expérience est répétée 10 fois.

L'analyse statistique des résultats est réalisée sur les moyennes de chaque expérience avec le test *t* de Student ($n = 10$) et sur l'ensemble des points avec le test U non paramétrique de Mann-Withney ($n = 440$). Les résultats sont considérés comme statistiquement significatifs pour des valeurs de $p < 0.01$.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 1.

Une diminution du nombre de mutations est observée quand les bactéries sont exposées au champ électromagnétique modulé pendant les deux phases de culture. Aucune modification n'est observée ni lorsque les cellules sont exposées durant les deux phases de culture séparément, ni en onde continue.

Tableau 1 : Effet de l'exposition des bacteries *Salmonella typhimurium* à un champ électromagnétique de 2.45 GHz, PW ou CW, sur le taux de mutations induites par l'agent mutagène.

Mode d'exposition	Phase Exposée	Nombre de révertants		Valeur de p	
		Contrôle	Exposé	test t de Student's	Mann-Whitney
CW	16 h + 90 min.	29.74 ± 3.70	29.30 ± 3.51	0.322	0.227
PW	16 h + 90 min.	29.27* ± 4.23	27.53* ± 3.87	0.003	< 0.001
PW	90 min.	30.92 ± 3.68	31.41 ± 3.48	0.212	0.111
PW	16 h	32.23 ± 4.85	31.72 ± 4.58	0.159	0.267

Expériences complémentaires :

- Afin que les résultats ne soit pas biaisés par un effet des EMF sur la densité cellulaire, la croissance bactérienne a été suivie dans les différentes conditions expérimentales pendant et après la période d'irradiation.
- La dosimétrie a été réalisée par l'IRCOM pour les cultures cellulaires en flacon et en plaques 24 puits .

Conclusion

Dans nos conditions expérimentales, les résultats obtenus mettent en évidence une diminution faible mais très nettement significative du taux de mutations des bactéries exposées au champ électromagnétique pulsé tandis qu'il n'y a aucun effet d'une exposition aux ondes continues, pour une même densité de puissance moyenne. Il n'y a pas d'effet biologique lié à l'exposition au champ électromagnétique si celui-ci est appliqué pendant une seule phase de culture. La croissance des cellules n'est pas modifiée, que ce soit pendant ou après l'irradiation.

Des expériences sont maintenant en cours pour compléter cette étude et tenter de comprendre les mécanismes mis en jeu.