

MÉMOIRE

Présenté à l'Université des Sciences et Technologies de Lille

Pour obtenir

L'Habilitation à Diriger des Recherches

École doctorale : Science de la Matière du Rayonnement et de l'Environnement

De la microbiologie dans la compréhension des phénomènes de corrosion microbienne

Un exemple :

« *Étude de l'inter-influence entre la flore sulfurogène et la protection cathodique* »

Par **Isabelle DUPONT-MORRAL**

Soutenue le 8 décembre 2005

Jury

Rapporteurs

Catherine DAGBERT Maître de Conférences - École Centrale de Paris
Frédéric HILDEBRAND Directeur du laboratoire de biophysique - Université de Lille II
Marie-Françoise LIBERT Docteur d'État, expert senior microbiologiste - CEA

Examineurs

René DELOBEL Professeur - École Nationale Supérieure de Chimie de Lille
Marcel ROCHE Directeur du département corrosion - TOTAL SA
Michel TRAISNEL Professeur - Université de Lille / Directeur de l'HDR
Josette TRAVERT Professeur - Université de Caen/ Présidente du jury

Aux Josés, à Julie et mes parents

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés dans le Laboratoire de Biodétérioration des Matériaux du CRITT BNC.

Je tiens tout d'abord à remercier Jean-Marie MOUCHEL, Directeur du CRITT BNC qui durant les huit dernières années m'a confié la direction scientifique de ce laboratoire.

Monsieur Michel TRAISNEL de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Lille m'a fait l'honneur de bien vouloir encadrer la rédaction de ce mémoire qu'il soit assuré de ma gratitude.

Je tiens également à remercier Monsieur Frédéric HILDEBRAND, Responsable du laboratoire de Biophysique de l'Université de Lille ; Madame Catherine DAGBERT, Maître de Conférence de l'École Centrale de Paris ; et Madame Marie-Françoise LIBERT, Expert microbiologie du CEA Cadarache ; d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail.

Que Madame Josette TRAVERT, Professeur à l'Université de Caen, Messieurs Marcel ROCHE directeur du département corrosion de TOTAL SA, et René DELOBEL directeur du PERF et du CREPIM de Lille, soient remerciés pour avoir accepté de participer au Jury de cette HDR.

Certains scientifiques ont particulièrement été présents depuis ma soutenance de thèse, je pense à Catherine DAGBERT, Marie Françoise LIBERT, Monique JANVIER, Docteur en microbiologie de l'Institut Pasteur, Damien FÉRON, Ingénieur CEA, Yves LEFÈVRE, Ingénieur CEA ; Frédéric HILDEBRAND ; Marie-Noëlle BELLON-FONTAINE de l'INRA de Massy qu'ils soient remerciés pour leur gentillesse et leur soutien sans faille.

Enfin je tiens à remercier certains de mes collègues du CRITT BNC et plus particulièrement l'équipe « initiale » du laboratoire : Aline, Samuel, Maud, Gisèle, et leur témoigner ma plus vive reconnaissance pour la bonne ambiance qu'ils ont réussi à créer et qu'ils trouvent ici mention du plaisir que j'ai eu à travailler avec eux.

SOMMAIRE

Page

AVANT PROPOS.....	7
<u>Chapitre 1</u> : LA BIOCORROSION	9
<u>Chapitre 2</u> : BACTÉRIES SULFUROGÈNES IMPLIQUÉES DANS LES PHÉNOMÈNES DE CORROSION MICROBIENNE - MÉCANISMES DE LA CORROSION MICROBIENNE DES ACIERS AU CARBONE EN EAU DE MER.....	15
2-1 Bases microbiologiques indispensables à la compréhension de la biocorrosion... ..	16
2-1-1 Généralités	
2-1-2 Multiplication bactérienne	
2-1-3 Métabolisme d'assimilation ou nutritif	
2-1-4 Métabolisme de dissimilation ou énergétique	
2-1-5 Généralités sur les enzymes	
2-1-6 Généralités sur les biofilms	
2-2 Données sur les bactéries sulfurogènes	23
2-2-1 Généralités	
2-2-2 Les bactéries Sulfato-Réductrices	
2-2-3 Les bactéries Thiosulfato-Réductrices	
2-3 Mécanismes de biocorrosion des aciers au carbone en eau de mer	35
2-4 Synthèse.....	44
<u>Chapitre 3</u> : UN EXEMPLE DE COLLABORATION ENTRE MICROBIOLOGISTE ET CORROSIONNISTE : ÉTUDE DE L'INTER-INFLUENCE ENTRE LA FLORE SULFUROGÈNE ET LA PROTECTION CATHODIQUE EN EAU DE MER	45
3-1 Introduction	47
3-1-1 Données sur la protection cathodique en milieu marin	
3-1-2 Données sur l'eau de mer	
3-2 Matériel et méthode.....	51
3-3 Résultats	56
3-1-1 Résultats microbiologiques	
3-1-2 Résultats des analyses de surfaces	
3-4 Conclusion	67
3-5 Synthèse	68

<u>Chapitre 4</u> : PERSPECTIVES	69
<u>Chapitre 5</u> : RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	79
<u>Chapitre 6</u> : ASPECTS ÉCONOMIQUES	87
<u>Chapitre 7</u> : LISTES DES TRAVAUX ENCADRÉS	92
<u>Chapitre 8</u> : CURRICULUM VITAE.....	97

AVANT PROPOS

AVANT PROPOS

Au cours de la réalisation de ma thèse concernant «L'influence des bactéries et de leur activité sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle » (soutenue en 1996), j'ai eu l'occasion de découvrir l'importance des besoins industriels et l'enjeu économique (4% du PNB) que représentait la corrosion microbienne.

Après ma thèse, j'ai réorienté ma recherche en étudiant, principalement, la tenue de l'acier au carbone à la corrosion microbienne en eau de mer. En effet, l'utilisation de cet acier, économiquement moins onéreux, est largement répandue dans le monde industriel et notamment portuaire. Cette nouvelle orientation a, également, inclus les interactions entre les moyens de protection de l'acier en eau de mer et la flore sulfurogène, principalement incriminée dans les phénomènes de biocorrosion. Dans ce contexte, la protection cathodique a, particulièrement, été étudiée, puisqu'elle apparaît à ce jour comme l'un des moyens de protections les plus employés pour protéger les infrastructures métalliques en eau de mer.

La volonté de développer une activité sur cette thématique est née lors de mon stage post-doctoral sur la biocorrosion microbienne de l'acier au carbone en eau de mer naturelle, réalisé à l'arsenal de Cherbourg (DCN), au sein d'une équipe de spécialistes des matériaux.

En 1997, après avoir démarché auprès de nombre d'élus et officiels locaux, Jean-Marie MOUCHEL, Directeur du CRITT BNC, de par le caractère novateur et les potentialités de développement économique de ce domaine, se laisse convaincre pour tenter cette aventure à Cherbourg. La mise en place d'un laboratoire de biodétérioration des matériaux est alors envisageable. C'est en 1997 que le laboratoire du CRITT BNC voit le jour en partenariat avec les corrosionnistes de DCN Cherbourg.

En 1998, la première embauche d'une technicienne a lieu suite à l'obtention de plusieurs contrats industriels importants, que j'ai négociés, notamment avec Pont-à-Mousson et Alussuisse.

De 1998 à 2002, sous ma responsabilité, le laboratoire continue son essor tant en contrats industriels qu'en effectif ; fin 2002 le laboratoire compte 8 personnes. Au cours des années 2002-2003 mon investissement a été, en partie, consacré à participer à la création de CORRODYS, Centre de Corrosion Marine et Biologique qui est un partenariat entre l'Université de Caen, le CEA et le laboratoire du CRITT BNC.

Corrodys, dont je suis la directrice industrielle, représente un effectif de 23 personnes qui travaillent aussi bien pour la recherche fondamentale que pour la recherche technologique. C'est une unité multidisciplinaire qui regroupe des microbiologistes, des corrosionnistes, des physico-chimistes et des biologistes moléculaires.

Cette évolution a été rendue possible par le travail, la détermination, les compétences, l'ouverture scientifique pragmatique et l'écoute de l'équipe dont il a fallu faire preuve au quotidien.

Aujourd'hui, mon rôle, au sein de cette équipe, dont les détails seront présentés dans ce mémoire, est de plusieurs ordres :

- Animer, au travers du programme de CORRODYS, la recherche fondamentale dans la problématique de la biodétérioration des matériaux,
- encadrer des travaux de thèses et de stages post-doctoraux (pages 93 à 96),
- organiser des manifestations scientifiques,
- animer la recherche technologique, dans le domaine de la biocorrosion, en allant directement au contact des problèmes industriels. L'objectif est de répondre de façon pertinente et rapide aux problématiques posées. Ma fonction est de mettre en adéquation les compétences et savoir-faire de l'équipe avec les besoins. Cette synergie, qui doit être très réactive, implique une bonne connaissance du terrain et des techniques à utiliser.
- diriger le personnel rattaché au CRITT BNC, au sein de CORRODYS, ce qui représente un effectif de 12 personnes (sans compter les étudiants en thèse et stagiaires). C'est un nouveau métier qu'il m'a fallu apprendre : écouter, motiver, manager, former, composer la bonne équipe projet pour répondre au problème posé en déléguant aux personnes aptes, organiser la vie du laboratoire tant sur le plan financier que technique.

Être directrice industrielle de CORRODYS suppose, aussi, d'avoir un savoir-faire en recherche technologique mais aussi fondamentale afin de participer à l'évolution indispensable des compétences en corrosion microbienne, ce qui implique d'avoir des connaissances dans les deux domaines, et mettre l'adéquation entre le savoir et le besoin industriel.

Mon rôle est également d'atteindre des objectifs financiers définis par ma hiérarchie, c'est toute une démarche commerciale qu'il a été nécessaire d'appréhender. Mais aussi, de créer autour de cette activité un faisceau de compétences scientifiques au travers de collaborations (Institut Pasteur, Ecole Centrale Paris, CEA, Université de Compiègne, Ifremer, INRA, Université de Portsmouth, ...) et d'animer, par exemple, un réseau tel que le Réseau National Biofilm avec Romain BRIANDET, Dr en microbiologie de l'INRA de Massy.

Chapitre 1 : LA BIOCORROSION

LA BIOCORROSION

Tous les matériaux employés en construction, en particuliers les métalliques, sont utilisés dans des environnements plus ou moins agressifs ; il en résulte des altérations par corrosion qui nuisent à l'intégrité des structures et aussi à leur durabilité. Les micro-organismes présents, dans les différents milieux environnants jouent, souvent, un rôle décisif dans les phénomènes de détérioration.

Pour définir cette altération particulière Chantereau [1], historiquement le premier en France, a proposé : "la corrosion bactérienne rassemble tous les phénomènes de corrosion où les bactéries agissent directement, ou par l'intermédiaire de leur métabolisme, en créant les conditions favorables à son établissement".

De nombreux termes sont employés pour décrire cette corrosion : biodétérioration des matériaux métalliques, biocorrosion, corrosion microbienne, corrosion bactérienne, corrosion biochimique, corrosion influencée ou induite par les micro-organismes mais seules corrosion microbienne et corrosion bactérienne sont définies et retenues dans la norme internationale ISO 8044 (1999).

Il s'agit, en fait, d'interactions entre le monde du vivant et les matériaux ; tout matériau en contact avec un milieu biologiquement actif est susceptible d'être victime de la biocorrosion. En réalité, les micro-organismes ne "grignotent" pas les matériaux mais modifient, de façon drastique, de part leur métabolisme, la physico-chimie à l'interface matériau-environnement (pH, concentration en oxygène, concentration chimique, ...) créant les conditions à l'origine de la corrosion. Les micro-organismes peuvent être considérés comme de formidables catalyseurs d'un phénomène de nature électrochimique : la corrosion.

De nombreux secteurs sont concernés par ces phénomènes de dégradation induite par les micro-organismes ; citons, ainsi : l'industrie pétrolière affectée au niveau des puits d'extraction, des oléoducs, des plates-formes en mer [2, 3] ; les installations portuaires maritimes et fluviales : palplanches, portes d'écluses [4, 5] ; les centrales nucléaires (échangeurs, circuits de refroidissement, circuits incendies, ...) [6, 7, 8, 9] ; toutes les installations, en général, qui utilisent les eaux naturelles (systèmes de climatisation, ...), les ossatures métalliques des ouvrages d'art : ponts, pontons, passerelles, l'industrie navale, la pêche, mais aussi, la géothermie [10, 11] ; l'aérospatial (exemple de corrosion microbienne dans des réservoirs de kérosène) ; l'industrie nucléaire pour le stockage des déchets que ce soit en surface ou en site profond ; l'industrie agroalimentaire et le secteur médical [12].

La corrosion microbienne n'est donc pas une nouvelle forme de corrosion, mais résulte de la conjonction défavorable de trois facteurs comme le rappelle Féron [13] :

- un milieu aqueux dont les principales propriétés sont connues,
- un matériau choisi comme étant compatible avec les conditions d'exposition,
- des micro-organismes dont la présence est le plus souvent inattendue.

La corrosion microbienne se caractérise par une attaque localisée profonde et très rapide [14].

L'enjeu économique est considérable : le coût annuel des conséquences de cette forme de corrosion correspond à près de 20% de l'ensemble des dégâts causés par la corrosion ; ce coût global de la corrosion est estimé, d'après les études les plus récentes effectuées dans les pays industrialisés par les centres spécialisés (CEntre FRançais de l'AntiCORrosion (CEFRACOR), par exemple) à environ 4% du PNB soit 28 milliards d'Euros pour la France, soit pour la seule biocorrosion environ 5,6 milliards d'euros.

En pratique, de nombreux dommages de corrosion sont observés ayant pour conséquences des coûts importants de maintenance, des indisponibilités d'installations et des risques pour la sécurité des biens et des personnes. Aussi, la recherche de la maîtrise globale de la corrosion des installations reste un objectif prioritaire.

Au regard de ces données, il apparaît clairement que la corrosion microbienne est un domaine multidisciplinaire par excellence. Deux mondes scientifiques très différents : la science des matériaux et celle du vivant, doivent travailler de concert pour élucider des mécanismes complexes.

Il est essentiel pour chacun de simplifier le dialogue et les connaissances propres à son domaine pour les rendre compréhensibles par l'autre, afin de progresser pour répondre aux questions actuellement posées.

Quel est le rôle des microbiologistes dans la compréhension des phénomènes de corrosion microbienne ? Comment la microbiologie peut-elle contribuer à mieux appréhender les mécanismes de la corrosion dans lesquels le vivant joue un rôle déterminant ?

Le travail présenté dans ce mémoire a pour but d'essayer de répondre, le plus exhaustivement possible, à ces questions au travers d'un exemple qui illustre l'étroite collaboration indispensable entre microbiologie et corrosion : "Etude de l'inter-influence entre la flore sulfurogène et la protection cathodique en eau de mer".

L'originalité de la démarche est essentielle, peu de microbiologistes ont travaillé avec des corrosionnistes sur une thématique commune. A notre connaissance, rares sont les microbiologistes qui ont mené une réflexion sur l'optimisation de la mise en œuvre de la microbiologie dans le domaine de la corrosion microbienne.

Les études que j'ai totalement ou partiellement encadrées jusqu'à ce jour, ont principalement porté sur le développement des connaissances microbiologiques, avec en particulier, le souhait d'apporter aux corrosionnistes les éléments leur permettant de mieux appréhender l'impact des bactéries et de leurs métabolismes sur les mécanismes de corrosion.

Afin de renforcer ce travail de nombreuses collaborations ont été établies avec les spécialistes en matériaux et mon rôle a été, dans la plupart des cas, de servir d'intermédiaire entre biologistes et métallurgistes.

Cette possibilité d'adaptation résulte de la formation que j'ai reçue au cours de ma thèse sous la direction du Professeur Novel, microbiologiste de l'Université de Caen.

Ce type d'études et de travaux que j'aime diriger est mis en évidence par l'exemple développé ci-après, montrant que pour le bon déroulement de la recherche en biocorrosion, il est nécessaire d'avoir non seulement des connaissances en biologie (formation universitaire) mais aussi en corrosion (formation doctorale).

Pour diriger des recherches, des connaissances scientifiques sont indispensables mais non suffisantes, le besoin en matériels est aussi très important. Pour répondre à cette attente, il faut savoir trouver les moyens financiers. C'est pourquoi j'ai dû défendre des projets de l'équipe, que je dirige actuellement, pour obtenir des contrats qu'ils soient privés ou publics. En fin de ce rapport, les exemples présentés sont représentatifs de l'ensemble du travail réalisé, après l'obtention de mon doctorat, et illustre **la multidisciplinarité** acquise au cours de ces années professionnelles. Quelles que soient les études menées, la microbiologie mise en œuvre a, toujours, été appliquée en concertation étroite avec des spécialistes des matériaux et des industriels.

Comme précisé précédemment, pour qu'il y ait corrosion microbienne trois acteurs doivent être présents :

- un matériau,
- un milieu,
- des micro-organismes.

Dans l'exemple choisi, le matériau, qui comme dans tous les cas d'étude de corrosion, est au cœur du problème, est **l'acier au carbone protégé ou non cathodiquement**, le milieu est **l'eau de mer**, les micro-organismes sont principalement **des bactéries sulfato et thiosulfato-réductrices** largement incriminés dans ces phénomènes.

Pour optimiser l'efficacité de la protection cathodique, la norme NF 05-655 préconise des valeurs différentes selon l'environnement. Ainsi il est conseillé d'appliquer un potentiel d'environ $-800 \text{ mV/Ag/AgCl}_{\text{eau de mer}}$ (le potentiel de l'électrode $\text{Ag/AgCl}_{\text{eau de mer}}$ est de $+250 \text{ mV/ENH}$) en eau de mer aérée ou faiblement contaminée par les micro-organismes, abaissé à $-900 \text{ mV/Ag/AgCl}_{\text{eau de mer}}$ en eau de mer anaérobie ou riche en salissures. En zone portuaire des valeurs de $-1000 \text{ mV/Ag/AgCl}_{\text{eau de mer}}$ sont fréquemment appliquées.

Au début des années 1980, Ulanovskii et Ledenev [15] initient des travaux de recherche sur l'interaction entre la protection cathodique et la flore bactérienne. Par la suite, plusieurs auteurs se sont penchés sur cette problématique avec des approches différentes telles que la variation du potentiel, la vitesse de colonisation bactérienne ou encore l'influence des micro-organismes sur la formation et la composition du dépôt calcomagnésien [16, 17, 18, 19]. La complexité des paramètres influençant le développement et le métabolisme des nombreux genres bactériens en eau de mer n'a cependant pas permis de tirer de conclusions en terme de microbiologie fondamentale (métabolisme, relations interspécifiques, etc.).

Néanmoins des différences apparaissent selon le type respiratoire, avec un effet inhibiteur lors de la protection cathodique sur l'attachement des bactéries aérobies et un effet stimulant de la colonisation de la flore anaérobie [20, 21, 22, 23, 24].

Cet effet « stimulant » du développement des bactéries anaérobies conduit naturellement à des interrogations vis-à-vis de la flore sulfurogène et notamment des Bactéries Sulfato-Réductrices (BSR) et Thiosulfato-Réductrices (BTR), très impliquées dans les phénomènes de biodétérioration des matériaux métalliques. En effet, ces travaux mettent en évidence une augmentation, significative, de la vitesse de développement de la flore sulfurogène dans un environnement proche d'un matériau métallique protégé cathodiquement.

Cette augmentation de la concentration en flore sulfurogène à l'interface matériau-environnement est-elle de nature agressive pour le matériau protégé cathodiquement ?

Au regard de ces constatations et de sollicitations de la part d'établissements portuaires, il est apparu nécessaire d'étudier l'inter-influence entre la flore sulfurogène et la protection cathodique en se rapprochant, le plus fidèlement, possible des conditions rencontrées sur site.

L'objectif de cet exemple, illustrant mes responsabilités de microbiologiste, est de répondre à deux questions d'importance :

- **l'accélération de la cinétique de colonisation de la flore sulfurogène sur un matériau protégé cathodiquement est-elle confirmée dans nos conditions expérimentales : en eau de mer naturelle et en culture pure [16, 17, 18, 19] ?**
- **la présence d'une quantité importante de bactéries sulfurogènes à l'interface dépôt calco-magnésien-matériau protégé cathodiquement conduit-elle à rendre l'environnement plus agressif pour le matériau, qu'en absence de protection cathodique ?**

Le chapitre suivant présente un point sur les connaissances des bactéries sulfurogènes impliquées dans la biodétérioration et sur les mécanismes proposés. Il est toutefois important de préciser qu'une bibliographie complète est largement étayée dans les différents travaux encadrés (pages 93 à 96) et dans les publications (pages 101 à 103). A la suite de cette bibliographie est présenté, l'exemple d'une étude réalisée pour illustrer le rôle important du microbiologiste dans la compréhension des phénomènes de biodégradation des matériaux. Enfin, quelques exemples d'études industrielles sont rapportés afin d'imager l'aspect économique de ma recherche. L'ensemble des études industrielles réalisées, sous ma responsabilité, depuis 1999, au total 89, est présenté page 104.

Chapitre 2

- BACTÉRIES SULFUROGÈNES IMPLIQUÉES DANS LES PHÉNOMÈNES DE CORROSION MICROBIENNE

-MÉCANISMES DE LA CORROSION MICROBIENNE DES ACIERS AU CARBONE EN EAU DE MER

Des données générales sur les bactéries sulfurogènes et sur les mécanismes de la corrosion microbienne des aciers au carbone en eau de mer sont tout d'abord rappelées afin de faciliter la compréhension générale de chapitres, et plus particulièrement pour ce qui concerne les notions de métabolisme bactérien et de microbiologie.

2-1 Bases microbiologiques indispensables à la compréhension de la biocorrosion

Certaines notions microbiologiques, théoriques et pratiques, doivent être rappelées pour appréhender les mécanismes de biocorrosion. C'est pourquoi très synthétiquement, dans un langage simplifié, des données d'importance sont rappelées pour faciliter la compréhension générale concernant les données sur les bactéries sulfurogènes et les mécanismes de biocorrosion des aciers au carbone en eau de mer.

2-1-1 Généralités

Il existe deux grandes catégories morphologiques de bactéries : les bacilles, en forme de bâtonnets, et les coques (ou cocci) de forme approximativement sphérique. Les dimensions varient de 0,5 à 10 μm en moyenne mais, des chaînes ou des bactéries filamenteuses peuvent mesurer plusieurs dizaines de micromètres. Les observations au microscope doivent tenir compte de ce paramètre.

La structure bactérienne peut être schématiquement décrite par deux unités :

Le cytoplasme, milieu interne de la cellule, est le siège des fonctions vitales. Il contient le matériel génétique, et les enzymes nécessaires au déroulement des processus métaboliques et à la synthèse des constituants structuraux.

La paroi est l'enveloppe externe de la bactérie. Sa rigidité assure l'intégrité structurale de la cellule. La structure de la paroi détermine deux grands groupes de bactéries : les bactéries Gram-positives et les bactéries Gram-négatives, du nom d'une coloration spécifique. Les bactéries Gram positives ont une paroi épaisse (20 à 80 nm), les bactéries Gram négatives ont une paroi plus fine (10 à 15 nm).

2-1-2 Multiplication bactérienne

Le cycle de croissance d'une bactérie est simple. A son stade initial, elle a une taille et une masse minimale. Elle grossit et s'allonge ensuite jusqu'à une taille critique, puis se divise par scission binaire, laissant ainsi place à deux cellules filles strictement identiques à la cellule mère.

Chacune de ces cellules entame alors le même cycle. Le nombre de bactéries double ainsi à chaque génération. Le développement des bactéries dans un milieu de culture se déroule généralement en plusieurs phases : une phase de latence, une phase d'initiation de la croissance, une phase exponentielle, une phase de ralentissement, une phase stationnaire ces deux dernières intervenant lorsqu'au moins un des composants du milieu est épuisé, une phase de lyse plus ou moins prononcée correspondant à la mort des cellules.

La croissance des bactéries est exponentielle avec des temps de doublement de population qui peuvent varier de 20 minutes à plusieurs jours. Cette remarque est d'importance car elle introduit la notion de stérilité. En effet, éradiquer des bactéries dans un système signifie qu'il est nécessaire de les éliminer, **toutes**, au risque de constater, quelques temps après la désinfection, une nouvelle contamination indésirable.

La stérilité est une valeur fondamentale pour les microbiologistes que les corrosionnistes doivent apprendre à maîtriser. Le microbiologiste doit sensibiliser les corrosionnistes à travailler stérilement.

La principale finalité des bactéries est d'assurer la multiplication de leur espèce par reproduction cellulaire. Pour atteindre cet objectif deux métabolismes synergiques, indispensables à la vie microbienne, sont mis en place **un métabolisme d'assimilation ou nutritif** et **un métabolisme de dissimulation ou énergétique**.

2-1-3 Métabolisme d'assimilation ou nutritif

Les bactéries se multiplient à partir des nutriments composant les milieux de cultures ou qu'elles trouvent dans leur écosystème. Les bactéries ont toutes un certain nombre de besoins communs, certains éléments doivent impérativement être présents dans leur environnement de développement : eau, carbone (matière organique, CO₂), hydrogène, oxygène, azote (nitrates, nitrites, ammonium, matière organique), phosphore (phosphates, matière organique), soufre (sulfates, sulfites, soufre, sulfures, matière organique) et autres éléments minéraux. Dans ces conditions, beaucoup peuvent croître et se multiplier. D'autres en sont incapables si l'un des constituants essentiels leur fait défaut. Certaines molécules que la bactérie ne peut synthétiser peuvent être indispensables pour assurer sa croissance, ces dernières sont appelées **facteurs de croissance** (par exemple : biotine, vitamine B12, nicotinate, ...). C'est la concentration de ces éléments, leur disponibilité et les conditions physico-chimiques qui vont déterminer la vitesse des réactions métaboliques.

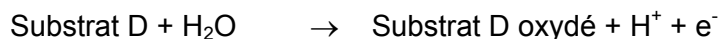
Les micro-organismes doivent pouvoir disposer simultanément des différents substrats nutritifs nécessaires à leur développement. Si l'un de ces substrats est manquant ou en quantité trop faible, c'est lui qui conditionnera l'intensité de l'activité microbienne, quelles que soient les disponibilités des autres substrats nutritifs. Les différents substrats nutritifs doivent être présents sous une forme **assimilable** par les micro-organismes (substrats solubilisés ou hydrolysables). L'assimilation des substrats nutritifs peut conduire à la production, dans le milieu, de diverses molécules issues des mécanismes de dégradation de ces substrats (acides organiques...) dont les propriétés chimiques peuvent être très différentes de celle de la molécule initiale.

Le carbone est l'élément constitutif principal des micro-organismes. Les bactéries utilisent différentes source de carbone pour pourvoir à leurs besoins en carbone cellulaire. Les bactéries **autotrophes** utilisent le CO₂ comme seule source de carbone. Beaucoup d'entre elles peuvent toutefois aussi utiliser une source de carbone organique présente dans leur milieu : elles sont autotrophes facultatives. Les bactéries ne pouvant utiliser que des sources de carbone organiques sont appelées **hétérotrophes**.

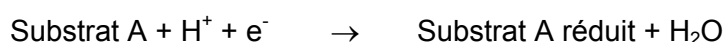
2-1-4 Métabolisme de dissimilation ou énergétique

Le métabolisme énergétique des bactéries se résume à des réactions d'oxydo-réduction en chaîne. Ces réactions correspondent à un transfert d'électrons entre un réducteur (donneur d'électrons, molécule de bas potentiel) et un oxydant (accepteur d'électrons, molécule de plus haut potentiel).

Première étape : oxydation d'un substrat de bas potentiel électrochimique, donneur d'électrons :



Deuxième étape : réduction d'un substrat de haut potentiel électrochimique, accepteur d'électrons :



Rappelons que pour que ces réactions aient lieu il est nécessaire qu'elles répondent au critère thermodynamique « $\Delta G < 0$ ». L'énergie libre ΔG doit être négative ; dans le cas contraire, la réaction s'effectue en sens inverse.

L'énergie de ces réactions d'oxydo-réduction successives est récupérée dans les systèmes microbiens pour aboutir à la formation d'une molécule biochimique, l'ATP (Adénosine TriPhosphate) ; cette molécule qui joue le rôle de carburant dans les cellules vivantes, stocke réversiblement l'énergie au niveau de sa liaison triphosphate :



ADP : (adénosine diphosphate)

Pi : (phosphate inorganique)

Les substrats énergétiques des micro-organismes sont :

*Donneurs d'électrons ou réducteurs : matière organique, hydrogène, fer, fer (II), Mn (II), ion ammonium, sulfures, soufre,

*Accepteurs d'électrons ou oxydants : oxygène, nitrates, nitrites, fer (II), fer (III), Mn (IV), carbonates, CO₂, matière organique.

L'accepteur terminal d'électrons est impérativement de l'oxygène moléculaire pour les bactéries aérobies strictes, et est une espèce ionique pour les bactéries anaérobies strictes, par exemple : SO₄²⁻ pour les Bactéries Sulfato-Réductrices, et S₂O₃²⁻ pour les Bactéries Thiosulfato Réductrices.

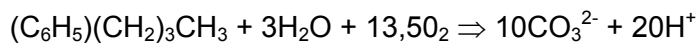
Il est important de souligner que l'accepteur terminal d'électrons a une telle importance pour le microbiologiste que cette donnée est retrouvée dans la qualification même des bactéries. Par exemple, les bactéries Ferro-Oxydantes ont comme accepteur terminal d'électrons les ions Fe²⁺, les bactéries Sulfo-Oxydantes ont comme accepteur terminal d'électrons les ions S²⁻. Le donneur d'électrons est, dans la majorité des cas, de la matière organique : un acide, un sucre, ...

A partir des énergies libres des demi-réactions d'oxydation et de réduction des substrats énergétiques présents dans un environnement, il est possible d'évaluer la quantité maximale de micro-organismes pouvant être produite dans cet environnement. L'énergie nécessaire à la production de 1g de micro-organismes peut être estimée à 64 kJ/mole [25]. Le métabolisme énergétique des micro-organismes "consomme" des quantités de substrats sensiblement plus importantes que celles du métabolisme nutritif, raison pour laquelle, la modification du milieu environnant résultera plus particulièrement du métabolisme énergétique et sera négligée par rapport à l'influence du métabolisme nutritif.

Cette donnée est illustrée ci-dessous, par l'exemple d'un développement de micro-organismes dans un milieu contenant des hydrocarbures et des nitrates. Pour produire 1 g de micro-organismes dont la composition chimique moyenne est $C_5H_7O_2N_{0,75} P_{0,05} S_{0,025}$, les besoins en Carbone et Azote vont conduire à la consommation de 0,53 g d'hydrocarbures et de 0,47 g de nitrates, alors que les besoins en énergie estimé à quelques dizaines de kJ/mole (60 kJ/mole) vont consommer 1,57 g d'hydrocarbures et 7,81 g de nitrates. Dans ce dernier cas, les hydrocarbures sont transformés en CO_2 (2,62 litres) et les nitrates en N_2 (1,41 litre).

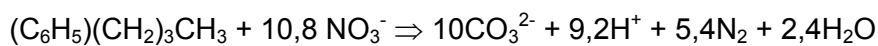
La réaction globale va donc consommer 2,1 g d'hydrocarbures, 8,28 g de nitrates et produire 1 g de micro-organismes, 2,62 litres de CO_2 et 1,41 litre de N_2 .

Ainsi si on écrit l'oxydation d'un hydrocarbure en présence de différents oxydants (O_2 , SO_4 , NO_3 , Fe (III) [25].



$$\Delta G^\circ = - 6134 \text{ kJ/mole à pH 12}$$

$$\Delta G^\circ = -5557 \text{ kJ/mole à pH 7}$$



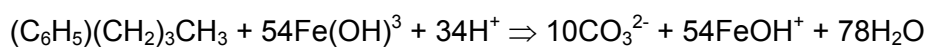
$$\Delta G^\circ = - 5472 \text{ kJ/mole à pH 12}$$

$$\Delta G^\circ = - 5206 \text{ kJ/mole à pH 7}$$



$$\Delta G^\circ = - 409 \text{ kJ/mole à pH 12}$$

$$\Delta G^\circ = - 224,5 \text{ kJ/mole à pH 7}$$



$$\Delta G^\circ = + 6946,4 \text{ kJ /mole à pH 12}$$

$$\Delta G^\circ = + 21,2 \text{ kJ /mole à pH 7}$$

Il apparaît que l'oxydation de cet hydrocarbure par le Fe III ne peut avoir lieu, car elle ne répond pas au critère thermodynamique ($\Delta G > 0$). Les trois premières réactions d'oxydation d'un hydrocarbure peuvent apporter l'énergie nécessaire au développement des bactéries ; plus la valeur de l'énergie libre sera négative, plus la multiplication des bactéries sera favorisée.

Ce même raisonnement peut être tenu pour d'autres molécules telles que le glucose [25].

Le plus souvent, les bactéries ne peuvent utiliser directement les éléments présents dans leur environnement, elles vont alors produire des enzymes intra ou extracellulaires permettant la transformation des molécules afin qu'elles deviennent utilisables.

2-1-5 Généralités sur les enzymes

Les réactions métaboliques indispensables à la vie microbienne sont régies par des activités enzymatiques. Les enzymes sont des protéines (macromolécules constituées d'un enchaînement d'acides aminés) produites par les micro-organismes, vivants, pour catalyser l'ensemble des réactions du métabolisme. Ces enzymes sont intra ou extra cellulaires. Par exemple, pour permettre l'assimilation d'une molécule de gros poids moléculaire, les micro-organismes excrètent des enzymes spécifiques pour rendre cette dernière assimilable. **La capacité enzymatique d'un micro-organisme définit, pour lui, la possibilité de réaliser certaines réactions métaboliques.**

L'enzymologie, a pris une place d'importance, depuis une dizaine d'années, dans l'explication des phénomènes de biocorrosion. Ainsi, l'activité de la Glucose Oxydase des micro-organismes marins est l'un des mécanismes qui explique l'augmentation du potentiel libre de corrosion des aciers inoxydables en eau de mer [3, 14]. Mais encore, certaines hypothèses soulignent que les hydrogénases pourraient jouer un rôle fondamental dans les mécanismes de biocorrosion des aciers au carbone [26, 27].

Afin de concentrer dans leur environnement, les produits ainsi générés ou transformés, les bactéries construisent une barrière limitant la diffusion en formant un biofilm.

2-1-6 Généralités sur les biofilms

Il est important de prendre en compte dans toute démarche scientifique et notamment dans l'explication des phénomènes de biocorrosion, la réalité physique et biologique d'un biofilm. Le biofilm est une accumulation en surface, qui n'est pas spatialement ou temporellement uniforme. Un biofilm est composé de 80-95% d'eau, de polymères extracellulaires (EPS, ExoPolySacharides) constituant 85-98% de la matière organique, de micro-organismes : bactéries, champignons, levures, micro-algues... Les biofilms bactériens sont, à ce jour, les mieux connus car les plus étudiés. Pour de nombreuses bactéries, l'adhérence sur une surface, par formation d'un biofilm, est un mode de survie en situation de carence alimentaire. Les biofilms sont présents dans tout système délimité par une surface sur laquelle est adsorbé un milieu aqueux contenant des nutriments (des quantités infiniment faibles de nutriments suffisent à l'établissement d'un biofilm). La croissance du biofilm compte plusieurs étapes, les plus notables sont les phases d'adhésion réversible et irréversible. En effet, lorsque les bactéries produisent des exopolysacharides, leur adhésion devient irréversible, il est alors impossible, par une simple attaque mécanique, de les décrocher de leur support.

Le biofilm peut être considéré comme un ensemble complexe vivant qui crée, à l'interface matériau-environnement, des zones chimiquement et physiquement très hétérogènes. Le biofilm est un système dynamique en constante évolution dans lequel le milieu circule avec difficulté.

Il est important de souligner que la chimie du milieu n'est pas toujours représentative de la chimie dans le biofilm. Ainsi Lewandoski *et al* [41] ont mis au point des microélectrodes permettant de mesurer le pH à l'interface métal-biofilm. Lors de leurs travaux, ils ont enregistré dans un biofilm formé sur un acier inoxydable immergé en eau de mer, des $\text{pH} < 1$. Il est bien évident que certaines bactéries peuvent localement abaisser le pH de façon dramatique vis-à-vis de la tenue à la corrosion des matériaux.

A notre connaissance, des pH alcalins n'ont pas été enregistrés dans le biofilm marin. Cependant, il n'est pas à exclure que certains micro-organismes aient la capacité métabolique d'augmenter localement le pH.

Au travers de ces données le microbiologiste doit **didactiquement** faire prendre conscience au corrosionniste comment les bactéries sulfurogènes sont de véritables catalyseurs de la Corrosion Induite par les micro-organismes. Cette famille bactérienne étant la plus citée dans la littérature rapportant des cas de biocorrosion.

Le spécialiste des matériaux doit retenir, que selon certaines conditions environnementales ($T^{\circ}\text{C}$, pH, présence de matière organique, d'ions : SO_4^{2-} , ...), ces micro-organismes particuliers ont la capacité de produire localement, dans le biofilm adhérent à la surface métallique, des quantités importantes de sulfures, de modifier à l'échelle microscopique le pH, la concentration en oxygène dissous à l'interface matériau environnement, et d'excréter des enzymes qui pourraient jouer un rôle déterminant dans les phénomènes étudiés. Ces modifications peuvent avoir une action positive ou négative sur le comportement des matériaux.

Le microbiologiste et le corrosionniste doivent, sans relâche, suivre les modifications de la composition physico-chimique du milieu en constituants indispensables au développement des bactéries. Certaines molécules revêtent un caractère différent pour les microbiologistes et les corrosionnistes. Ainsi, le microbiologiste s'attachera à connaître, globalement, la concentration en matière organique, voire en molécules organiques ciblées et la présence ou non de certains ions comme SO_4^{2-} ou $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$; connaissances indispensables pour appréhender la caractérisation microbiologique du milieu ou les possibilités de développement d'un micro-organisme donné. Le corrosionniste, quant à lui, regardera, précisément, les propriétés physico-chimiques du milieu pour évaluer l'agressivité de ce dernier.

2-2 Données sur les bactéries sulfurogènes

2-2-1 Généralités

Les bactéries sulfurogènes sont considérées, à ce jour, comme les micro-organismes les plus agressifs vis-à-vis des matériaux métalliques [26, 28], lors des travaux antérieurs de nombreuses données microbiologiques ont été présentées sur cette flore particulière (pages 93 à 96). Ce paragraphe ne précise que certaines indications métaboliques et physiologiques indispensables à la compréhension des phénomènes étudiés.

En effet, l'un des rôles du microbiologiste est d'expliquer au corrosionniste comment les micro-organismes, de part leur activité métabolique (métabolisme nutritif et énergétique), peuvent modifier la physico-chimie du milieu. Le microbiologiste doit en retour comprendre comment ces changements dans l'environnement favorisent ou non l'établissement de la corrosion microbienne.

2-2-2 Les Bactéries Sulfato-Réductrices (BSR)

Les BSR sont les bactéries sulfurogènes les plus étudiées, de nombreuses références concernant leur métabolisme et leur rôle dans les phénomènes de biodégradation des matériaux sont disponibles.

Le métabolisme des bactéries sulfato-réductrices se caractérise par la propriété, que possèdent ces bactéries, d'utiliser le sulfate comme accepteur terminal d'électrons (oxydant). Ce processus est couplé à l'oxydation d'un donneur d'électrons (réducteur) qui est, le plus souvent, une substance organique.

La physiologie et la taxonomie des BSR ont subi d'énormes changements durant ces vingt dernières années et environ 40 genres et 150 espèces de sulfato-réducteurs sont actuellement caractérisés et divisés en quatre groupes phylogénétiques d'après l'analyse de leurs séquences d'ARNr 16S : BSR Gram-positives sporulée, BSR Gram-négatives mésophiles et thermophiles appartenant au domaine *Bacteria*, et Archaeobactéries thermophiles sulfato-réductrices [29, 30].

La majorité des BSR décrites à ce jour appartient au domaine des *Bacteria*. Le domaine des *Archea* n'est, lui, représenté que par deux genres : *Archeoglobus* et *Caldivirga*.

Les BSR ont une parfaite adaptation à la plupart des écosystèmes, qu'ils soient terrestres ou subterrestres, qui résulte certainement d'une grande versatilité métabolique [30]. Ces bactéries sont en effet capables d'utiliser une multitude de substrats qu'elles peuvent dégrader complètement pour certains.

Parmi les substrats utilisables par les BSR en présence de sulfate comme accepteur terminal d'électrons (oxydant), citons l'hydrogène, les acides organiques, les alcools, les sucres et même les hydrocarbures aliphatiques.

On leur reconnaît également la capacité d'intervenir dans la biodégradation des polluants environnementaux.

Jusqu'en 1980, les BSR étaient considérées comme des micro-organismes anaérobies stricts, puis il a été démontré qu'elles pouvaient tolérer la présence transitoire de l'oxygène moléculaire [31, 32]. La capacité d'une vraie respiration aérobie a été mise en évidence chez quelques souches de *Desulfovibrio*, *Desulfococcus multivorans*, *Desulfobulbus propionicus* et *Desulfobacterium autotrophicum* [32]. Cependant, aucune croissance avec de l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons n'a été rapportée.

L'importance paradoxale de l'oxygène est confirmée par un certain nombre d'observations faites en milieu naturel. Elles ont montré que la corrosion influencée par les bactéries sulfato-réductrices était relativement faible dans des conditions strictement anaérobies, alors que des concentrations localisées d'oxygène l'accéléraient de façon souvent dramatique [33, 34, 35] et obligatoirement cantonnée aux seules zones parfaitement anaérobies.

Les BSR font partie intégrante d'un cycle appelé le cycle biologique du soufre.

Le cycle naturel du soufre

Le soufre est un élément nécessaire à tous les organismes vivants, sous la forme de protéines (en tant que composant de la méthionine et de la cystéine) et des cofacteurs coenzymes A, thiamine et biotine. Dans la biosphère oxygénée, la source de soufre la plus abondante et la plus stable du point de vue énergétique est le sulfate, son niveau d'oxydation est alors le plus élevé (+6).

Les organismes incapables de réduire le sulfate obtiennent des composés organiques soufrés réduits à partir des nutriments essentiels *via* la chaîne alimentaire [35].

Au cours de la minéralisation de la biomasse morte, le soufre, comme les autres éléments essentiels (carbone, oxygène, azote), se trouve sous différentes formes : soit lié à des molécules organiques, soit libre sous forme inorganique, avec des passages de l'état réduit à l'état oxydé.

En conditions anaérobies, le sulfure est la forme réduite (-2) finale et énergétiquement stable du cycle du soufre. En milieu acide, ce dernier est transformé en H₂S qui peut alors être oxydé par différentes bactéries aérobies, telles que les bactéries du soufre, comme les espèces du genre *Thiobacillus* et les espèces filamenteuses de *Beggiatoa*. Le produit principal de cette oxydation est le sulfate.

L'oxydation de stades intermédiaires d'oxydation du soufre comme le soufre élémentaire ou le thiosulfate, a été observée chez divers organismes [24,36].

Les espèces bactériennes aérobies oxydant le sulfure (appelées bactéries sulfo-oxydantes) doivent vivre dans des zones où oxygène et sulfure coexistent et entrent donc en compétition avec l'oxydation chimique du sulfure.

Par ses propriétés chimiques et ses effets physiologiques, l' H_2S est beaucoup plus nocif que le sulfate. En effet, alors que le sulfate est plutôt inerte et non toxique, l' H_2S est chimiquement réactif et toxique pour les plantes, les animaux et les hommes. Même à de faibles concentrations ($\geq 0,2$ ppm), l' H_2S est reconnaissable à son odeur caractéristique.

Les stades intermédiaires d'oxydation du soufre, tels que le soufre élémentaire, le sulfite et le thiosulfate, peuvent être formés naturellement par une oxydation chimique ou biologique complète ou introduits dans la biosphère par l'activité volcanique et la technologie humaine.

Dans un environnement anaérobie, ces composés soufrés peuvent également être utilisés par des bactéries. Les principaux organismes réduisant le soufre élémentaire sont les anaérobies spécialisés considérés comme de vraies bactéries soufre-réductrices. Ces espèces ne réduisent pas le sulfate mais utilisent la réduction dissimilatrice du soufre comme réaction métabolique principale voire obligatoire.

En milieu acide le sulfure d'hydrogène généré par le métabolisme des bactéries sulfato-réductrices peut être oxydé par les bactéries aérobies du soufre. Le produit principal de cette oxydation est le sulfate (SO_4^{2-}).

Lors de cette oxydation biologique, il y a production d'autres espèces chimiques soufrées minoritaires comme le thiosulfate et le sulfite. En absence d'oxygène, d'autres bactéries : bactéries vertes et pourpres du soufre, sont capables d'utiliser le sulfure d'hydrogène formé et d'excréter dans le milieu du sulfate.

La production biologique du thiosulfate dans le milieu peut être réalisée par l'activité de micro-organismes en présence ou non d'oxygène à partir du sulfure d'hydrogène produit par les bactéries sulfato-réductrices [37].

Au regard du diagramme de Pourbaix présentant les différents équilibres stables (tension / pH) du système soufre-eau à 25°C [38], la transformation du sulfure d'hydrogène en thiosulfate est aussi possible en eau de mer aérée par oxydation chimique. Ainsi, dans un circuit d'eau de mer ouvert, en acier au carbone, les bactéries sulfato-réductrices présentes dans le biofilm produisent du sulfure qui en milieu acide se transforme très rapidement en H_2S .

Ce dernier diffuse dans le biofilm selon son gradient de concentration (du biofilm vers l'eau de mer) ; cette diffusion s'oppose à un gradient d'oxygène dissous (de l'eau de mer vers le biofilm). Le sulfure d'hydrogène peut alors être, par voie chimique, partiellement oxydé en thiosulfate ou complètement oxydé en sulfate.

Métabolisme énergétique

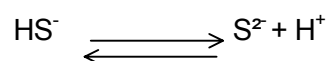
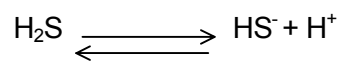
Rappelons que le métabolisme énergétique des bactéries se résume à des réactions d'oxydo-réduction en chaîne. Ces réactions correspondent à un transfert d'électrons entre un réducteur (donneur d'électrons) et un oxydant (accepteur d'électrons).

⇒ Accepteurs d'électrons

En l'absence d'oxygène, les formes oxydées du soufre sont utilisées par les bactéries sulfato-réductrices comme accepteurs d'électrons (oxydant) pour permettre l'oxydation de substrats organiques [35].

Les bactéries sulfato-réductrices réduisent leur accepteur terminal d'électrons, le sulfate, entièrement en sulfure comme principal produit final. En milieu aqueux, les ions S^{2-} se combinent avec les ions H^+ pour former du sulfure d'hydrogène.

Le sulfure d'hydrogène formé se décompose en HS^- et S^{2-} selon le pH du milieu (figure 1).



Le sulfure est en général le seul produit excrété lors du métabolisme dissimilateur du soufre des BSR. En milieu acide, le sulfure excrété se transforme très rapidement en H_2S (figure 1).

$$[H_2S] + [HS^-] + [S^{2-}] = 1$$

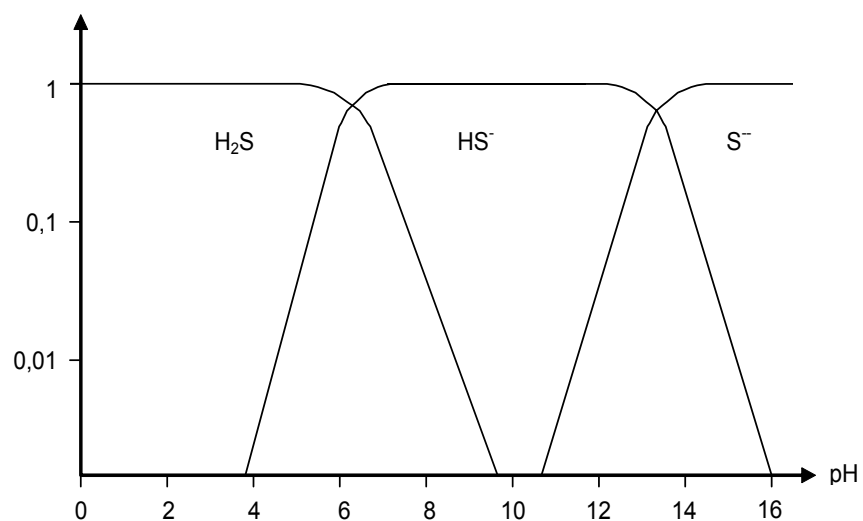


Figure 1 : évolution de la répartition des sulfures H_2S , HS^- et S^{2-} avec le pH de l'eau de mer [39]

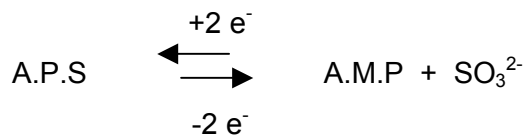
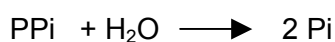
Toutefois, des données métaboliques récentes sur les BSR montrent que ces dernières ont la capacité d'excréter directement de l'H₂S par un mécanisme cellulaire complexe qui met en jeu de nombreuses enzymes et cytochrome C [40].

Bien que le sulfate soit l'accepteur d'électrons "préférentiel" des bactéries sulfato-réductrices, ces dernières peuvent en utiliser d'autres : le sulfite (SO₃²⁻), le thiosulfate (S₂O₃²⁻), le soufre mais aussi les nitrates et les nitrites.

Du fait de leur faible réactivité, les ions SO₄²⁻ ne peuvent pas être réduits directement. Ils doivent d'abord être activés par réaction avec une molécule d'Adénosine Tri-Phosphate formée lors des processus d'oxydation :

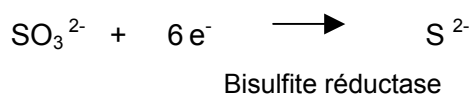


Cet équilibre donne naissance à l'Adénosine PhosphoSulfate (A.P.S) grâce à l'intervention de l'enzyme A.T.P. sulfurylase. Il est déplacé vers la droite par hydrolyse du pyrophosphate inorganique sous l'impulsion de la PyroPhosphatase inorganique (PPi) :

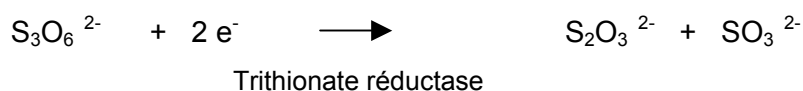
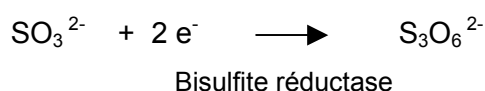


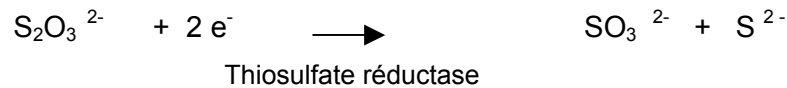
Les ions bisulfites qui ont été identifiés comme intermédiaires doivent ensuite être réduits en sulfures. Deux mécanismes semblent possibles :

-le premier correspond à une réduction directe à six électrons :



-le deuxième ferait intervenir trois étapes biélectroniques avec, comme intermédiaires réactionnels, le trithionate et le thiosulfate :





Le mécanisme suggéré par Drake et Akagi [42] dans lequel un arrangement séquentiel des enzymes intervient à la surface de la membrane (figure 2) permet toutefois d'envisager une série de trois réductions biélectroniques.

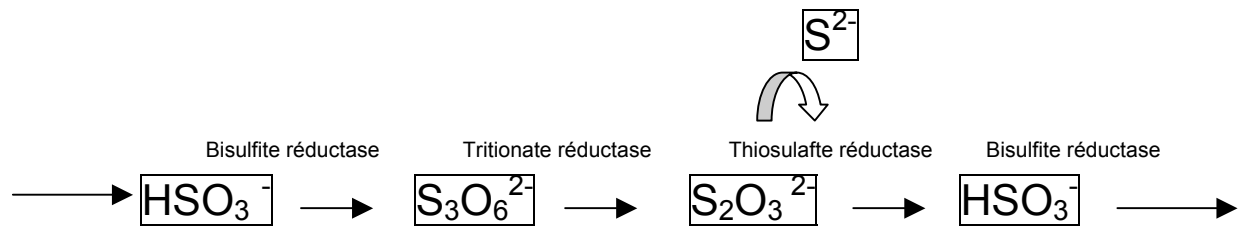


Figure 2 : arrangement séquentiel des enzymes [42]

⇒ **Donneurs d'électrons**

Du point de vue métabolique, les BSR se répartissent en deux groupes : les espèces oxydant incomplètement leur substrat jusqu'à l'acétate et celles capables d'oxyder leur substrat organique, y compris l'acétate, jusqu'au dioxyde de carbone (la figure 3) [43].

L'utilisation de l'hydrogène est possible, grâce à la présence d'une hydrogénase, dont l'activité a été détectée chez des espèces, des genres : *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfotomaculum* [44].

En l'absence de sulfate ou d'autres accepteurs d'électrons inorganiques, plusieurs types de BSR peuvent se développer par fermentation de certains substrats organiques. Le fumarate et le malate peuvent être fermentés pour produire du succinate, de l'acétate, du dioxyde de carbone et parfois du propionate [45].

Le pyruvate est également aisément fermenté par beaucoup d'espèces pour produire de l'acétate, du dioxyde de carbone et de l'hydrogène [46, 47, 48, 49].

D'autres composés peuvent être fermentés par certaines espèces : le lactate et l'éthanol en présence de CO_2 , le fructose, et même la cystéine avec production d' H_2S [36, 50, 51, 52, 53].

Certaines espèces utilisent le fumarate comme accepteur d'électrons pour oxyder l'hydrogène ou le lactate ; le fumarate est alors réduit en succinate.

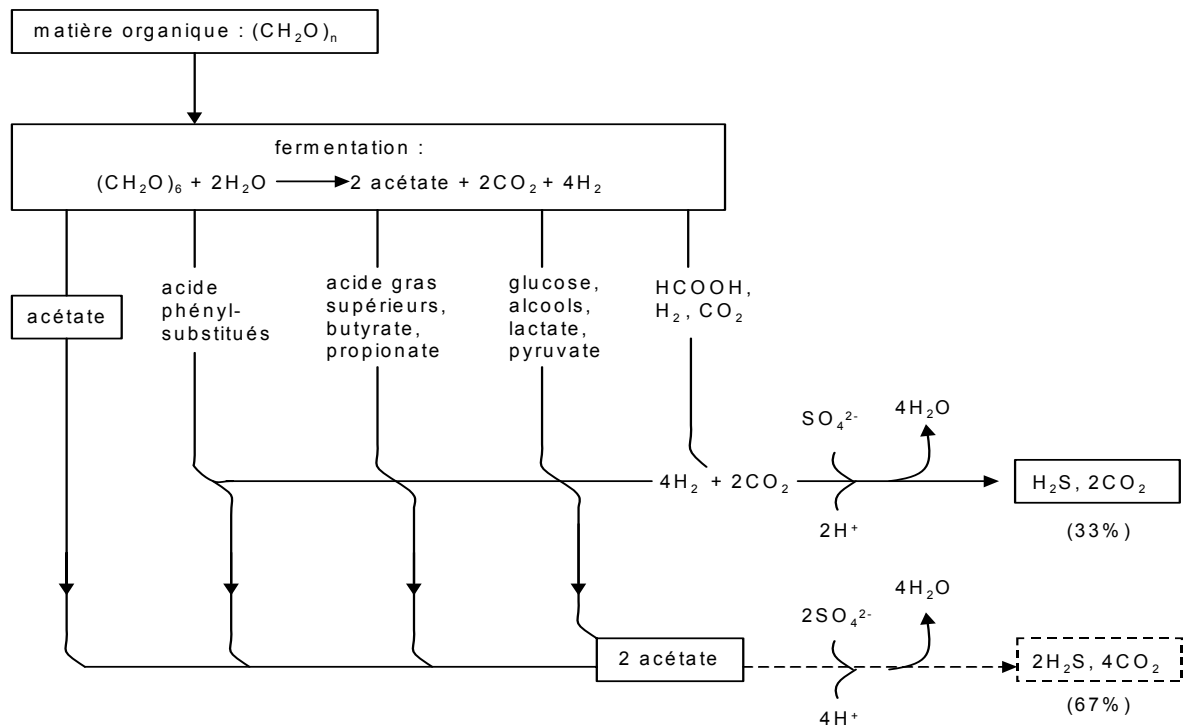


Figure 3 : dégradation anaérobie de la matière organique et différentes voies de l'oxydation subséquente liées à la réduction du sulfate [43]

L'enzymologie, a pris une place d'importance dans l'explication des phénomènes de biocorrosion. Certaines hypothèses soulignent que les hydrogénases pourraient jouer un rôle fondamental dans les mécanismes de biocorrosion des aciers au carbone [26, 27]. La partie suivantes présentent quelques données sur l'activité hydrogénasique des BSR.

Influences sur l'activité de l'hydrogénase

Cheung et Beech [54] ont montré qu'en présence de Chrome, de Nickel et de Molybdène, l'activité de l'hydrogénase des BSR isolées de Portsmouth décroît significativement. L'activité de l'hydrogénase des BSR a été détectée chez les BSR planctoniques et sessiles de Portsmouth et seulement pour les BSR sessiles d'Indonésie.

L'activité de l'hydrogénase dépendrait de la concentration en Fe^{2+} . Aucune activité n'a été détectée à 0 ppm de Fe^{2+} . L'activité de l'hydrogénase est détectée entre 2 ppm (Portsmouth) et 5 ppm (Indonésie). Pour les BSR de Portsmouth, aucune différence significative n'a été observée entre 2 ppm et 5 ppm de Fe^{2+} . L'activité de l'hydrogénase des BSR d'Indonésie est toujours plus faible que celles isolées de Portsmouth.

L'activité de l'hydrogénase est toujours plus importante pour les BSR sessiles (fixées au support) que pour les BSR planctoniques. Fe est un cofacteur important pour la synthèse d'enzymes telles que les hydrogénases et les réductases [55].

Postgate [56] et Csechowski [57] ont montré que la quantité totale d'hydrogénase périplasmique de *Desulfovibrio vulgaris* en milieu limité en métaux est plus faible qu'en milieu non limité en métaux et que la concentration en Fe n'a pas d'influence sur la production cellulaire, ce qui apparaît être en contradiction avec les travaux de Cheung et Beech [54].

Les BSR du genre *Desulfovibrio* ont un fort besoin en Fe [55]. L'environnement anaérobie autour d'un métal corrodé est généralement pauvre en Fe de la forme sulfide aux formes fortement liées avec Fe^{2+} . Ainsi, si les BSR ne peuvent utiliser que les formes non liées de Fe^{2+} , l'activité enzymatique dans le biofilm devrait être plus faible que pour les BSR planctoniques. Les BSR pourraient posséder un mécanisme de capture des métaux liés au sulfide [35]. L'utilisation de la microscopie électronique à transmission et de la microscopie à force atomique ont montré que des particules de FeS sont associées à la surface des BSR [58, 59].

2-2-3 Les Bactéries Thiosulfato-Réductrices (BTR)

Il est désormais évident que des micro-organismes thiosulfato-réducteurs existent dans une grande variété d'écosystèmes en environnement terrestres et subterrestres, bon nombre d'auteurs l'ont démontré durant ces dernières années [40, 60, 61, 62, 63]. La thiosulfato-réduction a été démontrée en culture pure en laboratoire, en croissance sous conditions anaérobies strictes ou facultatives [37].

L'oxydation en anaérobiose du thiosulfate en tétrathionate a été récemment démontrée dans un groupe bactérien aérobie hétérotrophe obligatoire avec *Pseudomonas stutzeri* [64].

L'équipe de recherche du Laboratoire de Microbiologie de l'IRD Marseille a récemment démontrée, pour la première fois, l'existence d'une activité thiosulfato-réductrice anaérobie due à des micro-organismes non sulfato-réducteurs [64]. A partir de quatre sols de rizières situées en France et aux Philippines, cette équipe a isolé 18 souches de bactéries thiosulfato-réductrices non sulfato-réductrices, protéolytiques, n'utilisant pas le glucose et produisant du sulfure en présence de thiosulfate et d'hydrogène.

La production de thiosulfate résulte de l'oxydation chimique du sulfite sous conditions aérobies ou anaérobie. Il a été démontré que le thiosulfate joue un rôle intermédiaire au cours du cycle des sulfures dans les sédiments marins [65].

Dans les zones oxiques des sédiments, le thiosulfate peut être oxydé par des espèces chimiolithotrophes (telle que *Thiobacillus*) en acide sulfurique [66].

L'oxydation complète ou la disproportionation du thiosulfate diminue pendant que la réduction du thiosulfate augmente avec la profondeur des sédiments, ce qui indique que la thiosulfato-réduction est un processus biologique significativement important en environnement sédimentaire anoxique [64].

Le séquençage de l'ADNr 16S a montré que les BTR appartenait toutes au genre *Clostridium* et étaient phylogénétiquement proches de *C. subterminale*. Les résultats de comptages de bactéries thiosulfato-réductrices incapables de réduire le sulfate (TSRnSR) dans des sols de rizières, leur identification comme souches de *Clostridium* et l'ubiquité connue de ce genre dans ces sols, indiquent que ces derniers peuvent jouer un rôle aussi important que celui des bactéries sulfato-réductrices dans le cycle du soufre des rizières et en particulier dans les pertes de rendement parfois importantes, dues à la sulfato-réduction.

La réduction du thiosulfate peut également être réalisée par des bactéries thermophiles non sulfato-réductrices qui ont été isolées principalement dans des milieux terrestres chauds, et dans les milieux pétroliers chauds et salés.

Ces micro-organismes appartiennent aux genres *Thermoanaerobacter*, *Thermoanaerobacterium*, *Thermoterrabacterium*, *Moorella*, *Thermosipho* et *Fervidobacterium* [66, 67]. Certaines espèces bactériennes thiosulfato-réductrices appartenant au genre *Thermotoga* ont été isolées de l'eau de gisements pétroliers [68].

De plus, des bactéries anaérobies mésophiles sont capables de réduire le thiosulfate. Il s'agit de bactéries isolées de milieux pétroliers et appartenant au genre *Dethiosulfovibrio*. La réduction de thiosulfate est aussi réalisée par des espèces bactériennes du genre *Clostridium*. Ces bactéries ont été isolées de sols de rizières [66].

Cependant, des micro-organismes fermentaires appartenant au domaine des *Archaea* réduisent le thiosulfate. Ces micro-organismes sont isolés dans les milieux terrestres et appartiennent au genre *Ferroglobus* du phylum *Euryarchaeota* ; aux genres *Thermoproteus*, *Pyrobaculum*, *Pyrodictium*, *Thermocladium*, *Caldivirga* et *Stetteria* du phylum *Crenarchaeota* [30, 60, 61].

Jusqu'à présent, les micro-organismes thiosulfato-réducteurs ont été isolés de différents biotopes tels que : de gisements pétrolifères, de sédiments, de digesteurs et de sources terrestres chaudes. **A notre connaissance, la détection de tels micro-organismes à partir de biofilms formés en milieu marin n'a pas encore été rapportée.**

Bien que de nombreux micro-organismes des domaines *Bacteria* et *Archaea* soient connus pour leur capacité à réduire le thiosulfate, les voies métaboliques et les mécanismes de cette réduction dissimilatrice sont à ce jour peu étudiées. La réduction dissimilatrice du thiosulfate n'a été étudiée jusqu'à présent que chez le genre *Thermoanaerobacter* du domaine des *Bacteria*.

Les espèces qui appartiennent à ce genre sont capables de réduire le thiosulfate en sulfure. L'étude du métabolisme oxydatif de l' H_2 réalisée, chez cinq espèces de ce genre, en présence d'extrait de levures dans le milieu de culture, a montré qu'en présence de thiosulfate, ces bactéries pouvaient être réparties en deux groupes. Le premier groupe est constitué de bactéries n'oxydant que très peu ce gaz, tandis que le second groupe est constitué de bactéries à caractère hydrogénotrophes (*T. brockii*, *T. finnii* et *T. lactiethylicus*) lorsqu'elles utilisent le thiosulfate comme accepteur terminal d'électrons afin de créer des conditions anoxiques favorables à leur croissance par la production de sulfure quand elles oxydent fortement l' H_2 [64, 67, 68].

L'oxydation des sulfures en présence d'oxygène peut conduire à la formation *de novo* d'ion thiosulfate dans le milieu (lors de conditions de microaérophilie) et son utilisation par les micro-organismes thiosulfato-réducteurs. La présence du thiosulfate pourrait alors créer une compétition entre les thiosulfato-réducteurs et les organismes hydrogénotrophes comme les sulfato-réducteurs et les bactéries méthanogènes.

Au cours de l'oxydation de l' H_2 chez *T. brockii*, la croissance est améliorée après la phase exponentielle, ce qui indique que la synthèse d'ATP qui a lieu est couplée à la réduction du thiosulfate. Ce résultat avait déjà été obtenu dans des études faites avec des organismes anaérobies sulfo-réducteurs lors de la réduction du soufre élémentaire [64, 67, 68].

L'implication possible d'une thiosulfate réductase dans la réduction dissimilatrice du thiosulfate et la récente découverte d'une soufre-élémentaire-réductase non spécifique qui agit comme une hydrogénase chez *Pyrococcus furiosus* favorise la possibilité de mettre en évidence une enzyme réductase (en l'occurrence une thiosulfato-réductase) comme chez *Clostridium* et chez les espèces appartenant au genre *Thermoanaerobacter* [69].

Les systèmes enzymatiques impliqués dans la réduction dissimilatrice du thiosulfate

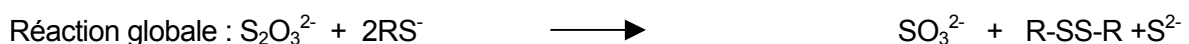
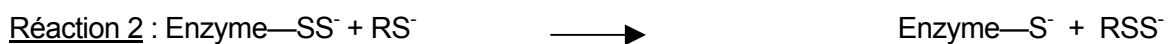
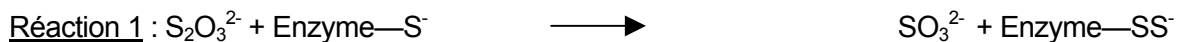
Jusqu'à présent seuls deux systèmes enzymatiques ont été mis en évidence dans le processus de la réduction du thiosulfate. Il s'agit de la thiosulfate/soufre-transférase ou rhodanèse et la thiosulfate-réductase [37].

La thiosulfate/soufre transférase ou Rhodanèse

La rhodanèse est une enzyme mise en évidence chez les procaryotes et les eucaryotes. Elle intervient dans la détoxification de l'acide cyanhydrique et effectue le clivage réductif du thiosulfate. De plus, cette enzyme permet la réduction du thiosulfate par le transfert du sulfane sur un site cible cystéine selon la réaction 1.

Le persulfure ainsi formé réagit alors avec un accepteur de sulfate afin de régénérer l'enzyme sous sa forme native selon la réaction 2. Une oxydation du persulfure permet alors la production de sulfure selon la réaction 3.

La réaction globale est donc une oxydation du groupe thiol par le thiosulfate, dont la partie sulfonile est réduite en sulfite [37].



La thiosulfate-réductase

Cette enzyme effectue en une seule étape le clivage réductif du thiosulfate en sulfite et en sulfure (réaction 1).



Cette enzyme a été mise en évidence chez de nombreux Procaryotes et plus particulièrement chez les espèces sulfato/thiosulfato-réductrices du genre *Desulfovibrio*. Cependant, cette enzyme est répandue autant chez les procaryotes que chez les eucaryotes, chez lesquels elle a été étudiée.

Actuellement, il n'y a pas de données quant à la mise en évidence et/ou l'activité de telles enzymes chez les bactéries des genres *Thermoanaerobacter*, *Thermotoga* ou chez les espèces thiosulfato-réductrices non sulfato-réductrices mésophiles.

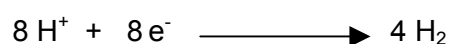
2-3 Mécanismes de biocorrosion des aciers au carbone en eau de mer

Le mécanisme, le plus ancien (1934), pour expliquer la corrosion induite par les bactéries sulfato-réductrices est celui de la dépolarisation cathodique proposé par Von Wolgozen Kühr et Van der Vlugt [70].

D'après cette théorie les bactéries sulfato-réductrices ont la capacité de consommer l'hydrogène cathodique et entraînent la dépolarisation cathodique à la surface du matériau en accélérant la vitesse de cette réaction.

Les produits de corrosion sont le sulfure de fer et l'hydroxyde ferreux.

En fait, cette théorie montre qu'il y aurait augmentation de la corrosion par accélération de la réaction cathodique, en présence de bactéries sulfato-réductrices :



Il apparaît, selon cette théorie, que l'utilisation de l'hydrogène est le fait de bactéries possédant une hydrogénase. L'hydrogénase est une enzyme bactérienne qui utilise l'hydrogène comme substrat.

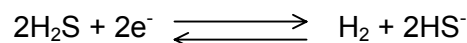
Booth et Tiller [71] trouvent, en effet, une dépolarisation cathodique seulement en présence d'espèces bactériennes hydrogénase positives, les espèces hydrogénase négatives ne semblant pas affecter les courbes de polarisation cathodique.

De plus, ils mettent en évidence une forte dépolarisation cathodique lorsque le sulfure de fer et les bactéries hydrogénase positives se trouvent simultanément en présence dans la solution. Ils suggèrent alors que le processus de corrosion est dû à l'action conjointe du sulfure de fer et de l'activité enzymatique des bactéries, ces deux paramètres agissant comme dépolarisants cathodiques. Ces résultats semblent confirmer la théorie de la dépolarisation cathodique.

Booth et Wormell [72] tentent de montrer qu'il existe une corrélation linéaire de la vitesse de corrosion et l'activité hydrogénase des bactéries.

Ils n'atteignent pas le but escompté, mais au contraire montrent qu'il peut y avoir augmentation de la vitesse de corrosion avec des bactéries hydrogénase négatives, ce qui contredit totalement les travaux précédents.

Plus tard, Costello [73] explique la dépolarisation cathodique par la production de sulfure d'hydrogène par les bactéries sulfato-réductrices. Le sulfure d'hydrogène agirait comme un accepteur d'électrons pour former HS⁻ et H₂.



En 1990, Crolet [74] souligne que les réactions électrochimiques de corrosion ne sont pas des réactions réversibles mais des réactions irréversibles. Cette observation permet de comprendre que les deux théories précédentes sont fausses.

Ces dernières postulent, en effet, que l'élimination des produits de la réaction cathodique entraîne une augmentation des vitesses des réactions de corrosion ; c'est en fait une application de la loi de Le Chatelier, qui ne s'applique en aucun cas aux réactions irréversibles.

Il existe d'autres théories du mécanisme de la corrosion induite par les bactéries sulfato-réductrices [26, 27, 28], par souci de clarté nous ne les citerons pas toutes d'autant qu'aucune n'a été réellement démontrée.

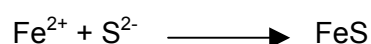
La production de sulfures dans le milieu par le métabolisme des bactéries sulfato-réductrices est par contre très importante dans le processus de corrosion. Tout d'abord, ces sulfures peuvent catalyser les réactions anodiques par sulfuration de l'anode.

Ensuite, ils précipitent avec les ions ferreux pour former des zones de sulfure de fer.

La libération d'ions sulfures S²⁻ par les bactéries favorise la dissolution du métal :



Cette réaction est alors accélérée par les ions sulfures S²⁻ :



Lee *et al* [75] proposent le schéma de dissolution du fer ci-dessous (Figure 4) :

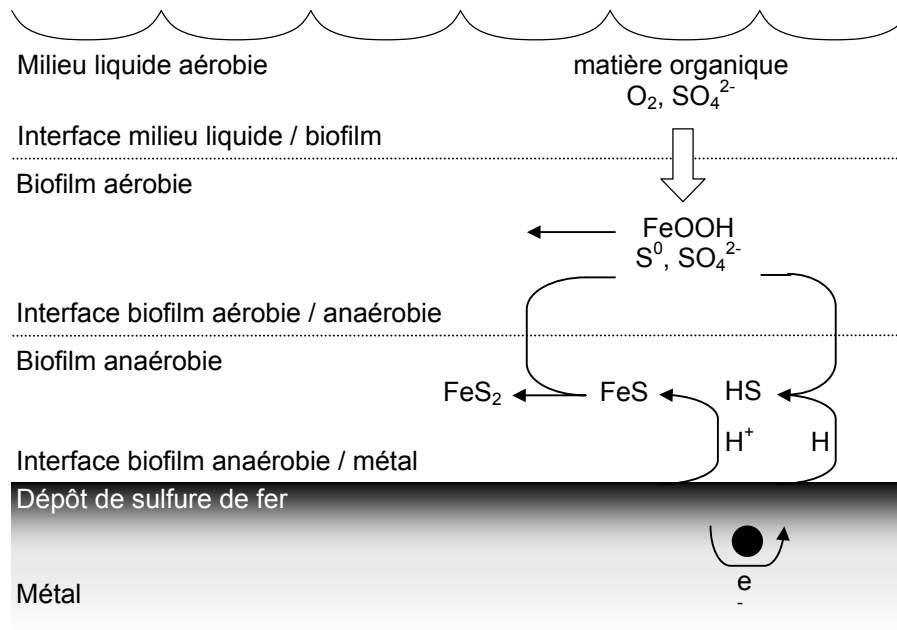


Figure 4 : schématisation de la corrosion d'un acier influencé par les BSR en présence d'un biofilm à la surface du métal d'après LEE [27].

Le sulfure de fer ainsi formé se dépose sur la surface métallique permettant la création de zones cathodiques FeS et anodiques Fe . Elles sont suffisamment proches pour créer une pile. Cette pile provoque la formation d'une corrosion localisée à la surface du métal. La corrosion s'effectuerait en plusieurs étapes telles que :

- transport de matière organique, de sulfate (SO_4^{2-}) et d'oxygène (O_2) extérieur au biofilm,
- métabolisme aérobie : diffusion de matière organique à travers le biofilm. Une couche oxydante se crée alors dans le biofilm,
- formation d'hydroxyde de fer $FeOOH$,
- métabolisme anaérobie et réduction du sulfate SO_4^{2-} . Le sulfure d'hydrogène se forme. Il y a création d'une couche anoxique dans le biofilm,
- précipitation de sulfure de fer FeS ,
- oxydation du sulfure de fer qui entraîne la formation de soufre S et d'hydroxyde de fer $FeOOH$.
- formation de FeS_2 ,
- corrosion électrochimique : formation d'une corrosion perforante.

La présence de sulfure de fer n'explique pas les vitesses de formation de corrosions localisées parfois très élevées rapportées dans la littérature. Par contre, si le système reçoit un apport continu en oxygène, ce qui est le plus souvent le cas dans les circuits d'eau de mer ouverts, les sulfures s'oxydent, il y a alors une forte production d'acidité et, par conséquent, localement de fortes vitesses de corrosion.

Mais ce mécanisme ne peut à lui seul expliquer les vitesses enregistrées. Un autre mécanisme intervient [74, 75]. Crolet suggère un rôle important du métabolisme bactérien.

Ainsi, les bactéries sulfato-réductrices, de part leur activité, peuvent réguler localement le pH ce qui peut conduire à une production ou une consommation d'acidité [76, 77]. J'ai choisi de reporter ci-dessous, plus particulièrement, le modèle de Crolet, qui a mon sens, constitue une avancée certaine dans la compréhension des phénomènes microbiens, qui interviennent en biocorrosion.

La littérature microbiologique rend compte du métabolisme des BSR sous forme d'une équation chimique approchée à H^+ près :



Dans cette équation, Nu^- représente le « nutriment », qui en laboratoire se trouve souvent être l'ion lactate $CH_3 CHO H COO^-$. Ac^- est une notation abrégée commode pour l'ion acétate $CH_3 COO^-$. Si $n_A = 0$, le métabolisme est dit « oxydant complet », et « oxydant incomplet » si $n_A \neq 0$. Néanmoins, une équation chimique doit être équilibrée. Il faut donc équilibrer l'équation (1), deux options sont possibles : l'une, à haut pH, en normalisant toutes les espèces sous leur forme ionique, et l'autre, à bas pH, en privilégiant les formes acides non dissociées. Ainsi, le métabolisme brut pourrait s'écrire :



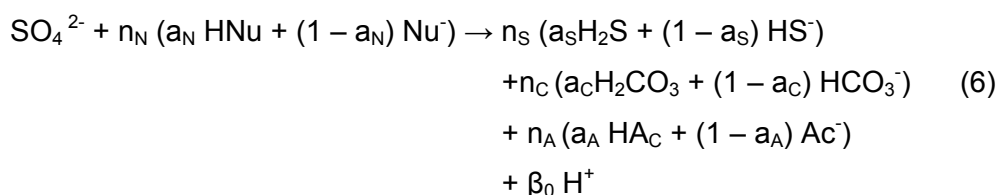
Les deux versions sont liées par la relation :

$$\alpha' = \alpha + n_N - (n_S + n_C + n_A) \quad (4)$$

Toutefois, ni l'une ni l'autre ne représentent encore la réalité. Dans le domaine de pH concerné, entre pH 3 et pH 9, les pH sont en effet souvent voisins des pK des acides faibles impliqués dans les équations. Toutes espèces chimiques θ sera donc présente simultanément sous ses formes HX et X^- , son taux d'association spécifique a_x étant fonction de son pK et du pH :

$$a_x = \frac{[HX]}{[\theta]} = \frac{[HX]}{[HX] + [X^-]} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K} = \frac{1}{[1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}}]} \quad (5)$$

Le métabolisme bactérien exact s'écrit finalement :



$$\text{avec : } \beta_0 = \alpha + n_N a_N - (n_S a_S + n_C a_C + n_A a_A) \quad (7)$$

Si les métabolismes approchés ou bruts sont bien une propriété intrinsèque de chaque souche de BSR, le métabolisme net est aussi une fonction du pH. La valeur β_0 varie en effet de façon continue entre ses deux limites α et α' .

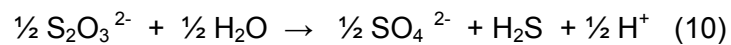
Pour les métabolismes répertoriés dans la littérature α , α' et β_0 peuvent être calculés facilement.

Pour des substrats carbonés tels que le lactate, acétate ou alcools, α est en général positif et α' négatif. Il en résulte alors que pour le métabolisme net de BSR, ayant comme accepteur terminal d'électrons le sulfate, le coefficient β_0 correspond à une production de H^+ à haut pH, et à une consommation de H^+ à bas pH. Ceci signifie que la chimie des métabolites tend à réguler le pH du milieu ambiant autour de la valeur où la production et la consommation de H^+ sont toutes deux nulles ($\beta_0=0$). Pour les souches *Desulfovibrio desulfuricans* et *vulgaris* croissant sur le lactate, le pH régulé serait ainsi de 6,7.

Cette chimie de base du métabolisme bactérien peut également être couplée à d'autres réactions chimiques. Ainsi, les BSR sont capables d'utiliser des espèces soufrées autres que le sulfate, et notamment le sulfite, le thiosulfate, le soufre élémentaire, d'où à chaque fois, d'autres coefficients β_i sont introduits, dans les équations chimiques correspondantes.

Malheureusement, celles-ci ont rarement été décrites avec précision par les microbiologistes. Pour le thiosulfate, par exemple, Widdel [36] fait l'hypothèse que « cela ne change rien par ailleurs ». Ceci signifie qu'il faudrait simplement rééquilibrer une nouvelle équation au thiosulfate avec d'autres coefficients stochiométriques.

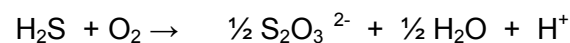
Du fait de la conservation de la matière, ces nouveaux coefficients peuvent être dérivés mathématiquement de ceux de l'équation précédente au sulfate (6), en la faisant précéder par une « réaction virtuelle » de dissociation du thiosulfate :



D'où un coefficient théorique β_2 pour le métabolisme décrit par les équations (6) et (10) :

$$\beta_2 = \frac{1}{2} (\beta_0 + 1 - a_s)$$

Dans la pratique, cependant, β_2 n'a jamais pu être mesuré. La réduction du thiosulfate semble en effet un processus beaucoup plus complexe que celle du sulfate. On observe des stochiométries évoluant dans le temps, et des effets de relargage des sulfures différés dans le temps. Enfin, le sulfure bactérien peut être remanié, par exemple, par réoxydation en thiosulfate en cas d'apport d'oxygène depuis l'extérieur du biofilm :



D'où un nouveau coefficient :

$$\beta'_0 = \beta_0 + a_s$$

Enfin, ce thiosulfate régénéré peut être recyclé dans un métabolisme au thiosulfate fonctionnant alors en circuit fermé et sans apport de soufre extérieur :

$$\beta'' = \frac{1}{2} (\beta_0 + 1 + a_s)$$

Enfin, toutes ces variantes peuvent être couplées à une précipitation de sulfure de fer, on peut ainsi calculer 10 valeurs différentes de β . Toute la complexité du modèle développé par Crolet apparaît clairement au regard du nombre de combinaisons possibles en fonction de la valeur de β et semble parfois peu réaliste face aux réactions biochimiques du métabolisme bactérien .

A la lecture de la théorie développée par Crolet on remarque que certains paramètres, apparemment importants, pour l'auteur comme β_2 n'ont pas pu être mesurés et que certaines réactions sont qualifiées de virtuelles (réaction 10).

La principale conclusion de Crolet est **que l'action des BSR sur l'acidification locale se révèle extrêmement variable**. Les quelques remarques émises précédemment soulignent clairement certaines imprécision de la théorie.

Dans tous les cas on constate que sur une anode (BSR + Fe) ou sur une cathode environnante (BSR), les régulations locales de pH sont sensiblement différentes, avec une acidification nettement plus marquée sur l'anode. C'est potentiellement le moteur idéal pour une corrosion par piqûre de l'acier ordinaire. Sous cet angle, le soufre élémentaire pourrait apparaître comme le plus dangereux. Toutefois S^0 est très peu soluble, et les cinétiques réelles d'une telle chimie apparaissent problématiques. A l'opposé, le sulfite est très soluble, mais les pH correspondant sont systématiquement moins acides, et par conséquent moins dangereux que pour le sulfate.

Ainsi, c'est le thiosulfate qui apparaît globalement comme le plus dangereux avec à la fois des pH plus acides et un contraste de pH plus marqué que le sulfate [5].

Cette théorie n'est jusqu'à ce jour pas clairement démontrée. Cependant le travail de Campaignolle [26] tend à montrer que l'acidification différentielle par les bactéries sulfato-réductrices pourrait être le mécanisme moteur de la corrosion bactérienne. En effet, il démontre qu'en présence de bactéries sulfato-réductrices utilisant du sulfate comme accepteur terminal d'électrons, la vitesse de piqûre peut se stabiliser à quelques mm par an ; par contre, si ces bactéries utilisent du thiosulfate, la vitesse de corrosion peut atteindre 1 cm par an. Selon ces résultats, le thiosulfate et la thiosulfato-réduction apparaissent comme un facteur de risque majeur en biocorrosion, ce qui conforte en partie le modèle de l'autorégulation du pH, qui prévoit (en théorie) une pile d'acidité différentielle plus forte dans le cas du thiosulfate que dans celui du sulfate.

Le biofilm joue également un rôle important dans la corrosion bactérienne. **La colonisation hétérogène de la surface par les micro-organismes aérobies amène une consommation d'oxygène non uniforme à la surface du matériau.**

Les zones colonisées deviennent anaérobies et anodiques vis-à-vis des zones en contact avec le milieu aéré. Des piles de corrosion peuvent être ainsi constituées. Selon Schaschl [78], les sulfures produits par les bactéries sulfato-réductrices peuvent être oxydés en soufre élémentaire.

Les endroits où le soufre est présent en grande quantité deviennent cathodiques, il y a alors formation de piles de concentration, similaires aux piles d'aération différentielle.

Un autre élément, le phosphore, est peu discuté dans la littérature concernant la corrosion et la protection cathodique en milieu marin. Cependant, Iverson et al en 1985 [79] ont déjà étudié l'influence des composés phosphorés.

D'après ces auteurs, à partir des phosphates PO_4^{3-} , les bactéries sulfato-réductrices pourraient libérer la phosphine PH_3 . Celle-ci réagirait alors avec les ions ferreux Fe^{2+} pour former des phosphures de fer. Ainsi les sulfures de fer formeraient un film protecteur alors que les phosphures de fer stimuleraient la corrosion.

De plus, d'après Campaignolle [26] et Monfort-Moros [27], il n'y aurait corrosion que si le film de sulfures de fer est imparfait, laissant ainsi aux phosphures de fer la possibilité d'agir.

2-4 Synthèse

Ce chapitre a, dans une première partie, rappelé des données microbiologiques de base indispensables à la compréhension des phénomènes de corrosion microbienne. La notion de stérilité a été, particulièrement, développée ; c'est une valeur fondamentale pour les microbiologistes que les corrosionnistes doivent apprendre à maîtriser théoriquement et pratiquement. Le principe du métabolisme énergétique bactérien a été rappelé en insistant essentiellement sur les termes de donneur et accepteur terminal d'électrons qui ont une place, singulière, dans la connaissance et le vocabulaire de la microbiologie, comme réducteur et oxydant termes équivalents pour tous les physico-chimistes.

Le métabolisme carboné a également été explicité en précisant, notamment, le caractère hétérotrophe et autotrophe de certains micro-organismes. L'enzymologie qui depuis une dizaine d'années a pris une place prépondérante dans l'explication des phénomènes de biocorrosion a été citée, en rappelant le fonctionnement basique des enzymes et leur rôle fondamental dans l'ensemble des réactions du métabolisme bactérien.

Des données synthétiques sur le biofilm ont été fournies en mentionnant, entre autre, que ce dernier peut être considéré comme un ensemble complexe vivant, qui crée des zones chimiquement et physiquement très hétérogènes à l'interface matériau-environnement. Le biofilm est un système dynamique en constante évolution dans lequel circule difficilement le milieu environnant.

Dans la deuxième partie, des données sur les bactéries sulfurogènes ont été fournies, plus particulièrement, sur les Bactéries Sulfato et Thiosulfato Réductrices. Les BSR sont les bactéries sulfurogènes, les plus étudiées, le métabolisme énergétique de ces bactéries se caractérise par la propriété qu'elles possèdent à utiliser le sulfate comme accepteur terminal d'électrons couplé à l'oxydation d'un donneur d'électrons qui est, le plus souvent, une substance organique. Le métabolisme des composés soufrés a été développé en insistant principalement sur le métabolisme de dissimilation. Le sulfure est, en général, le seul produit excrété lors du métabolisme dissimilateur soufre. En milieu acide le sulfure excrété se transforme très rapidement en H_2S .

Toutefois, des données métaboliques récentes, sur les BSR, montrent que certaines ont la capacité d'excréter directement de l' H_2S par un mécanisme cellulaire compliqué. Les principales capacités métaboliques ainsi que l'activité hydrogénasique ont été présentées. Le métabolisme énergétique des BTR repose sur la réduction du thiosulfate, accepteur terminal d'électrons. Certains systèmes enzymatiques impliqués dans la réduction dissimilatrice du thiosulfate ont été cités.

La troisième partie présente les principaux mécanismes de la corrosion microbienne des aciers au carbone en eau de mer. Différentes approches de la dépolarisation cathodique, conséquence du métabolisme bactérien, sont présentées, mais l'importance prédominante du rôle des enzymes hydrogénases est particulièrement développée.

Il a été, également, choisi d'insister sur les travaux de Crolet [76, 77] expliquant la régulation locale de l'acidité par le métabolisme énergétique des BSR et des BTR. Cette théorie prévoit que l'acidité produite par la réduction du thiosulfate est plus importante que lors de la réduction du sulfate. Cette thèse a d'ailleurs été largement confortée par les travaux de Campaignolle qui en démontre sa réalité microbiologique [26]. L'ensemble de ces travaux pourrait expliquer, partiellement, que les BTR ont un pouvoir corrosif plus grand que les BSR.

Chapitre 3

UN EXEMPLE DE COLLABORATION ENTRE MICROBIOLOGISTE ET CORROSIONNISTE

**« Étude de l'inter-influence entre la flore sulfurogène
et la protection cathodique en eau de mer »**

Direction de l'étude : **Isabelle Dupont-Morral**

Industriel : **Port Autonome du Havre**

Durée de l'étude : **24 mois**

Publications associées :

Pineau S., Lefèvre Yves., Dupont I - « Impact de la protection cathodique sur l'activité corrosive de la flore sulfurogène » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 pp 38 – 44

Pineau S., Dupont I - « Influence de la protection cathodique sur la vitesse de colonisation de la flore sulfurogène sur l'acier en milieu marin : flore sulfurogène naturelle et monocultures de Bactéries Sulfato-Réductrices et Thiosulfato-Réductrice » - 2002 - Matériaux et Techniques - n° 7-8 - pp 23-28

Communications associées :

Dupont I, Pineau S, Braisaz T - « Interrelationship between cathodic protection and microbiologically influenced corrosion in marine environment : brief-review and prospects » - 2003 - 13th International Harbour Congress, Anvers - 30 mars au 2 avril

Dupont I., Pineau S., Ribot A - « Interactions entre la germination du dépôt calcomagnésien et la croissance de *Desulfovibrio halophilus* et *Dethiosulfovibrio peptidovorans* à la surface d'un acier carbone sous protection cathodique » - 2002 - 1^{er} Colloque Interdisciplinaire sur les matériaux en France – "Matériaux 2002", Tours - 21 au 25 mai

Godart C., Dagbert C., Dupont I., Pineau S., Galland J., Scherrer P., Baril J.C., Benaïssa B - « Role of microorganisms on the formation of calcareous deposit resulted of cathodic protection applied in marine environment » - 2002 - CEFACOR / European Federation Corrosion / Aix en Provence 4 au 7 juin

3-1 Introduction

Les aciers immergés en milieu marin sont particulièrement exposés aux risques de corrosion. Les dégâts occasionnés peuvent provoquer d'importantes pertes économiques et représentent un facteur de risque majeur en terme de sécurité maritime.

Les principaux moyens de lutte contre la corrosion en milieu marin, dont nous disposons, sont les revêtements (peintures, résines) et la protection cathodique [80, 81]. Cette dernière est basée sur un principe électrochimique qui consiste à abaisser le potentiel de l'acier, qui devient cathodique, dans son domaine d'immunité. Que ce soit par anode sacrificielle ou par courant imposé, le potentiel théorique à appliquer est normalisé (Norme NF 05-655) à environ -800 mV par rapport à une Électrode de référence au Chlorure d'argent (AgCl) dans le cas d'une eau de mer aérobie et sans forte contamination bactérienne. Dans le cas d'une eau de mer anaérobie et fortement contaminée (bactéries, matière en suspension organique ou minérale) il est préconisé d'abaisser ce potentiel d'environ 100 mV, soit une valeur finale d'environ -900 mV/Ag/AgCl. Cette recommandation émane d'observations réalisées *in situ* mais également d'études scientifiques menées depuis une vingtaine d'années sur ce sujet.

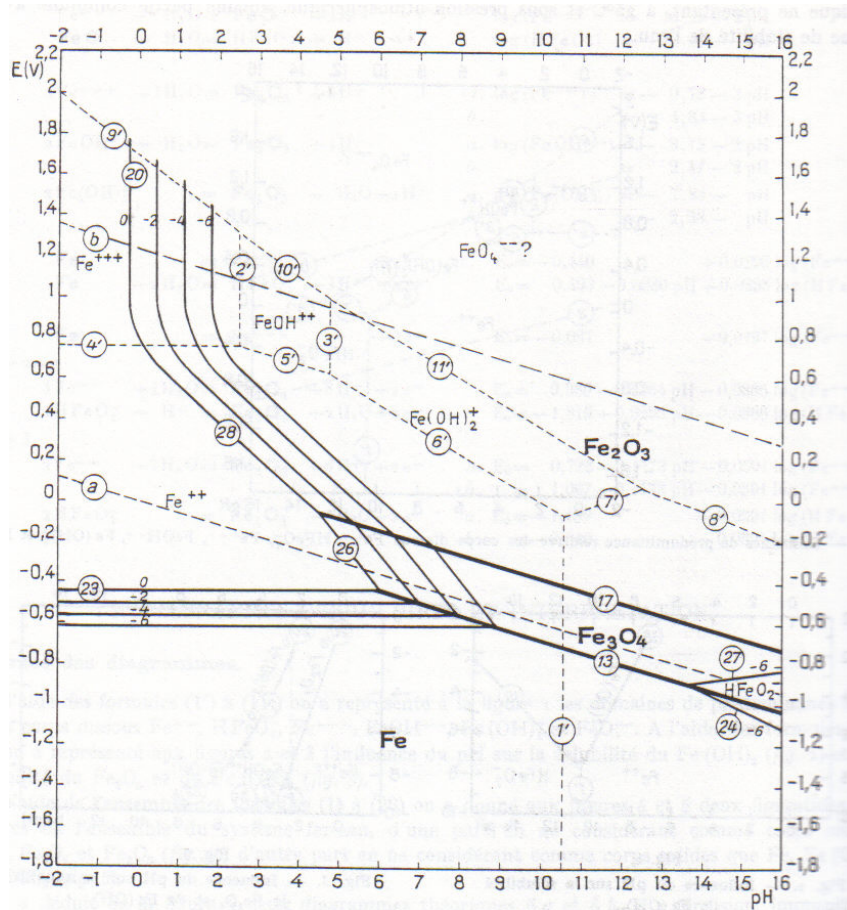


Figure 5 : diagramme d'équilibres tension-pH du système fer-eau à 25°C POURBAIX [38]

En effet, l'inter-influence entre la protection cathodique et les micro-organismes fait appel à de nombreux domaines de compétences telles que la microbiologie, la chimie, l'électrochimie ou encore la métallurgie. Les paramètres à prendre en compte sont nombreux et leurs inter-influences complexes.

Il est important de préciser que l'étude présentée a été largement soutenue par le Port Autonome du Havre. Les responsables de la maintenance portuaire étant, en effet, très désireux d'approfondir les connaissances dans ce domaine pour protéger au mieux leurs installations. Ce travail a donc fait l'objet de nombreux échanges avec les industriels, ces derniers nous rappelant sans cesse le besoin, de s'écarter le moins possible de la réalité du terrain. Les choix expérimentaux de ces essais ont, par conséquent, été faits dans cet état d'esprit.

Rappelons, également, que des travaux cités précédemment [16, 17, 18, 19] ont montré une augmentation significative, de la vitesse de développement de la flore sulfurogène dans un environnement proche d'un matériau métallique protégé cathodiquement. Au regard de ces constatations une question légitime se pose : cette augmentation de la concentration en flore sulfurogène (considérée comme particulièrement agressive pour les matériaux métalliques) à l'interface matériau-environnement est-elle de nature agressive pour le matériau protégé cathodiquement ?

Dans le cadre des essais réalisés, deux approches sont retenues :

- des essais en eau de mer naturelle,
- des essais en culture pure.

L'objectif est de répondre à deux questions d'importance :

- **l'accélération de la cinétique de colonisation de la flore sulfurogène sur un matériau protégé cathodiquement est-elle confirmée dans nos conditions expérimentales [16, 17, 18, 19] ?**
- **la présence d'une quantité importante de bactéries sulfurogènes à l'interface dépôt calco-magnésien-matériau protégé cathodiquement est-elle plus agressive pour le matériau qu'en absence de protection cathodique ?**

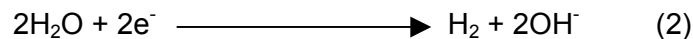
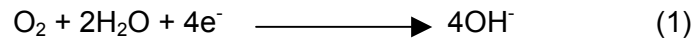
Les problèmes posés par cette étude ont été choisis, pour illustrer et expliciter le rôle de la microbiologie, dans l'étude des phénomènes de corrosion microbienne.

Des données sur la protection cathodique et l'eau de mer sont présentées ci-après.

3-1-1 Données sur la protection cathodique en milieu marin

Le principe de la protection cathodique consiste à imposer au métal un potentiel situé dans son domaine d'immunité.

Lors de l'imposition du potentiel cathodique deux réactions ont lieu sur le métal à protéger :



La protection cathodique, en réduisant l'oxygène dissous dans l'eau et en produisant de l'hydrogène, altère la chimie de la solution à la surface métallique en augmentant localement le pH par la production d'ions hydroxydes, pouvant conduire à la précipitation du calcium et du magnésium présent dans l'eau de mer. Ainsi, des pH d'une valeur de 11,5 ont pu être mesurés [82, 83, 84]. Cette augmentation d'alcalinité change l'équilibre du système CO_2 à l'interface acier/solution pour former plus de CO_3^{2-} qui favorise la précipitation de nouveaux sels constituant un dépôt sur le métal à protéger. L'analyse du dépôt calcomagnésien observé, dans ces conditions, montre qu'il est essentiellement composé de carbonates de calcium et d'hydroxyde de magnésium.

L'un des principaux effets du biofilm est l'influence qu'il peut avoir sur la formation du dépôt calcomagnésien. Un biofilm bactérien, de par le métabolisme des micro-organismes, peut induire une modification du pH pouvant devenir inférieur à 5 [85, 86].

Or, l'hydroxyde de magnésium ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) précipite à un pH supérieur à 9,5, et le carbonate de calcium à un pH de 8,5 [87]. L'acidification du milieu en empêche la précipitation, le magnésium étant lui-même connu pour interférer avec la précipitation du calcium (inhibition de la précipitation des cristaux de calcite). Pour de faibles valeurs de courant, les biofilms peuvent ainsi modifier la structure du dépôt calcomagnésien [85].

Des observations en microscopie électronique à balayage montrent que les bactéries pionnières (les premières à se fixer à la surface) sont recouvertes par le dépôt calcomagnésien. Lorsque les bactéries sont détachées, Videla *et al* [85] observent des cavités reproduisant l'empreinte des bactéries, ce qui révèle une discontinuité de la structure du dépôt.

Si les conditions permettent la précipitation du magnésium et du calcium, alors elle a lieu avec la formation d'un film plus dense en raison de la production par les micro-organismes d'ExoPolySacharides (EPS) [88].

3-1-2 Données sur l'eau de mer

L'eau de mer est un milieu complexe, agressif vis-à-vis des matériaux qui y sont immergés. L'agressivité du milieu marin peut être définie par l'ensemble des paramètres qui conditionnent l'action de dégradation mécanique, physique, chimique, électrochimique ou biologique.

Guezennec et al. [89] soulignent l'importance d'utiliser de l'eau de mer naturelle pour les essais visant à l'étude de la corrosion microbienne marine.

Lors de leurs travaux sur la protection cathodique, les différences observées entre expériences réalisées en eau de mer naturelle et en milieu synthétique sont significatives tant au niveau des densités de populations bactériennes que sur la nature et la cinétique de la formation de dépôts sur le matériau. Cependant, il faut rappeler que pour des raisons pratiques et pour une première approche simplificatrice, l'eau de mer artificielle préconisée par la norme ASTM peut être utilisée dans l'étude des phénomènes de corrosion induite par les micro-organismes [3].

Au regard des constituants de cette eau de mer artificielle, il apparaît clairement que certains composés, plus particulièrement les acides organiques (acide acétique, formique, pyruvique, ...) les acides aromatiques (acides gallique, syringique, ...), les acides aminés (alanin, glycine, serine, ...), les acides gras, les oses, les polysaccharides présents en eau de mer naturelle ne sont pas additionnés. Pourtant, c'est un paramètre essentiel à l'étude de la corrosion microbienne, puisque ces éléments sont indispensables au développement de la flore hétérotrophe.

Simuler la réalité de terrain environnementale est un souci majeur dans ce travail, c'est pourquoi l'eau de mer naturelle, bien que très complexe, a été retenue comme milieu expérimental préférentiel.

Plus généralement, dans l'étude des phénomènes de corrosion microbienne le rôle du microbiologiste est d'aider les corrosionnistes à reproduire en laboratoire un milieu le plus représentatif possible du milieu naturel, en apportant les informations, sur le vivant, nécessaires aux spécialistes des matériaux. Le microbiologiste doit trouver le meilleur compromis possible pour que chaque spécialiste puisse travailler en harmonie, de façon optimale.

3-2 Matériel et méthodes

Seules les principales données expérimentales sont présentées, ces dernières sont largement détaillées dans les travaux encadrés (pages 93 à 96).

Le matériau :

Le matériau utilisé pour l'ensemble des expérimentations est un acier au carbone issu d'un échantillon prélevé sur une palplanche portuaire (carbone : 0,17%, silicium : 0,46%, manganèse : 1,41%, soufre : 0,010%, phosphore : 0,030%, nickel : 0,04%, chrome : 0,02%, molybdène : <0,01%). Seule la partie de l'échantillon, exempte de déformations liées à la découpe ou au pliage lors de l'élaboration de la palplanche, est utilisée. Les éprouvettes sont usinées aux dimensions de 15mm x 15mm +/- 0,1 mm pour la surface (soit 2,25 cm²), et de 5mm +/- 0,1mm pour l'épaisseur. La surface des coupons est rectifiée, dégraissée et séchée.

La connexion est assurée par une languette en acier inoxydable 304L. L'ensemble de l'éprouvette est isolé par enrobage dans de la résine Combisub T150[®].

La surface à étudier est mise à nu par polissage à l'eau jusqu'au grade 1000, dégraissée, puis séchée à l'air sec filtré.

Choix des potentiels cathodiques imposés

Les potentiels ont été choisis en fonction des données fournies par la norme AFNOR NF A 05-655 ; les valeurs sont données par rapport à l'Electrode au Calomel Saturée, utilisée dans ce travail (ECS = +244 mV/ENH– Ag/AgCl/eau de mer = +250 mV/ENH, ENH = Electrode Normale à Hydrogène) [90].

- -900 mV/ECS correspond à la protection recommandée en milieu pollué pour limiter les risques de corrosion microbienne. Le courant noté correspond à la réduction de l'oxygène dissous.
- -1000mV/ECS valeur légèrement supérieure à celle proposée en milieu pollué qui est reconnue comme étant le tout début où la réduction de l'eau devient notable.

En présence d'une pollution bactérienne, il est souvent recommandé d'appliquer une valeur de potentiel plus cathodique que celle donnée par la norme AFNOR. Ceci serait dû à la formation de sulfures provoquée par les bactéries ; ceux-ci conduisent à la formation de sulfure de fer dont le potentiel d'équilibre avec le fer, se situe à une valeur inférieure à celui correspondant à l'oxydation normale du fer [38].

Milieux expérimentaux

⇒ Eau de mer naturelle contaminée

Ce milieu, particulièrement important pour l'étude, correspond à de l'eau de mer naturelle dans laquelle a été favorisé le développement de la flore sulfurogène. Pour accélérer la croissance de cette flore particulière, de l'extrait de levures, du thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) et du fer, indispensables à leur croissance, sont ajoutés dans le milieu avant d'être partiellement désaéré par bullage d'azote (milieu anaérobie) et mis en croissance à l'étuve à $30^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, température optimale de croissance de la flore sulfurogène.

⇒ Eau de mer naturelle stérile

Ce milieu, témoin pour les essais, correspond à de l'eau de mer naturelle. Cette eau est filtrée et stérilisée par autoclavage (2 bars, 121°C pendant 30 minutes) et désaérée par bullage d'azote stérilisé par filtration à $0,2 \mu\text{m}$.

⇒ Milieux de cultures pures

Deux souches sont retenues :

- une Bactérie Sulfato-Réductrice : *Desulfovibrio halophilus* (DSM 5663),
- une Bactérie Thiosulfato-Réductrice : *Dethiosulfovibrio peptidovorans* (DSM 11002)

Les milieux de culture choisis sont le milieu de Starkey pour *Desulfovibrio halophilus* et le milieu de Magot pour *Dethiosulfovibrio peptidovorans*.

Les milieux de cultures sont préparés avec de l'eau de mer naturelle de zone portuaire stérilisée par filtration à $0,2 \mu\text{m}$. Les compositions de ces milieux sont détaillées dans les différents travaux encadrés (pages 93 à 96).

Durée des essais

Les essais ont été menés sur une période de deux mois, durée indispensable pour que les micro-organismes aient le temps de constituer leur propre environnement considéré comme agressif pour les matériaux métalliques.

Montage expérimental

Les photographies 1 et 2 présentent les montages expérimentaux retenus ; ces derniers sont largement illustrés dans les travaux encadrés (pages 93 à 96).

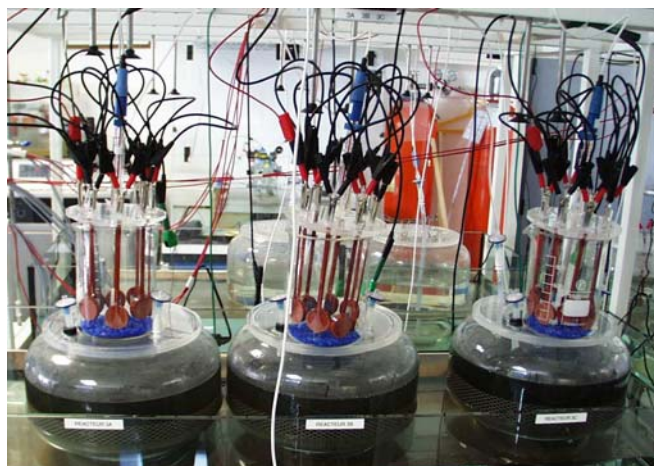


Photo 1 : photographie du montage des essais en eau de mer naturelle



Photo 2 : photographie du montage des essais en culture pure

Grilles expérimentales

Les potentiels cathodiques sont imposés pendant 2 mois.

✓ Essais avec la flore sulfurogène naturelle

Milieu avec flore sulfurogène naturelle (eau de mer contaminée)	-900 mV/ECS	-1000 mV/ECS	Sans protection cathodique
Milieu sans flore sulfurogène naturelle (eau de mer naturelle stérile)	-900 mV/ECS	-1000 mV/ECS	Sans protection cathodique

✓ Essais avec des monocultures de souches de collection sulfurogène

Monoculture d'une souche de BSR : <i>Desulfovibrio halophilus</i> (milieu de Starkey préparé avec de l'eau de mer naturelle stérile)	-900 mV/ECS	-1000 mV/ECS	Sans protection cathodique
Monoculture d'une souche de BTR : <i>Dethiosulfovibrio peptidovorans</i> (milieu de Magot préparé avec de l'eau de mer naturelle stérile)	-900 mV/ECS	-1000 mV/ECS	Sans protection cathodique

Analyses

Microbiologiques

Au cours des essais, régulièrement, des dénombrements de la flore sulfurogène (BSR-BTR) sont réalisés dans les milieux des réacteurs contaminés et dans le biofilm formé sur les éprouvettes. La flore sessile (fixée) est récupérée par ultra sonication (5 minutes, 135 Hz, température ambiante). La quantification des BSR-BTR est effectuée selon la technique du Nombre le Plus Probable (NPP) à 3 tubes. Cette technique consiste à mettre en culture des dilutions successives de l'inoculum jusqu'au point d'extinction. Les milieux retenus sont ceux de Starkey, pour les BSR, et Magot pour les BTR. Outre l'effet sélectif du milieu de culture, toutes les bactéries adhérant sur une particule apparaîtront dans les résultats comme un seul individu. Cette technique peut donc s'avérer fautive par défaut, et l'écart des effectifs ainsi dénombrés, par rapport aux comptages microscopiques, est très variable, pouvant parfois atteindre plusieurs puissance de 10. c'est pourquoi, dans cette étude nous considérons comme significative une différence de deux puissances de 10 entre deux dénombrements comparés.

Le temps d'incubation est de 3 semaines à 30°C +/-2°C.

Analyses des surfaces :

Chaque éprouvette, à la sortie du réacteur, est observée à la loupe binoculaire. Ces observations permettent de visualiser l'ensemble de la surface du coupon et d'estimer la présence ou l'absence d'un dépôt, la couleur, la texture, l'homogénéité de ce dernier ainsi que les traces de corrosion.

Après ces premières observations, les éprouvettes sont observées au Microscope Electronique à Balayage couplé à un système d'analyse Energy Dispersive Spectroscopy (EDS). Des observations en coupe sont réalisées sur certains échantillons.

3-3 Résultats

L'intégralité des résultats obtenus lors de ces essais n'est pas présentée, seuls les principaux sont illustrés et commentés.

3-3-1 Résultats microbiologiques

La figure 6 présente les résultats de dénombrements microbiologiques de la flore sulfurogène sessile obtenus dans les essais en eau de mer naturelle. Il est important de souligner que la concentration de la flore sulfurogène planctonique est, dans tous les cas, supérieure à la limite de détection à savoir 10^9 bactéries.ml⁻¹.

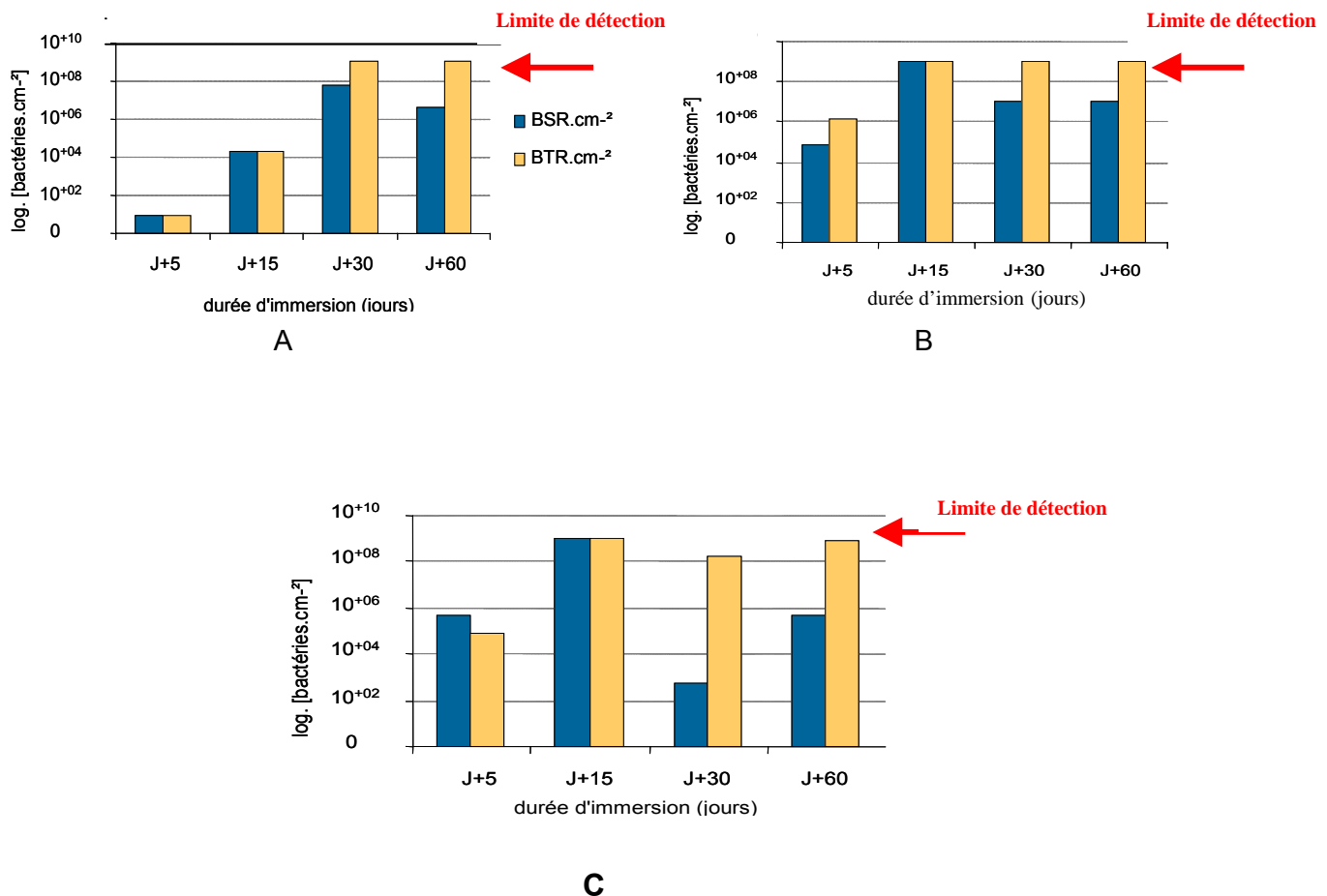


Figure 6 : résultats des dénombrements de la flore sessile. Essais en eau de mer naturelle contaminée avec ou sans protection cathodique. Durée des essais : 2 mois.

La limite de détection est de 10^9 bactéries.cm⁻².

A : Essai sans Protection Cathodique

B : Essai avec Protection Cathodique : - 900mV/ECS

C : Essai avec Protection Cathodique : -1000mV/ECS

La figure 6A illustre qu'aucune différence significative entre le nombre de BSR et de BTR n'est observable durant le premier mois d'immersion. La concentration en BTR atteint la limite de détection à partir de 30 jours d'immersion et jusqu'à 60 jours. La quantité de BSR est toujours inférieure à celle des BTR.

Les figures 6B et 6C mettent en évidence que quelque soit le potentiel imposé (-900 et -1000mV/ECS) le nombre de BTR est toujours supérieures ou égales au nombre de BSR à partir de 30 jours d'immersion, alors qu'après 15 jours les quantités de BSR et BTR sont supérieures aux limites de détection.

La croissance du biofilm sulfurogène est plus rapide que lors des essais sans protection cathodique. Pour les BTR les concentrations supérieures à la limite de détection sont atteintes dès les quinze premiers jours d'immersion quelle que soit la valeur du potentiel de protection cathodique imposé.

Ces résultats permettent de montrer une accélération de la colonisation des BSR et des BTR sous protection cathodique, mais *in fine* à partir de 30 jours d'immersion les concentrations en BSR et BTR avec ou sans protection cathodique sont comparables. Il est observé également une quantité plus importante de BTR par rapport aux BSR à partir de 30 jours d'essais.

L'ensemble des expérimentations réalisées en culture pure de BSR et BTR amènent aux mêmes conclusions (voir travaux encadrés pages 93 à 96) :

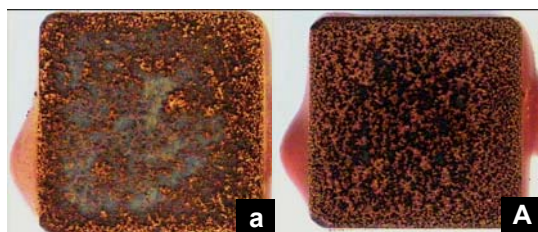
- une accélération de la colonisation du matériau par les BSR et BTR lorsque la protection cathodique est imposée, par rapport aux essais sans protection cathodique,
- après 30 jours d'essai la quantité de flore sulfurogène sessile (fixée) est comparable que ce soit avec ou sans protection cathodique.

3-3-2 Résultats des analyses de surfaces

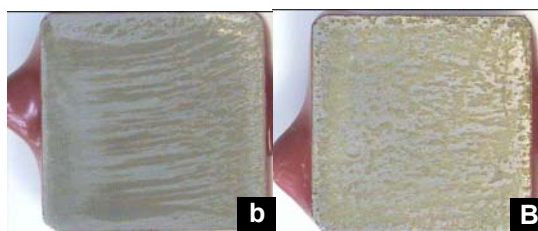
Essais en eau de mer naturelle contaminée

La figure 7 regroupe les photographies prises à la loupe binoculaire des coupons à leur sortie des réacteurs contenant ou non de la flore sulfurogène naturelle.

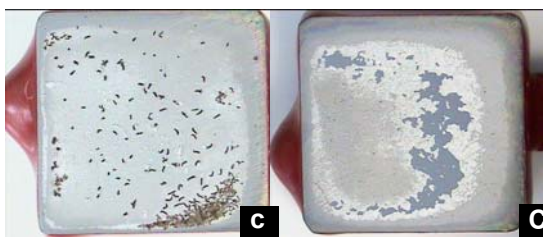
Milieu sans flore sulfurogène naturelle



sans protection cathodique
[a] : J+15 [A] : J+30
|—10mm—|

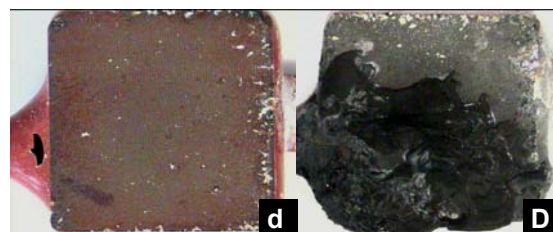


polarisation cathodique de
-900 mV/ECS
[b] : J+15 [B] : J+30
|—10mm—|

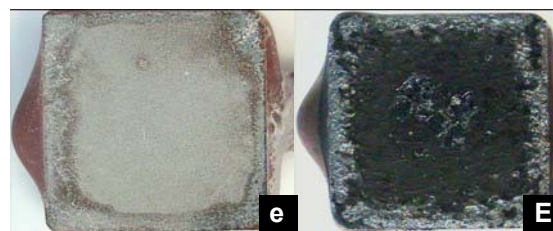


polarisation cathodique de
-1000 mV/ECS
[c] : J+15 [C] : J+30
|—10mm—|

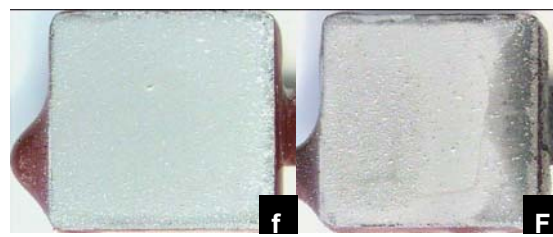
Milieu avec flore sulfurogène naturelle



sans protection cathodique
[d] : J+15 [D] : J+30
|—10mm—|



polarisation cathodique de
-900 mV/ECS
[e] : J+15 [E] : J+30
|—10mm—|

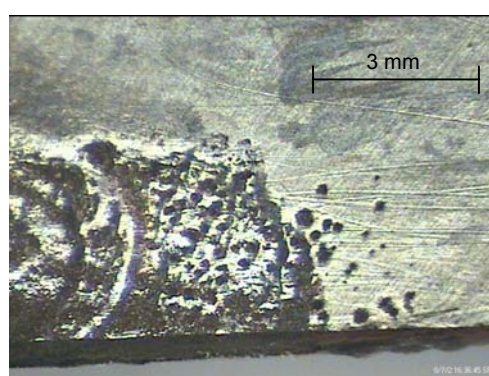
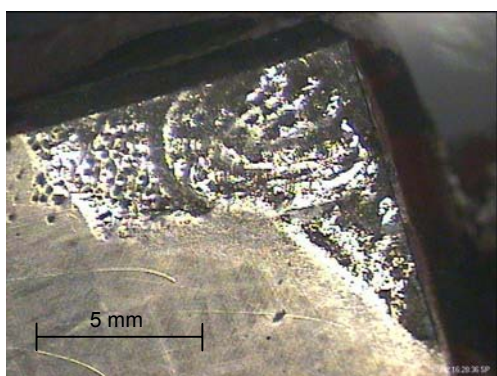


polarisation cathodique de
-1000 mV/ECS
[f] : J+15 [F] : J+30
|—10mm—|

Figure 7 : photographies prises à la loupe binoculaire de la surface des éprouvettes après 15 jours et 30 jours d'essai. Essais en eau de mer naturelle contaminée.

Dans le milieu sans flore sulfurogène, l'absence de protection cathodique provoque la formation d'une couche d'oxydation épaisse, homogène et friable.

Dans le milieu avec flore sulfurogène naturelle, en absence de protection cathodique, après 30 jours d'immersion une croûte épaisse noire et compacte s'est développée à la surface des éprouvettes. Après décolllement de cette croûte, la surface métallique sous-jacente présente des aspects de corrosion localisée (photographies 3 et 4).



Photographies 3 et 4 : aspect brillant du métal, avec formation de piqûres, sous une croûte formée en présence de la flore sulfurogène, sans protection cathodique après 30 jours d'immersion.

Essais en eau de mer naturelle contaminée.

Sous protection cathodique à -900 mV/ECS, en absence de flore sulfurogène, l'aspect métallique d'origine ne présente aucune trace de corrosion (les traces d'oxydation observables sur les photographies sont apparues lors du séchage des échantillons). En présence de la flore sulfurogène le dépôt calcomagnésien est clairement visible dès 15 jours d'immersion et continue de croître jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Sous protection cathodique à -1000 mV/ECS, en absence de flore sulfurogène, le dépôt calcomagnésien, clairement visible dès 15 jours d'immersion, se révèle très fragile et se désagrège lors des manipulations. En présence de la flore sulfurogène le dépôt est homogène et compact dès 15 jours d'immersion et continue de croître sans se désagréger jusqu'à la fin de l'expérimentation. Sa texture est plus fine et sa teinte est plus claire et homogène que dans le cas des essais à -900 mV/ECS.

Des analyses EDS ainsi que des observations en coupe ont été réalisées sur les échantillons sans protection cathodique, lors des essais avec la flore sulfurogène. Les observations obtenues sont présentées figure 8.

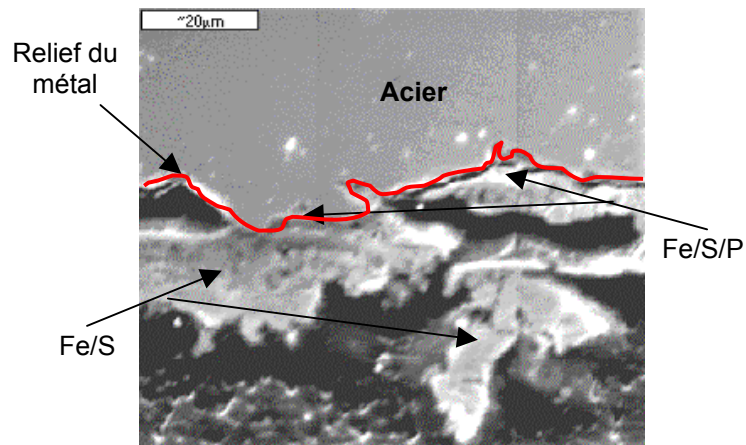


Figure 8 : observation en coupe et identification des éléments à la surface de l'acier corrodé, sans protection cathodique, en présence de flore sulfurogène (image en électrons secondaires) Essais en eau de mer naturelle contaminée (30 jours d'immersion).

La figure 8 indique clairement un relief, particulièrement, perturbé, signe d'une corrosion existante. L'analyse de ces sites indique assez nettement que les zones les plus endommagées se situent exactement sous un dépôt caractérisé par sa teneur prépondérante en soufre.

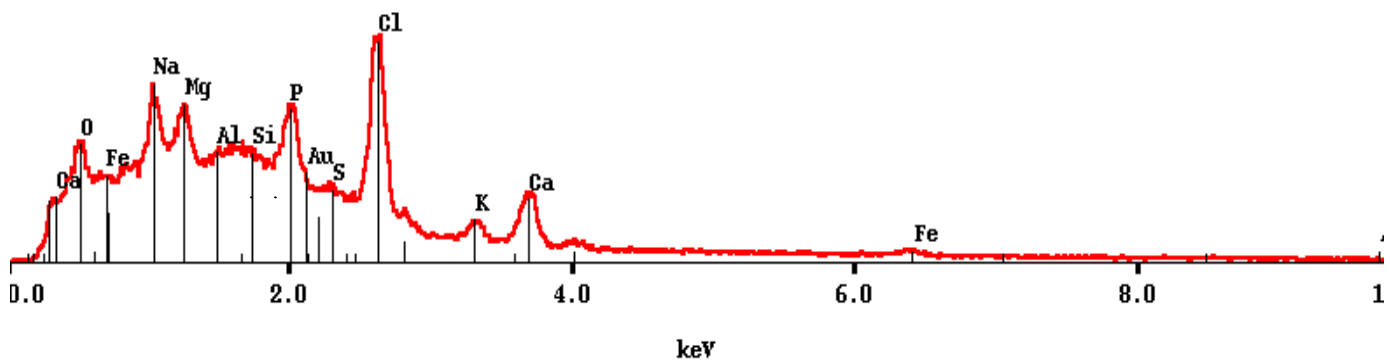


Figure 9 : spectres d'analyse EDS. Essai en présence de flore sulfurogène naturelle Avec protection cathodique (-1000 mV/ECS)

L'analyse EDS (figure 9) indique la présence majoritaire de chlore, de sodium (NaCl de l'eau de mer) et à un degré moindre de magnésium et de calcium. Malgré la présence de bactéries, aucun pic de soufre n'est observé.

Ces différentes observations permettent de montrer, qu'en absence de protection cathodique et en présence de la flore sulfurogène naturelle, les échantillons présentent une corrosion localisée. Le relief apparaît perturbé et les analyses EDS soulignent la présence de sulfure de fer.

Dans les mêmes conditions expérimentales, sous protection cathodique (-900 et -1000 mV/ECS), aucune trace de corrosion importante n'est observée à la surface des échantillons ; en coupe le relief n'est pas perturbé et il est important de remarquer que les analyses EDS ne mettent pas en évidence la présence de soufre.

Essais en cultures pures

La figure 10 regroupe les photographies prises à la loupe binoculaire des coupons à leur sortie des réacteurs après les essais réalisés en cultures pures de bactéries sulfurogènes. Le passage rapide à l'air modifie l'aspect des éprouvettes mais permet toutefois de faire des comparaisons entre elles.



Figure 10 : photographies prises à la loupe binoculaire de la surface des éprouvettes après 15 jours et 30 jours d'essai.
Essais en cultures pures

En absence de protection cathodique les aspects de corrosion sont variables selon le milieu de culture. En présence de *D. halophilus* (BSR) les corrosions localisées sont peu nombreuses et occupent une surface relativement importante (aspect partiellement noirâtre), alors qu'en présence de *D. peptidovorans* (BTR) les attaques sont petites, nombreuses et réparties de manière homogène à la surface du matériau (aspect noirâtre).

Sous protection cathodique à -900 mV/ECS, des traces d'oxydation de couleur rouille sont clairement visibles à la surface des éprouvettes immergées dans la monoculture de *D. halophilus* (BSR), ces traces sont réparties plus uniformément qu'en absence de protection cathodique. Aucune teinte noirâtre n'est observée, même après 30 jours d'immersion.

Dans le cas de la monoculture de *D. peptidovorans* (BTR), un dépôt épais et fragile composé d'oxydes métalliques de couleur rouille et de dépôt calcomagnésien recouvre l'ensemble des éprouvettes. Après 30 jours d'immersion de larges zones sombres sont également visibles.

Dans le cas des essais sous protection cathodique à -1000 mV/ECS, le dépôt calcomagnésien semble plus épais lors des essais avec *D. peptidovorans*. L'aspect de ce dépôt est homogène quel que soit le milieu de culture.

Observations des surfaces en Microscopie Electronique à Balayage et analyses EDS pour les essais en culture pure de Desulfovibrio halophilus

Sans protection cathodique

L'observation générale de la surface du coupon, en absence de protection cathodique, montre la présence d'une corrosion localisée et d'une couche d'oxyde relativement large (figure 11). L'observation en mode secondaire de cette surface met clairement en évidence la présence de bactéries enchevêtrées dans leur matrice extracellulaire (figure 12). Rappelons qu'avec les électrons rétrodiffusés, plus l'élément est lourd, plus l'image est claire car le nombre d'électrons rétrodiffusés est plus important.

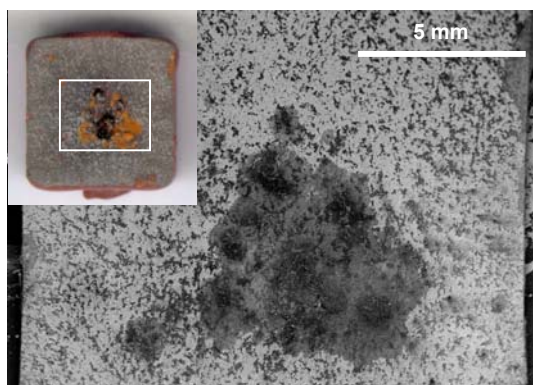


Figure 11 : vue générale en mode rétrodiffusé, oxyde/dépôt en place. Sans Protection 15 jours d'immersion. Essais en culture pure

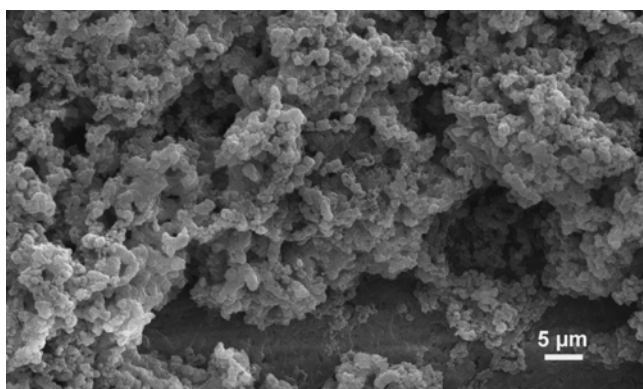


Figure 12 : vue en mode secondaire, oxyde/dépôt en place. Présence de bactéries. Sans protection 15 jours d'immersion. Essais en culture pure

Après décollement de la couche d'oxyde et du biofilm, une coupe micrographique (au niveau d'une attaque localisée) de l'échantillon permet de mettre en évidence la dégradation de l'acier sous le dépôt, que l'on peut comparer avec l'absence de corrosion dans les zones non concernées par le phénomène d'attaque localisée.

Les analyses EDS réalisées au niveau de la zone corrodée et sur une zone non corrodée (figure 13) mettent en évidence l'association d'espèces soufrées avec la forme de corrosion localisée observée. La faible amplitude du pic d'oxygène semble indiquer la présence d'une forme réduite du soufre.

La zone intacte en dehors de la piqûre montre logiquement un pic de fer majoritaire, le soufre étant alors présent sous forme de traces.

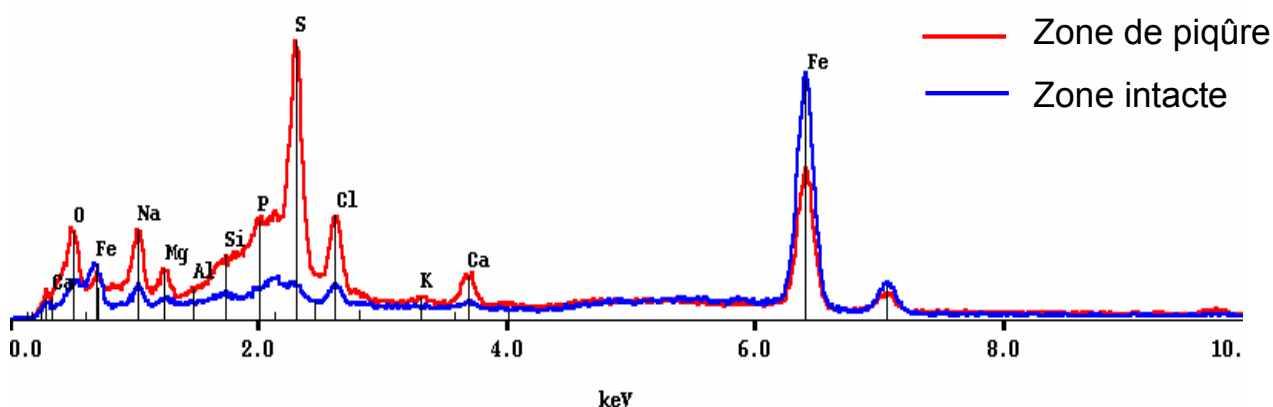


Figure 13 : spectres d'analyse EDS sur et à proximité d'une piqûre.
Essai sans protection cathodique en présence de *Desulfovibrio halophilus*, après 15 jours d'immersion.

Avec protection cathodique à -900 mV/ECS

L'observation générale de la surface du coupon, sous protection cathodique à -900 mV/ECS, montre la présence d'un dépôt discontinu dispersé de manière homogène à la surface du matériau (figure 14).

L'observation en mode secondaire de cette surface met également en évidence la présence de bactéries enchevêtrées dans leur matrice extracellulaire (figure 15).

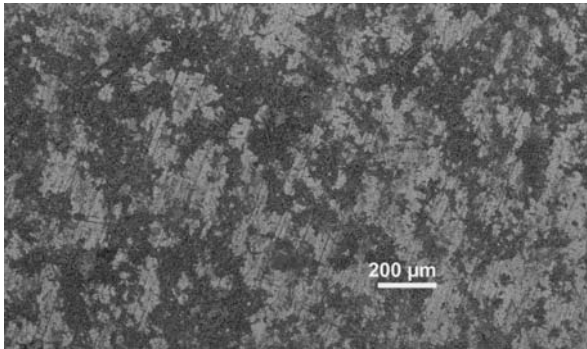


Figure 14 : vue générale en mode rétrodiffusé, oxyde/dépôt en place. Essais en culture pure 7 jours d'immersion. Potentiel : -900mV/ECS

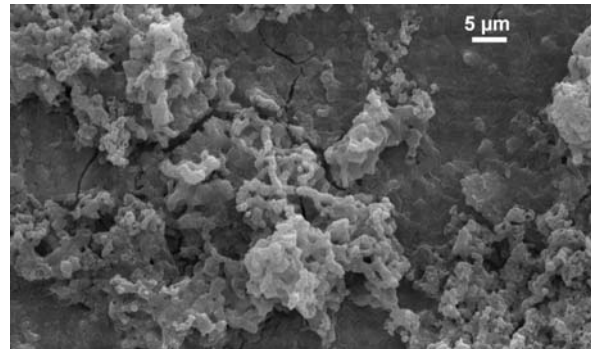


Figure 15 : aspect de l'oxyde/dépôt en place, en mode secondaire. Essais en culture pure 7 jours d'immersion. Potentiel : -900mV/ECS

Avec protection cathodique à -1000 mV/ECS

L'observation générale de la surface du coupon, sous protection cathodique à -1000 mV/ECS, ne montre pas de traces de corrosion localisée (figure 16).

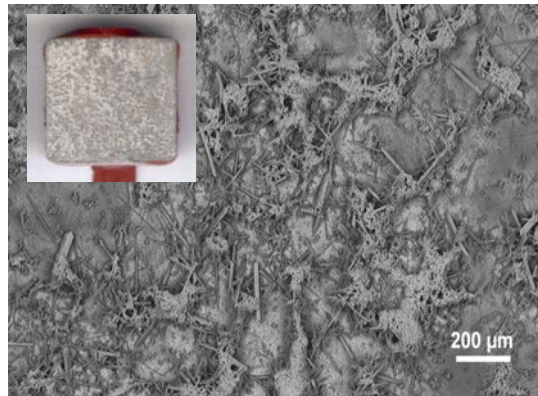


Figure 16: vue générale en mode rétrodiffusé, dépôt en place. 15 jours d'immersion. Essais en culture pure
Protection : -1000mV/ECS

L'analyse EDS (figure 17) indique la présence majoritaire de chlore, de sodium (NaCl de l'eau de mer), et à un degré moindre de magnésium et de calcium. Malgré la présence de bactéries, aucun pic de soufre n'est observé.

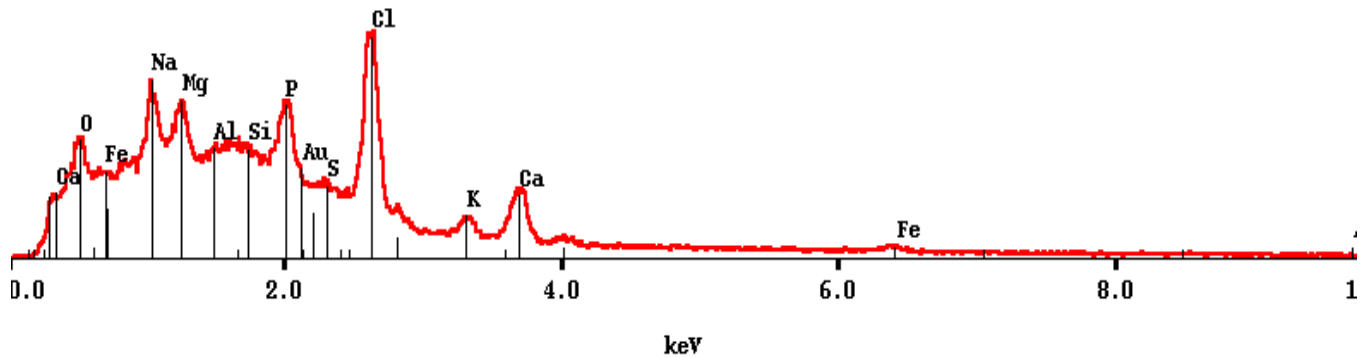


Figure 17 : spectres d'analyse EDS de la surface d'un coupon. Essai avec protection cathodique à -1000mVECS , en présence de *Desulfovibrio halophilus*, après 15 jours d'immersion

Les résultats obtenus lors des essais en monocultures de *Dethiosulfovibrio peptidovorans* amènent aux mêmes conclusions et ne sont pas présentées dans ce rapport.

Les résultats obtenus en milieux de cultures pures sont comparables à ceux obtenus lors des essais en eau de mer contaminée, à savoir : sans protection cathodique la présence de bactéries, ainsi que la présence de corrosion localisée sont observées, la présence de l'élément S est constatée.

Par contre, sous protection cathodique, bien que les bactéries soient présentes aucune corrosion localisée n'est observée, de plus les analyses EDS ne mettent pas en évidence la présence de l'élément S.

3-4 Conclusion

Les essais mis en œuvre devaient répondre à deux questions :

- L'accélération de la cinétique de colonisation de la flore sulfurogène sur un matériau protégé cathodiquement est-elle confirmée dans nos conditions expérimentales : en eau de mer naturelle et en culture pure ?
- La présence d'une quantité importante de bactéries sulfurogènes à l'interface dépôt calco-magnésien-matériau protégé cathodiquement conduit elle à rendre l'environnement plus agressif pour le matériau qu'en absence de protection cathodique ?

Les résultats obtenus ont permis de répondre que :

- **La colonisation par la flore sulfurogène d'un coupon immergé en eau de mer sans protection cathodique est globalement deux fois moins rapide que sur un échantillon protégé cathodiquement mais atteint *in fine* (~ 1 mois) des valeurs semblables.**
- **La protection cathodique limiterait le pouvoir corrosif de la flore sulfurogène marine anaérobie.**

Des essais faisant appel à la technique XPS sont en cours d'investigation pour étudier l'interface matériau-dépôt calco-magnésien en milieu biologiquement actif. Ainsi la quantification et la répartition, des éléments majeurs (Fe, Ca, Mg, S) intervenant lors de l'initiation de la formation du dépôt calcomagnésien, pourra être établie. Il sera aussi intéressant de suivre l'évolution éventuelle des liaisons du S formant H₂S ou FeS [91, 92].

La microbiologie a joué un rôle primordial dans l'obtention de ces résultats. En effet, le microbiologiste a su recréer d'une part avec des flores naturelles, d'autre part avec des cultures pures, les conditions propices pour étudier le problème posé et répondre aux interrogations soulevées. L'étude des phénomènes de biocorrosion ne peut se cantonner à utiliser des milieux artificiels parfaitement contrôlés chimiquement et dont les évolutions sont prévisibles et connues. Toutefois, dans la mesure du possible, il est nécessaire que le microbiologiste compare des résultats obtenus dans des solutions où seul un paramètre est modifié et non plusieurs (souches bactériennes et éléments nutritifs par exemple).

Dans ce contexte, la microbiologie est une composante complexe et essentielle, dont les corrosionnistes ne peuvent plus s'affranchir. Le microbiologiste doit travailler aux côtés du corrosionniste pour établir les meilleures conditions expérimentales, les plus réalistes possibles, en tenant compte des exigences scientifiques imposées par la corrosion et ce en harmonisant didactiquement dialogues et connaissances.

3-5 Synthèse

Des auteurs ont montré que la protection cathodique pouvait accélérer le développement de la flore sulfurogène. L'exemple choisi, pour illustrer le rôle du microbiologiste dans l'étude des phénomènes de biocorrosion, a pour objectif de répondre à deux questions d'importance :

- l'accélération de la cinétique de colonisation de la flore sulfurogène sur un matériau protégé cathodiquement est-elle confirmée dans nos conditions expérimentales ?
- la présence d'une quantité importante de bactéries sulfurogènes à l'interface dépôt calco-magnésien-matériau protégé cathodiquement est-elle plus agressive pour le matériau qu'en absence de protection cathodique ?

Deux approches ont été retenues : des essais en eau de mer naturelle et des essais en culture pure.

Des données sur la protection cathodique des matériaux métalliques en eau de mer, sur la formation du dépôt calco-magnésien et enfin sur l'eau de mer ont été fournies. L'importance de travailler en eau de mer naturelle a été rappelée. Les essais ont été réalisés avec des éprouvettes en acier au carbone prélevées directement au sein d'une palplanche portuaire. Les potentiels d'essais ont été choisis à partir des informations de la norme AFNOR NF A 05-655 : -900 et -1000 mV/ECS. Le milieu retenu est de l'eau de mer naturelle stérile ou contaminée (la croissance de la flore sulfurogène est favorisée). Les essais en culture pure ont été menés avec une BSR dans le milieu de Sarkey, et une BTR dans le milieu de Magot.

Ces milieux de culture sont préparés avec de l'eau de mer naturelle stérile. La durée totale des essais est de deux mois. Les résultats des analyses microbiologiques et métallographiques ont montré que :

- La colonisation par la flore sulfurogène d'un coupon immergé en eau de mer sans protection cathodique est globalement deux fois moins rapide que sur un échantillon protégé cathodiquement mais atteint *in fine* (~ 1 mois) des valeurs semblables.
- La protection cathodique limiterait le pouvoir corrosif de la flore sulfurogène marine anaérobie.

PERSPECTIVES

PERSPECTIVES

Les bactéries sulfurogènes, c'est-à-dire étymologiquement les bactéries qui produisent des sulfures, et plus particulièrement les Bactéries Sulfato et Thiosulfato Réductrices (BSR et BTR) sont considérées à ce jour comme les plus agressives vis-à-vis des matériaux métalliques.

De nombreuses inconnues demeurent quant au déclenchement du phénomène de biocorrosion. La seule chose, qui soit à ce jour scientifiquement étayée, est que la présence de bactéries sulfurogènes est potentiellement dangereuse pour le matériau métallique.

Le mécanisme de biocorrosion a été étudié : les bactéries sulfurogènes ne provoquent pas la corrosion mais créent les conditions propices à son établissement par la modification des conditions physico-chimiques à l'interface milieu-matériau (production de quantité importante de sulfures, modification du pH, création de pile d'aération différentielle, ...). Les recherches continuent dans la compréhension des mécanismes mis en jeu. La voie enzymatique apparaît, aujourd'hui, comme l'une des plus prometteuses.

De nombreuses études ont tenté de corréler les résultats de dénombrements de la flore sessile sulfurogène (essentiellement les BSR) à partir des structures métalliques immergées en eau de mer naturelle et les dégradations observées sur les installations portuaires. Aucune corrélation n'a pu être clairement mise en évidence : il n'existe pas de relations significatives entre la concentration de micro-organismes sulfurogènes planctoniques et/ou sessiles et la corrosion localisée parfois perforante constatée sur les infrastructures.

Cette réalité scientifique amène à supposer, sans remettre en cause le rôle fondamental des bactéries sulfurogènes dans le processus de corrosion microbienne, que la spécificité métabolique bactérienne est à l'origine du phénomène. Ce ne serait pas, comme le suggère Gubner [93], une famille bactérienne préférentielle (comme simplement les BSR et BTR) qui provoquerait la corrosion microbienne, mais un consortium bactérien complexe dans lequel plusieurs métabolismes énergétiques et carbonés concourraient de façon compétitive, mais aussi, et surtout synergique. En effet, certaines bactéries comme celles susceptibles de produire des acides sembleraient jouer un rôle important dans le mécanisme originel du processus. Citons, par exemple, les Bactéries Sulfo Oxydantes (BSO) qui en milieu acide utilise les sulfures comme accepteur terminal d'électrons pour produire du sulfate après plusieurs réactions d'oxydo-réduction indispensables au métabolisme énergétique. Le sulfate produit en présence d'ions H^+ génère de l'acide sulfurique.

La production d'acides engendre une source potentielle de donneurs d'électrons pour la flore sessile mais aussi des substrats indispensables au métabolisme d'assimilation bactérien. Précisons que les besoins métaboliques des BSO sont étroitement liés à l'activité des bactéries sulfurogènes, en effet, ces bactéries, après avoir réduit le sulfate et/ou le thiosulfate, rejettent dans le milieu des ions sulfures, accepteur terminal d'électrons des BSO.

Toutefois, quelles que soient les hypothèses bactériennes émises à ce jour pour expliciter les phénomènes de corrosion microbienne, la flore sulfurogène, celle qui de part son métabolisme énergétique produit des sulfures à l'interface matériau-environnement, apparaît comme la flore la plus agressive pour les matériaux métalliques immergés en eau de mer naturelle. Et cela, même s'il est clairement établi qu'un consortium bactérien complexe est indispensable à l'initiation du phénomène de corrosion microbienne.

L'une des voies que nous étudions est l'identification et la caractérisation de nouvelles bactéries sulfurogènes marines sauvages.

Pour ce faire, nous avons réalisé des analyses microbiologiques sur la flore bactérienne viable et cultivable (sur le milieu de culture spécifique) isolée des biofilms formés en eau de mer naturelle sur des échantillons de matériaux métalliques immergés dans le Port de Chantereyne (Cherbourg, France).

Nous avons utilisé les critères de sélection (décrits dans la littérature) pour l'isolement de bactéries thiosulfato-réductrices viables et cultivables en anaérobiose :

- isolement sur milieu de culture spécifique pour la réduction du thiosulfate,
- la détection de production d'ions sulfures par les bactéries en présence de chlorure de Fer (II).

Rappelons qu'il existe deux sortes de flore dans le monde microbien, d'une part, **la flore viable et cultivable**, c'est-à-dire une flore que les microbiologistes savent mettre en évidence et cultiver en utilisant des milieux de cultures et des conditions physico-chimiques spécifiques. D'autre part, **la flore viable non cultivable** est une flore particulière dont l'existence n'est pas révélée par les techniques de microbiologie « classiques » (utilisation de milieux cultures spécifiques de croissances, conditions physico-chimiques ciblées, caractérisation métabolique...), seules les techniques de biologie moléculaire permettent de mettre en évidence la présence de cette flore, de la caractériser génétiquement, mais aucune technique ne permet actuellement de la cultiver.

Par ces critères, nous avons sélectionné 13 souches bactériennes viables et cultivables de la flore sulfurogène à partir de biofilm formé en eau de mer naturelle sur une surface métallique (acier au carbone, acier inoxydable).

Nous avons pu isoler sur le milieu de culture décrit par Pfennig et modifié par Magot des souches de la flore sulfurogène appartenant à des genres et des familles de bactéries phylogénétiquement éloignés des genres bactériens décrits dans la littérature comme impliqués ou associés aux phénomènes de biodégradation des matériaux métalliques.

Nous avons ainsi isolé des bactéries caractérisées comme proches de membres appartenant à la famille des *Entérobacteriaceae*.

Ainsi l'isolement de bactéries viables et cultivables basé sur les critères de sélection suivants :

- croissance sur un milieu de culture spécifique du métabolisme de la flore sulfato/thiosulfato-réductrice (milieu décrit par Pfennig et modifié par Magot),
- détection de la production d'ions sulfures par le test au chlorure de Fer (II).

permet, en théorie, la sélection de bactéries sulfato/thiosulfato-réductrices. Mais aussi, comme le met en évidence nos essais, de nombreuses autres souches bactériennes capables de produire des ions sulfures comme les membres du groupe *Vibrio* ou certains membres de la famille des *Enterobactériaceae*.

Ces bactéries productrices d'ions sulfures pourraient jouer un rôle dans la biodégradation des matériaux métalliques au même titre que les bactéries de la flore sulfato/thiosulfato-réductrice.

Des investigations supplémentaires quant à leur implication dans la biocorrosion sont nécessaires et en cours de réalisation, ces nouvelles données permettraient de comprendre pourquoi jusqu'alors aucune corrélation n'a pu être clairement établie entre les résultats de quantification de la flore sulfurogène et les dégâts engendrés. En effet, les études relatées dans la littérature ne cherchent à quantifier que les BSR et BTR, or **notre travail montre que les Enterobactéries pourraient, également, jouer un rôle déterminant dans ces phénomènes**. De plus, les Bactéries Sulfo-Oxydantes (BSO) qui ont un métabolisme énergétique complémentaire à celui des BSR pourraient également jouer un rôle important dans les phénomènes de biocorrosion en favorisant la prolifération des bactéries sulfato-réductrices.

Les travaux d'Iwona Beech et de son équipe montrent qu'un consortium bactérien complexe qui ne se limiterait pas aux seules bactéries sulfurogènes, pourrait être à l'origine du déclenchement de la dégradation [93].

Nous avons entrepris, au travers des travaux de thèse de Samuel PINEAU (« Caractérisation des consortiums bactériens du biofilm marin et de son pouvoir corrosif sur les infrastructures métalliques »), une caractérisation par microbiologie classique et biologie moléculaire de la flore sessile sur des surfaces métalliques immergées en des lieux portuaires considérés comme corrosifs et non corrosifs. Les résultats devraient permettre de mettre en évidence des différences microbiologiques significatives entre les sites de prélèvements, ceux où le matériau se corrode et ceux où le matériau ne se corrode pas.

En fait, ce travail s'inscrit dans la continuité de celui de l'équipe d'Iwona Beech sur une meilleure connaissance microbiologique du déclenchement du phénomène de corrosion microbienne.

Connaître le ou les *consortia* bactérien en eau de mer naturelle « starter » de la corrosion microbienne est essentiel, mais il semble également primordial, en l'état actuel des connaissances, de s'intéresser au rôle joué par les enzymes dans le processus et plus particulièrement comme celui des hydrogénases.

En effet, des travaux de Costerton [94] ont montré que seules les souches à hydrogénase semblaient corrosives. Chez les BSR, cette enzyme peut être contenue dans le cytoplasme ou dans le périplasme. On distingue trois types d'hydrogénase dont une périplasmique et deux cytoplasmiques [26]. Leur synthèse requiert du fer, généralement sous forme d'ions ferreux. Ainsi, l'hydrogénase périplasmique ne serait synthétisée que pour des concentrations en ions ferreux comprises entre 5 et 100 ppm [95].

Selon ces auteurs, une souche initialement non corrosive se développant sur du lactate, utilisé comme donneur d'électrons dans le métabolisme énergétique et source de matière organique dans le métabolisme d'assimilation, peut devenir corrosive dès lors que tout le lactate est consommé.

Il est également important de souligner qu'au sein du biofilm, donc à proximité du métal, les BSR ont une activité hydrogénasique plus élevée qu'en suspension [54].

Les biofilms de BSR se développent d'ailleurs généralement mieux sur les aciers doux que sur les aciers inoxydables. La corrosion des aciers doux produit en effet, à l'interface matériau-environnement, d'une part, les ions ferreux indispensables à la synthèse des hydrogénases, et d'autre part, l'hydrogène devenant alors une source d'énergie possible [26]. Il a, d'ailleurs, clairement été démontré que les BSR étaient susceptibles d'utiliser l'hydrogène cathodique généré, soit lors de l'application de la protection cathodique [96], soit par un acier se corrodant en conditions anaérobies [84, 97, 98].

Par conséquent, la protection cathodique peut représenter une source importante d'hydrogène mais limite la formation d'ions ferreux selon l'efficacité du potentiel imposé. Si on se réfère aux travaux réalisés sur l'activation de l'hydrogénase des BSR, en absence d'ions ferreux celle-ci ne peut être effective. Dans ce cas de figure, les BSR présenteraient une action corrosive moindre. Ce phénomène pourrait expliquer qu'aucune trace de corrosion localisée corrélée à un « pic » d'élément soufré réduit ne soit observée (indice de biocorrosion), malgré la présence d'un biofilm de flore sulfurogène en concentration égale, voire supérieure aux essais réalisés sans protection cathodique, dans les travaux présentés dans ce mémoire.

Les analyses EDS effectuées lors des essais en eau de mer naturelle ou en culture pure démontrent le même phénomène [83], les auteurs ont également observé que l'activité des bactéries aérobies et anaérobies, incluant les BSR, est plus importante sur des coupons sans protection cathodique. Ils observent en effet des sulfures (empreintes métaboliques de l'activité de la flore sulfurogène) uniquement sur les surfaces non protégée cathodiquement. Il est possible, à ce jour, de faire un parallèle avec l'importance prouvée de l'activité enzymatique bactérienne sur les aciers inoxydables [14, 99, 100]. Bien qu'il y ait une certaine controverse à ce sujet, il est en effet possible **que l'activité enzymatique soit le véritable moteur de la biocorrosion**. Des essais utilisant des hydrogénases permettraient d'éclaircir cette hypothèse pour une meilleure compréhension de la biocorrosion des aciers au carbone, c'est ce que nous envisageons de tester dans un avenir proche.

Des essais faisant appel à la technique XPS sont en cours d'investigation pour étudier l'interface matériau-dépôt calco-magnésien en milieu biologiquement actif. Ainsi la quantification et la répartition, des éléments majeurs (Fe, Ca, Mg, S) intervenant lors de l'initiation de la formation du dépôt calcomagnésien, pourra être établie.

Il sera aussi intéressant de suivre l'évolution éventuelle des liaisons du S formant H₂S ou FeS. Toutefois lors des essais déjà entrepris, les analyses XPS ont été réalisées *ex-situ*, ce qui a modifié la chimie de surface du matériau. Nous envisageons dans l'avenir d'effectuer ces essais avec un sas communicatif entre le bioréacteur et l'XPS afin de palier à ce problème.

Dans ce travail, les principaux mécanismes et caractéristiques de la corrosion microbienne ont été rappelés, il est intéressant de s'interroger sur l'hypothétique existence de phénomènes de biocorrosion sur des implants orthopédiques. En effet, la littérature ne relate, à notre connaissance, peu voire pas de cas de corrosion sur implants induit par des micro-organismes.

Féron [13] a précisé que la corrosion microbienne était une conjonction défavorable entre trois facteurs : un matériau, des micro-organismes et un milieu. Retrouve-t-on ceux ci en chirurgie orthopédique?

En ce qui concerne les matériaux, toutes sortes de métaux sont implantés dans le corps humain :

- des métaux purs : précieux (Au, Ag, Pt.....) ou non précieux (Ti, Ta, W, Nb....)
- des alliages métalliques : base titane (Ti-A16-V4, Ti-Al5-Fe2.5, ...); chrome cobalt (avec ou sans W, Mo, Ni, ...), aciers inoxydables (316L, ...) [101].

Les matériaux métalliques sont donc largement utilisés en chirurgie orthopédique. Existe-t-il des possibilités pour qu'un implant mis en place soit recouvert d'un biofilm microbien ? Malheureusement, la réponse à cette question est affirmative ; il s'agit de citer ici la réalité des infections nosocomiales mais aussi des infections sur implants relatées fréquemment dans la littérature [102, 103, 104].

En France, selon les différentes études menées, environ 5 à 10% des malades hospitalisés acquièrent une maladie nosocomiale (CTNIC, 1999). Ainsi chaque année 600 000 à 1 000 000 de patients admis en court séjour, développent une de ces infections et environ 10 000 décèdent. Ces infections sont classées selon leur délai d'apparition après l'hospitalisation, on distingue ainsi les infections précoces des infections tardives.

Les germes en cause sont en effet très différents, avec pour les infections précoces, une flore de type communautaire : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline, *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus species* pour les micro-organismes à Gram positif, *Haemophilus influenzae* et des entérobactéries avec des phénotypes de résistance dits "sauvages" comme c'est souvent le cas pour *Escherichia Coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Au cours des infections tardives, une flore "hospitalière" nosocomiale souvent multi-résistante est plutôt isolée : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, *Enterobacter species*, entérobactéries résistantes, et *Candida species* [105].

Ces quelques lignes suffisent à démontrer qu'un implant orthopédique peut être en contact *in situ* avec des micro-organismes susceptibles, comme nous l'avons déjà précisé, de modifier de façon très significative la physico-chimie à l'interface implant-milieu environnant.

L'étude de la corrosion induite par les micro-organismes est un domaine scientifique relativement jeune, une trentaine d'années. Les progrès dans la compréhension des mécanismes sont relativement lents. Cependant l'étude de la biocorrosion des métaux et plus particulièrement des alliages inoxydables en eau de mer est relativement bien avancée. L'un des mécanismes mis en évidence en 1996 et reconnu depuis met en jeu une action enzymatique bactérienne (figure 18) [3] à l'origine de corrosions localisées sévères. Ce mécanisme en particulier et les autres, à savoir création de piles d'aération différentielle, de piles chimiques, d'acidification est-il transposable dans un autre milieu que l'eau de mer ? La comparaison des compositions physico-chimiques de l'eau de mer et du plasma humain présentée dans le tableau I, nous donne en partie la réponse, puisque que ces deux milieux présentent de nombreuses similitudes.

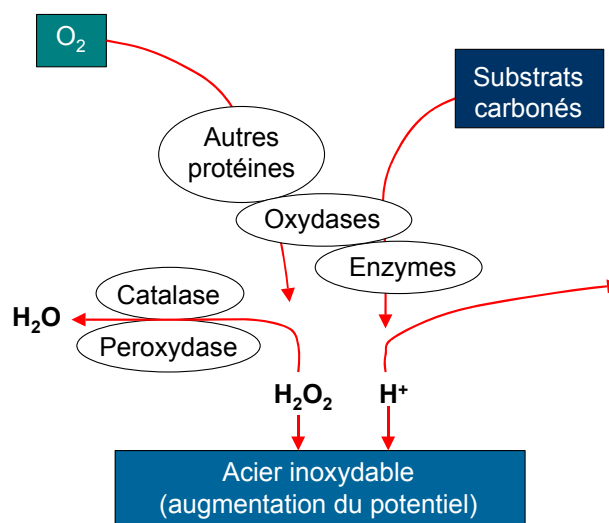


Figure 18 : modèle enzymatique [3]

Composition de l'eau de mer

Éléments	Concentration (mg.kg ⁻¹)
Chlorure (Cl ⁻)	19 353
Sulfate (SO ₄ ²⁻)	2 712
Bicarbonate (HCO ₃ ⁻)	142
Bromure (Br ⁻)	67
Fluorure (F ⁻)	1
Bore	4
(H ₃ BO ₃)	23
Sodium (Na ⁺)	10 160
Magnésium (Mg ²⁺)	1 249
Calcium (Ca ²⁺)	413
Potassium (K ⁺)	387
Strontium (Sr ²⁺)	8
Acides organiques (5-50µg.l ⁻¹)	Acide acétique Acide formique Acide glycolique Acide glyoxalique Acide pyruvique Acide oxalique
Acides aromatiques (< 1 µg.l ⁻¹)	Acide ferrulique Acide gallique Acide salicyclique Acide syringique Acide vanillique Acide p-hydroxybenzoïque
Acides aminés (50-200 µg.l ⁻¹)	Glycine Sérine Valine Acide aspartique Acide glutamique Histamine Ornithine Arginine Alanine
Acides gras (1-20 µg.l ⁻¹)	Acide palmitique Acide stéarique
Oses (0,25-0,75 mg.l ⁻¹)	Glucose Galactose Mannose Xylose Arabinose Ribose Fucose Rhamnose
Polysaccharides (2,5-25 mg.l ⁻¹)	

Composition du plasma sanguin

Concentrations ioniques chez un sujet normal			
Cations	mEq./l	Anions	mEq./l
Na ⁺	142	HCO ₃ ⁻	27
K ⁺	5	Cl ⁻	103
Ca ²⁺	5	HPO ₄ ²⁻	2
Mg ²⁺	3	SO ₄ ²⁻	1
		Acides organiques	6
		Protéines	16
TOTAL	155	TOTAL	155

Principales protéines	
Dénomination	Concentration en g/l
Albumine	40 à 45
α ₁ -globuline	2 à 4
α ₂ -globuline	4,5 à 7
β-globuline	7 à 13
λ-globuline	10 à 16
Fibrinogène	2 à 4
Protéines totales	60 à 75

Constituants organiques non protéiques	
Dénomination	Poids en mg/l

Substances azotées

Urée	300 (± 100)
Acides aminés libres	500 env.
Acide urique	45
Créatine-créatinine	30
Bilirubine	5
Ammoniaque (enNH ₃)	1 à 2

Substances non azotées

Glucose	1 000
Lipides	4 000 à 6 000
Cholestérol	1 500 à 2 300
Phospholipides	1 500
Acide lactique	100

Tableau I : composition physico-chimique de l'eau de mer et du plasma humain

L'ensemble de ces observations tend à démontrer que la corrosion microbienne des implants orthopédiques est sans aucun doute une réalité. Les travaux déjà réalisés dans d'autres milieux aqueux, et plus particulièrement en eau de mer, sont très probablement une piste de travail pour de nombreuses expériences. La multidisciplinarité qui existe de façon évidente dans l'étude de la biocorrosion des métaux utilisés en milieu industriel est encore plus flagrante dans le domaine des implants orthopédiques puisque les connaissances ne pourront évoluer significativement qu'avec le concours des scientifiques travaillant déjà dans le domaine du vivant et des matériaux, mais surtout avec celui des chirurgiens orthopédistes. Certains auteurs ont d'ailleurs, déjà, ouvert cette voie qui mérite d'être approfondie [106, 107].

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J. Chantereau, *Corrosion bactérienne*, in Bactéries de la corrosion, ed Lavoisier, Paris, 1980
- [2] P. F. Sanders, S. Maxwell, *Microfouling, macrofouling and corrosion of metal test specimens in seawater*, ed The Metals Society, London, 1983
- [3] I. Dupont, *Influence des bactéries et de leur activité sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle*, Thèse, Université de Caen, 1996
- [4] I. Beech, S. A. Campbell, J. Walsch, *Cases studies of marine microbial corrosion. A practical manual on Microbially Influenced Corrosion*, ed NACE, Houston, 1994
- [5] J. L. Crolet, *La corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière*, in Biodétérioration des Matériaux, ed EDP Sciences, Paris, 1998
- [6] K. C. Marshall, *Microbial adhesion and aggregation*, ed Springer Verga, Berlin, 1984
- [7] I. W. Sutherland, *Microbial exopolysaccharides – their role in microbial adhesion in aqueous systems*, Rev. Microbiol,10(1984)173-201.
- [8] L. Duvivier, P. Dejonckheere, R. Vanmaele, *Développement de Spaerotilans natans dans le circuit de réfrigération auxiliaire d'une centrale électrique - Examen de cas. Moyens de lutte mis en œuvre*, in Biodétérioration des Matériaux, ed EDP Sciences, Paris, 1998
- [9] D. Noël, *Études des cas de corrosion bactérienne dans les industries nucléaires*, in Biodétérioration des Matériaux, ed EDP Sciences, Paris, 1998
- [10] S. Daumas, *Corrosion bactérienne en géothermie basse température : mécanisme de corrosion par les bactéries sulfato-réductrices*, Thèse, Université de Provence Aix-Marseille I, 1986
- [11] I. Ignatiadis, *Analyse et conséquence de la prolifération bactérienne sur les tubages et dans les réservoirs des doublets géothermiques du bassin de Paris*, in Biodétérioration des Matériaux, ed EDP Sciences, Paris, 1998
- [12] A. H. Chamberlain, *Microbial Corrosion*, in Proceedings of the 3rd International EFC Workshop n° 15, ed The Institute of Materials, London, 1990
- [13] D. Féron, C. Compère, I. Dupont, M. Magot, *Biodétérioration des matériaux métalliques ou biocorrosion*, in Corrosion des métaux et alliages, ed Lavoisier-Hermès Sciences, Paris, 2002, 385-405
- [14] V. L'Hostis, *Rôle enzymatique d'un biofilm sur la corrosion d'aciers inoxydables immergés en eau de mer naturelle*, Thèse, Université de Paris 6, 2002
- [15] I. B. Ulanovskii, A. V. Ledenev, *Influence of sulfate-reducing bacteria on cathodic protection of stainless steels*, ed Plenum Press, London, 1981
- [16] S. C. Dexter, S. H. Lin, *Effect of marine bacteria on calcareous deposition*, Mat. Perf, 30(1991) 18-21
- [17] P. Watkins, C. W. S. Cheung, F. C. Walsh, I. Beech, *The influence of cathodic protection on the attachment of sulphate reducing bacteria to carbon steel surfaces*, Corrosão protecção de materiais,15(1996)25-31.
- [18] V. Pritula, G. M. K. Sapozhnikova, M. I. Mogilnitskii, M. I. Ageeva, S. S. Kamaeva, *Protection potential of St-3 in liquid cultures of soil microorganisms*, Metallov, 23(1987)133-143

- [19] C. L. Batt, M. J. Robinson, *Optimising cathodic protection requirements to high strength steels under marine biofilms*, Corrosion Management, (1999)13-19.
- [20] H. A. Videla, S. G. G. Desaravia, M. F. L. De MeLe, *Early stages of bacterial biofilm and cathodic protection interactions*, Marine Environments. Corros, 5(1993)3687-3695.
- [21] R. G. J. Edyvean, A. D. Maines, C. J. Hutchinson, J. Silk, L. V. Evans, *Interactions between cathodic protection and bacterial settlement on steel in seawater*, International biodeterioration & biodegradation, 29(1992)251-271.
- [22] J. Guezennec, N. J. E. Dowling, J. Bullen, D. C. White, *Relationship between bacterial colonization and cathodic current density associated with mild steel surfaces*, Biofouling, 8(1994) 133-146.
- [23] K. Kasahara, K. Okamura, F. Kajiyama, *Laboratory evaluation of the effectiveness of cathodic protection in the presence of sulfate reducing bacteria*, Microbial Corrosion, 15(1995)367-374.
- [24] S. Pineau, I. Dupont, *Influence de la protection cathodique sur la colonisation de la flore sulfurogène en milieu marin*, Matériaux et Techniques, 10(2002)23-29.
- [25] M. F. Libert, *Biodétérioration de matériaux utilisés pour l'enrobage de déchets nucléaires : un exemple le bitume*, Bulletin de la Société Française de Microbiologie, 14 (1999)267-271
- [26] X. Campagnolle, *Étude des facteurs de risque de la corrosion bactérienne des aciers au carbone induite par les bactéries anaérobies sulfurogène*, Thèse, Institut Polytechnique de Toulouse, 1996
- [27] N. Monfort-Moros, *Corrosion localisée des aciers au carbone induite par des bactéries sulfato-réductrices. Développement d'un capteur spécifique*, Thèse, Université Paris 6, 2001
- [28] V. Ferrante, *Rôle des micro-organismes et de la teneur en chrome dans la corrosion d'acier fer-chrome en présence de bactéries sulfato-réductrices*, Thèse, Université de Technologie de Compiègne, 1991
- [29] H. F. Castro, N. H. Williams, A. Ogram, *Phylogeny of sulphate-reducing bacteria*, FEMS Microbiol. Ecol, 31(2000) 1-9
- [30] G. Fauque, B. Ollivier, *Anaerobes : the sulphate-reducing bacteria as an example of metabolic diversity*, in Microbial Diversity and Bioprospecting, ed ASM Press, Washington, 2004, 169-176
- [31] J. Legall, A. V. Xavier, *Anaerobes response to oxygen : the sulfate-reducing bacteria*, Anaerobes, 2(1996)1-9
- [32] H. Cypionka, *Oxygen respiration by Desulfovibrio species*, Ann. Rev. Microbiol, 54(2000)827-848
- [33] J. A. Hardy, J. L. Bown, *The corrosion of mild steel by biogenic sulfide films exposed to air*, Corrosion Nace, 40(1984)650-654.
- [34] W. A. Hamilton, *Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion*, Ann. Rev. Microbiol, 39 (1985)195-217.
- [35] N. Benbouzid-Rollet, *Influence des bactéries sulfato-réductrices sur la corrosion d'acier en milieu marin : étude en laboratoire et en milieu naturel*, Thèse, Université de Bretagne Occidentale, 1993
- [36] F. Widdel F, *Microbiology and ecology of sulfate and sulfure-reducing bacteria* in Biology of anaerobic microorganisms, ed J. Wiley & Sons, London, 10(1988)469-585

- [37] A. Le Faou, B. S. Rajagopal, L. Daniels, G. Fauque, *Thiosulfate, polythionates and elemental sulfur assimilation and reduction in the bacterial world*, FEMS Microbiol. Rev, 75(1990)351-382
- [38] M. Pourbaix, *Atlas d'équilibres électrochimiques*, ed Gauthier-Villars, Paris, 1963
- [39] G. Philiponneau, *Influences de divers facteurs : dépôt calcomagnésien, présence de sulfures H₂S ou HS⁻, teneur en cuivre, sur le comportement électrochimique et mécanique d'aciers faiblement alliés, polarisés ou non en milieu type marin*, Thèse, Ecole Centrale Paris, 1982
- [40] J. F. Heidelberg, *The genome of the anaerobic sulfate reducing bacterium Desulfovibrio vulgaris Hildenborough*, Nature Biotechnology, 22(2004)554-559
- [41] Z. Lewandoski, W. Lee, W. Characklis, *pH at polarized metal surfaces : theory, measurement and implication for MIC*, in Microbially Influenced Corrosion and Biodeterioration, ed Mittelman, Houston, 1990
- [42] H.L. Drake, J. M. Akagi, *Dissimilatory reduction of bisulfite by Desulfovibrio vulgaris*, J.Bacteriol, 136 (1978)916-923
- [43] F. Widdel, N. Pfennig, *Studies of dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. II. Icomplete oxidation of propionate by Desulfobulbus propionicus gen. nov.*, Arch. Microbiol, 129(1982)395-400.
- [44] F. Widdel, T. A. Hansen, *The dissimilatory sulfate and sulfure-reducing bacteria*, in The Procaryotes, ed Springer-Verlag, New York, 1992 584-624
- [45] F. Widdel, N. Pfennig, *Dissimilatory sulfate or sulfur-reducing bacteria*, in Bergey's manual of systematic bacteriology, ed Williams & Wilkins, Baltimore, 1984 663-679
- [46] K. Brysch, C. Schneider, G. Fuchs, F. Widdel, *Lithoautotrophic growth of sulfate-reducing bacteria and description of Desulfobacterium autotrophicum gen. nov.*, Arch. Microbiol, 148(1987) 264-274
- [47] F. Widdel, N. Pfennig, *A new anaerobic, sporing, acetate-oxidizing, sulfate-reducing bacterium, Desulfotomaculum acetoxidans*, Arch. Microbiol, 112(1977)119-122
- [48] F. Widdel, N. Pfennig, *Studies of dissimilatory sulphate-reducing bacteria that decompose fatty acids. I. Isolation of new sulphate-reducing bacteria enriched with acetate from saline environments. Description of Desulfobacter postgatei gen. nov.*, Arch. Microbiol, 129(1981)395-400
- [49] F. Widdel, N. Pfennig, *Sporulation and further nutritional characteristics of Desulfotomaculum acetoxidans*, Arch. Microbiol, 129(1981)401-402
- [50] F. Widdel, G. W. Kohring, F. Mayer, *Studies of dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. III. Characterization of the filamentous gliding Desulfomona limicola gen. nov., sp. nov., and Desulfonema magnum sp. nov.*, Arch. Microbiol, 134(1983)286-294
- [51] R. M. Fitz, H. Cypionka, *Formation of thiosulfate and trithionate during sulfite reduction by washed cells of Desulfovibrio desulfuricans*, Arch. Microbiol, 154(1990)400-406
- [52] J. G. Jones, W. Davison, S. Gardener, *Iron reduction by bacteria : range of organisms involved and metals reduced*, FEMS Microbiol. Lett, 21(1984)133-136.
- [53] M. L. Coleman, D. B. Hedrick, D. R. Lovley, D. C White, K. Pye, *Reduction of Fe (III) in sediments by sulfate-reducing bacteria*, Nature, 361(1993)436-438

- [54] C. W. S Cheung, I. Beech, *The influence of Metal Ions on the Activity of Hydrogenase in Sulphate Reducing Bacteria*, in *Microbial Corrosion*, ed The Institut of Matériaux, London, 1994 169 -180
- [55] J. R. Postgate, *The Sulfate Reducing Bacteria*, ed Cambridge University Press, London, 1984
- [56] J. R. Postgate, *Iron and the synthesis of cytochrome C3'*, *J. Gen. Microbiol.*, 15(1956)186-193
- [57] M. H. Csechowski, C. Chatellus, G. Fauque, M. F. Libert, P. A. Lespinat, Y. Berlier, J. Legall, *Utilization of cathodically-produced hydrogen produced from mild steel by Desulfovibrio species with different types of Hydrogenase*, *J. Ind. Microbiol.*, 6(1990)227-234
- [58] A. Steele, D. Goddard, I. Beech, *The use of atomic force microscopy in study of biodeterioration os stainless steel in the presence of bacterial biofilms*, *International Biodeterioration&Biodegradation*, 34(1995)35-46
- [59] G. Bradley, *An investigation into the structure and functional aspects of the cell wall of Desulfovibrio*, PhD, London Polytechnic, 1985
- [60] G. Faudon, M. L. Fardeau, J. Heim, B. Patel, M. Magot, B. Ollivier, *Peptide and amino acid oxidation in the presence of thiosulfate by members of the genus Thermoanaerobacter*, *Curr.Microbiol.*, 31(1995)152-157
- [61] M. Magot, G. Ravot, X. Campaignolle, B. Ollivier, B. Patel, M. Fardeau, J. Thomas, J. L. Crolet, J. L. Garcia, *Dethiosulfovibrio peptidovorans gen. nov., sp.nov : a new anaerobic slightly halophilic, thiosulfate-reducing bacterium from corroding offshore oil wells*, *Int. J. Syst. Microbiol.*, 47(1997)818-824
- [62] G. Ravot, B. Ollivier, M. Magot, B. Patel, J. L. Crolet, J. L. Fardeau, J. L. Garcia, *Thiosulfate reduction : an important physiological feature shared by members of the Thermotogales*, *Appl. Environn. Microbiol.*, 61(1995)2053-2055
- [63] G. Ravot, M. Ollivier, M. Magot, B. Patel, J. L. Crolet, J. L. Fardeau, J. L. Garcia, *Fusibacter paucivorans gen. sp. Nov, an anaerobic, thiosulfate-reducing bacterium from oil-producing well*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 49(1995)1141-1147
- [64] J. L. Garcia, B. Patel, M. L. Fardeau, G. Ravot, M. Magot, J. L. Cayol, B. Ollivier, *Thiosulfate reduction by non-sulfate-reducing anaerobic prokaryotes*, *Recent Res. Devel. Microbiol.*, 4(2000) 701-724
- [65] F. Bak, N. Pfennig, *Chemolithotrophic growth of Desulfovibrio sulfodismutans sp. nov. by disproportionation of inorganic sulfur compounds*, *Arch. Microbio.*, 147(1987)184-189
- [66] A. Friedrich, P. Antranikian, G. Keratin, *Degradation by Fervidobacterium pennaivorans, a novel thermophilic anaerobic species of the order Thermotogales*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(1996) 2875-2882
- [67] C. Faudon, M. L. Fardeau, J. Heim, B. Patel, M. Magot, B. Ollivier, *Peptide and amino acid oxidation in the presence of thiosulfate members of the genus Thermoanaerobacter*, *Curr. Microbiol.*, 31(1995)152-157
- [68] M. L. Fardeau, B. Patel, M. Magot, P. Thomas, A. Rimbault, F. Rocchiccioli, J. L. Garcia, *Thermotoga hypogea sp. nov. axylanolytic, thermophilic bacterium from an oil-producing well*, *Int. J. Bacteriol.*, 47(1997)1013-1019
- [69] K. Ma, M. W. Adams, *Sulfide deshydrogenase from thermophilic archeon Pyrococcus furiosus : a new multifunctional enzyme involved in the reduction of elementar sulphur*, *J. Bacteriol.*, 21(1994)6509-6517

- [70] C. A. H. Von Wolgozen Kuhr, L. S. Van Der Vlugt, *The graphitization of cast iron as electrobiochemical process in anaerobic soils*, Wat. Den Haag, 16(1934)147-165.
- [71] G. H. Booth, A. K. Tiller, *Polarization studies of mild steel in cultures of sulphate bacteria*, Trans. Faraday. Soc, 56(1960)1689-1696
- [72] G. H. Booth, F. Wormell, *Corrosion of mild steel by reducing bacteria*, International Congress on Metallic Corrosion, ed Butterworth, London, 1962 341-344
- [73] J. A. Costello, *Cathodic depolarization by sulphate reducing bacteria*, S. Afr. J. Sci, 70(1974)202-204
- [74] J. L. Crolet, *De "biologie et corrosion" à "biocorrosion"*, Matériaux et Technique, n°spécial Biocorrosion, (1990) 9-13
- [75] W. Lee, Z. Lewandoski, W. A. Hamilton, *Role of sulphate reducing bacteria in corrosion of mild steel : a review*, Biofouling, 8(1995)165-194.
- [76] J. L. Crolet, M. Magot, *Observation of non-SRB Sulfidogenic Bacteria from Oilfield Production Facilities*, Mat. Perf, 3(1996)60-64.
- [77] J. L. Crolet, *La corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière*, in Biodétérioration des Matériaux, ed EDP Sciences, Paris, 1998
- [78] M. Schasch, *Elemental sulfur as a corrodent in deaerated, neutral aqueous solutions*, Mat. Perf, 19(1980)9-12
- [79] W. P. Iverson, G. J. Olson, L. F. Heverly, *The Role of Phosphorus and Hydrogen Sulfide in the Anaerobic Corrosion of Iron and the Possible Detection of this Corrosion by an Electrochemical Noise Technique*, in Biologically Induced Corrosion, ed. NACE, Houston, 1986
- [80] M. Roche, *Cathodic Protection*, Pétrole et Techniques, 43(2003)69-71
- [81] M. Roche, *Cathodic Protection and associated coatings*, Pétrole et Techniques, 421(1999)69-85
- [82] R. G. J. Edyvean, A. D. Maines, C. J. Hutchinson, N. J. Silk, L. V. Evans, *Interactions between cathodic protection and bacterial settlement on steel in seawater*, International Biodeterioration & Biodegradation, 29(1992)251-271
- [83] S. Maxwell, W. A. Hamilton, *Effect of Cathodic Protection on the Activity of Microbial Biofilms*, Ind. Corros, 5(1987)14-17.
- [84] J. A. Hardy, *Utilisation of cathodic hydrogen by sulfate-reducing bacteria*, British Corrosion Journal, 18(1983)650-654
- [85] H. A. Videla, S. G. G. De Saravia, M. F. L. De Mele, *Early stages of bacterial biofilm and cathodic protection interactions in marine environments*, Corros. Control, 53(1993)687-3695
- [86] S. C. Dexter, S. H. Lin, *Effect of marine bacteria on calcareous deposition*, Mat. Perf, 30(1991)18-21
- [87] C. Godard, C. Dagbert, J. Galland, *Formation du dépôt calco-magnésien sous protection cathodique, action des bactéries sulfurogènes naturelles*, Matériaux et Techniques, 90(2002)11-17
- [88] C. Godard, C. Dagbert, *Impact de l'environnement marin sur la formation du dépôt calco-magnésien : rôle de la matière organique*, Matériaux et Techniques, 92(2004)27-32

- [89] J. Guezennec, E. Antoine, M. Conte, *Interaction protection cathodique et biofilm*, Matériaux et Technique, 7(1992)11-14
- [90] J. Chivot, *Thermodynamique des produits de corrosion*, ed Sciences et Techniques, Paris, 2004
- [91] M. El Azhar, M. Traisnel, B. Mernari, L. Gengembre, F. Bentiss, M. Lagrenee, *Electrochemical and XPS studies of 2,5-bis(n-pyridyl)-1,3,4-thiadazoles adsorption on mild steel in perchloric acid solution*, Applied Surface Sciences, 185(2002)197-205
- [92] F. Bentiss, M. Traisnel, L. Gengembre, M. Lagrenee, Inhibition of acidic corrosion of mild steel by 3,5-diphenyl-4H-1,2,3-triazole, Applied Surface Science, 161(2000)194-202
- [93] R. Gubner, I. Beech, *Field and laboratories studies of Marine Biocorrosion on carbon Steel*, 2nd NACE Latin American Region Corrosion Congress, Rio de Janeiro, 08–12.09, (1996) Paper 96175
- [94] R. D. Bryant, W. Jansen, J. Boivin, E. J. Laishley, J. W. Costerton, *Effect of Hydrogenase and Mixed Sulfate-Reducing Bacterial Population on the Corrosion of Steel*, Applied and Environmental Microbiology, 57(1991)2804-2809
- [95] R. D. Bryant, F. Van Ommen Kloeke, E. J. Laishley, *Regulation of periplasmic [Fe] hydrogénase by ferrous iron in Desulfovibrio vulgaris (Hildenborough)*, Applied and Environmental Microbiology, 59(1993)491-495.
- [96] J. Guézennec, *Cathodic protection and microbially induced corrosion*, International Biodeterioration & Biodegradation, 36(1994) 275-288.
- [97] R. Cord-Ruwisch, F. Widdel, *Corroding iron as a hydrogen source for sulphate reduction in growing cultures of sulphate-reducing bacteria*, Applied and Environmental Microbiology, 25(1986)169-174.
- [98] R. D. Bryant, E. J. Laishley, *The role of hydrogenase in anaerobic biocorrosion*, Canadian Journal of Microbiology, 36(1990)259-263.
- [99] I. Dupont, D. Féron, G. Novel, *Effect of glucose oxidase activity on corrosion potential of stainless steels in seawater*, International Biodeterioration & Biodegradation, 41(1997)13-18
- [100] V. L'Hostis, C. Dagbert, D. Féron, *Electrochemical behaviour of metallic materials used in seawater – interaction between enzymes and passive layers*, Electrochimica Acta, 48(2003),1451-1458
- [101] B. Grosogeat, J. Brugirard, *Les essais de corrosion des biomatériaux : leurs usages, leurs limites, leurs fondements*, Matériaux et Techniques,5-6(2001)15-28
- [102] S. H. Lee, J. H. Oh, *Infection after prosthetic reconstitution in limb salvage surgery*. International orthopaedics, 26(2002)179-184
- [103] A. Lortat-Jacob, N. Desplaces, *Infection secondaire de prothèse articulaire : critère de diagnostic, traitement et prévention*, Rev.chir.orthop.répar.appar.mot, 88(2002)51-61
- [104] P.Collin, P. Siret, J. F. Lahogue, *Prothèses de hanche infectées : Echange en un ou deux temps? Comparaison de deux séries*, Ann.orthop.Ouest.J, 34(2002)129-133
- [105] P. Moine, *L'infection nosocomiale*, Bulletin de la Société Française de Microbiologie, 17(2002) 8-14

- [106] P. Rocher, L. El Medawar, J. C. Hornez, M. Traisnel, J. Breme, H. F. Hildebrand, *Biocorrosion and cytocompatibility assessment of NiTi shape memory alloys*, *Scripta Materialia*, 50(2004)255-260
- [107] F. Monchau, A. Lefèvre, M. Descamps, A. Belquin-myrdycz, P. Laffargue, H. F. Hildebrand, *In vitro studies of human and rat osteoclast activity on hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate, calciumcarbonate*, *BiomolecularEngineering*, 19(2002)143-152

ASPECTS ÉCONOMIQUES

ASPECTS ECONOMIQUES

Tout scientifique au service des industriels doit savoir générer les fonds nécessaires et indispensables à ses travaux et ceux de son équipe. Pour ce faire, il est essentiel d'apprendre à répondre à des appels d'offres publiques, à monter des programmes de recherches, des propositions de recherches correspondant aux exigences des industriels.

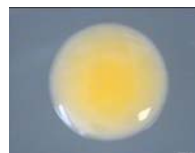
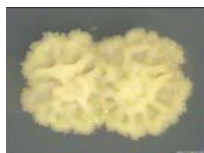
Au cours de mon parcours professionnel, j'ai dû apprendre cet aspect primordial de mon métier. Quelques exemples d'études et de programmes obtenus sont présentés ci-après. L'ensemble des études industrielles réalisées depuis 1999 est recensé pages 104 à 106.

- **MINISTÈRE DU TRANSPORT :**

*"Expérimentation du traitement biocide
des eaux de ballast au MEXEL[®] 786 »*



⇒ « Analyses microbiologiques et physico-chimiques
réalisées par le laboratoire »



Planches de photographies réalisées à bord de colonies bactériennes

Durée des essais : 6 mois, **étude confidentielle**

Collaboration avec :

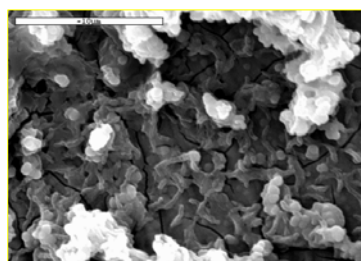
- l'Unité des Bactéries Pathogènes Emergentes de l'**INSTITUT PASTEUR** à Paris pour l'identification bactérienne (Pr. Patrick GRIMONT, Monique JANVIER),
- le Laboratoire DEL d'**IFREMER** La Tremblade pour les analyses phytoplanctoniques et zooplanctoniques (Roger KANTIN, Daniel MASSON).



- **PORT AUTONOME DU HAVRE :**

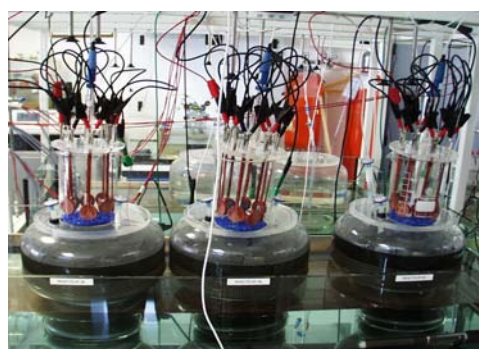


- Expertise sur site minéralier : prélèvements microbiologiques et physico-chimiques,
- Étude de la corrosion de structures métalliques immergées en milieu marin sous protection cathodique.



Présence de bactéries dans le dépôt calco-magnésien

Collaboration avec le LGPM, Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux (Catherine DAGBERT) de l'École Centrale Paris.



Dispositif expérimental

C'est une **étude confidentielle** en trois tranches de 8 mois chacune portant sur :

« *Étude de la corrosion des structures métalliques immergées en milieu marin* »

Les ouvrages métalliques du Port Autonome du Havre présentent depuis plus d'une dizaine d'années, des problèmes de corrosion qui s'intensifient en certains endroits. Les responsables de ces infrastructures s'inquiètent et s'interrogent quant aux dispositions à prendre pour allonger au maximum la durée de vie des installations portuaires.

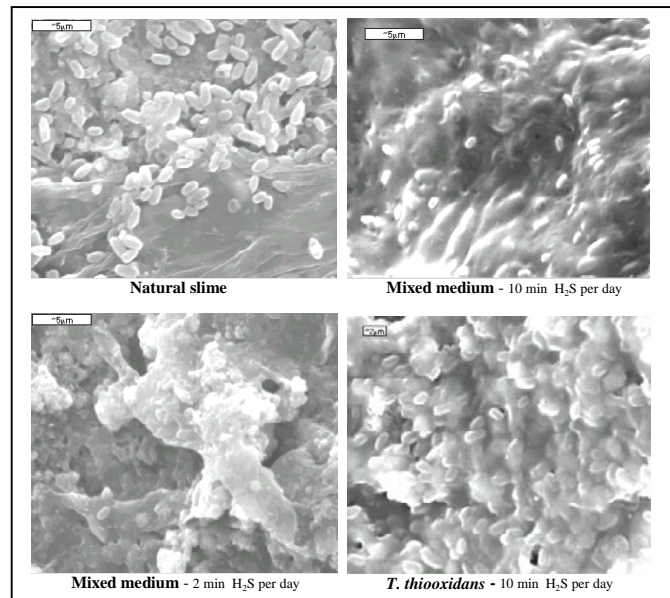
La présente étude a pour objectif de mettre en œuvre des essais et des analyses nécessaires à la définition de solutions adaptées aux problèmes de corrosion posés.

- **PONT-À-MOUSSON :**

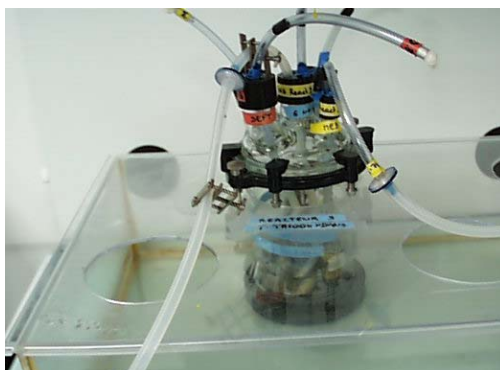
Leader mondial de construction de canalisations en fonte revêtue.

Test de la tenue de matériaux aux Bactéries Sulfuro-Oxydantes, reproduction des phénomènes de détérioration biogène rencontrés dans les réseaux d'assainissement.

Collaboration avec le LGPM, Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux (Catherine DAGBERT) de l'École Centrale Paris.



Observations de bactéries sur des échantillons en fonte revêtue au Microscope Électronique à Balayage



Dispositifs expérimentaux

Durée des essais : 18 mois ; étude confidentielle

- **COLLABORATION INTERRÉGIONALE, BIOCORYS**

démarrage des essais en janvier 2004 :



"Biocorrosion des matériaux métalliques en eaux naturelles"

Trois objectifs principaux sous-tendent la volonté de créer ce réseau interrégional :

- un **objectif scientifique** et fondamental qui inclut la compréhension des phénomènes de biocorrosion, et donc la connaissance de l'action des micro-organismes sur les matériaux métalliques. Il s'agit, d'une façon plus globale, de mieux connaître les interactions entre le monde du vivant et celui du minéral. C'est donc un programme de recherche transverse entre les sciences du vivant et celles de la matière.
- un **objectif technologique** qui consiste à déterminer la résistance à la corrosion microbienne des matériaux métalliques en eau de mer. Cette maîtrise est nécessaire pour proposer des remèdes adaptés qui ont des conséquences industrielles et donc économiques importantes. Cette connaissance peut aussi conduire à abaisser de façon importante le coût de l'investissement dans une installation donnée en évitant l'utilisation d'un acier trop allié.
- un **objectif régional et national** qui consiste à créer un pôle de compétences fortes en biocorrosion et à lui fournir les moyens d'atteindre un rayonnement européen et international dans son domaine.

Collaboration avec :

- **Corrodys**, Centre de Corrosion Marine et Biologique ([Isabelle DUPONT-MORRAL](#))
- le **LECA**, Laboratoire d'Etude de la Corrosion Aqueuse du CEA-CEREM (Damien FÉRON, directeur scientifique),
- le **LGPM**, Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux ([Catherine DAGBERT](#), Michel Jérôme, directeur du programme),
- le **LG2mS**, Laboratoire de génie Mécanique des Matériaux et Structures (n° UPRES A 6066 CNRS) de l'Université de Technologie de Compiègne ([Gérard BÉRANGER](#), [Caroline RICHARD](#), Christian LEMAITRE),
- le **LGEC**, Laboratoire de Génie Enzymatique et Cellulaire (n° UPRES A 6022 CNRS) de l'Université de Technologie de Compiègne (Daniel THOMAS, Sylviane PULVAIN).

Secrétaire scientifique : Isabelle Dupont-Morral

Responsable scientifique de la Basse-Normandie : Isabelle Dupont-Morral

Coordinatrices Régionales : [Catherine DAGBERT](#) (Ile de France), [Caroline RICHARD](#) (Picardie), [Isabelle DUPONT-MORRAL](#) (Basse-Normandie)

LISTE DES TRAVAUX ENCADRÉS

Listes des travaux encadrés

THÈSES

- « *Influence d'un biofilm sur les processus de corrosion électrochimique des aciers inoxydables immergés en eau de mer* »

Valérie l'Hostis - soutenue le 13 septembre 2002

Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion

Directeur de thèse : Catherine Dagbert, Ecole Centrale Paris

Publication : L'Hostis V., Dagbert C., Galland J., Dupont I., Roy M., Féron D. - « Biocorrosion d'aciers inoxydables en eau de mer » - 2002 - Matériaux et Techniques n° 7-8 - pp 57-64

- « *Interactions entre processus biochimiques et physico-chimiques en milieu marin pollué, sur les surfaces métalliques, rôle de la polarisation cathodique* »

Catherine Godart – soutenue le 9 décembre 2004

Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion

Directeur de thèse : Catherine Dagbert, Ecole Centrale Paris

Communication : Dupont I., Pineau S., Dagbert C., Godart C., Galland J., Scherrer P., Baril J.C., Benaïssa B. « Role of microorganisms on the formation of calcareous deposit resulted of cathodic protection applied in marine environment » - 2002 - CEFACOR / European Federation Corrosion / Aix en Provence 4 au 7 juin

- « *Caractérisation des consortiums bactériens du biofilm marin et de son pouvoir corrosif sur les infrastructures métalliques* »

Samuel PINEAU - début thèse : janvier 2003

Directeur de thèse (acceptation du Conseil scientifique de l'UTC) - Université de Compiègne, école doctorale, spécialité « Stratégies d'exploitation des fonctions biologiques »

Publication : Pineau S., Lefèvre Yves., Dupont I. - « Impact de la protection cathodique sur l'activité corrosive de la flore sulfurogène » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 pp 38 – 44

Communication : Pineau S., Janvier M., Gabassut G., Dupont-Morrat I. « Méthode d'extraction et de purification de l'ADN total de biofilms marins naturels sur acier au carbone, en vue de la caractérisation des populations bactériennes dominantes » - 2005 - 7ème Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFACOR –Ouireham- 26 et 27 Mai

- « *Amélioration de la tenue à la corrosion marine des aciers faiblement alliés : influence des éléments d'alliage, des biofilms et des sédiments marins* »
Emilie DAJOUX - début de thèse : janvier 2004
Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion
Directeur de thèse : Ottavio GIL, Université de Caen
Communication : Dajoux E., Malard S., Lefèvre Y., Kervadec D., Gil O., Dupont-Morrall I., Daret J. « Dispositif expérimental d'essais de corrosion d'aciers faiblement alliés en eau de mer naturelle » - 2005 - 7ème Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFACOR –Ouireham- 26 et 27 Mai

- « *Aptitude à la bioadhésion des aciers inoxydables immergés en eaux douces. Impact sur la corrosion microbienne* »
Cyril MARCONNET – début de thèse : mars 2004
Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion
Directeur de thèse : Catherine Dagbert, Ecole Centrale Paris

- « *Caractérisation de la flore sulfato/thiosulfato réductrice par spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF)* »
Nicolas BOUDAUD – début de thèse : janvier 2005
Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion
Directeur de thèse : Josette Travert, Université de Caen
Communication : Boudaud N., Amiel C., Mariey L., Dupont-Morrall I., Travert J. « Optimisation des conditions expérimentales pour la mise en place d'une spectrothèque infrarouge de bactéries sulfato et thiosulfato réductrices (BSR et BTR) - 2005 - 7ème Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFACOR –Ouireham- 26 et 27 Mai

- « *Biocorrosion des métaux en eaux naturelles : corrosion sous contrainte-phénoménologie et mécanismes* »
Djamel Aouli - début de thèse en octobre 2005
Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion
Directeur de thèse : Caroline Richard Université technologique de Compiègne

- « *Rôle des réactions enzymatiques dans un biofilm sur la corrosion des métaux en eaux douces naturelles* »
Jessem LANDOULSI - début de thèse en octobre 2005
Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion
Directeur de thèse : Sylviane Pulvain, Université Technologique de Compiègne

STAGE POST-DOCTORAL

- *« Caractérisation de nouvelles bactéries sulfurogènes marines »*

Delphine BERMOND-TILLY - janvier 2002-janvier 2003

Stage post-doctoral en collaboration avec l'Institut PASTEUR (Professeur Patrick GRIMONT)

Publication : Bermond-Tilly D., Janvier M., Dupont I. – « Isolement et Identification d'une flore sulfurogène à partir de biofilm formé en eau de mer sur des matériaux métalliques » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 – pp 53-58

Communications : Bermond-Tilly D., Janvier M., Braisaz T., Dupont-Morrall I., Grimont P.A.D. -« Microbially influenced corrosion : studies on bacteria isolated from seawater environment » - EUROCORR 2003 - Budapest Hongrie - 28 sept au 2 oct

Bermond-Tilly. D., Janvier M., Dupont-Morrall I. - « Biodiversité bactérienne d'un biofilm formé sur des échantillons de matériau métallique immergé en eau de mer » - 2004 Congrès de la SFM, bordeaux, Mai

- *« Caractérisation de la flore sulfato/thiosulfato réductrice par spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) »*

Céline Rubio – 2003

Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion

Publications : Rubio C., Amiel C., Poisson A., Dupont-Morrall I., Mariey L. - «Sulfato/Thiosulfato Reducing Bacteria characterization by FT-IR spectroscopy, a new approach to biocorrosion control» - 2005 – accepté- Journal of Microbiological Methods.

Rubio C., Amiel C., Poisson A., Dupont I., Mariey L. - « Caractérisation de la flore Sulfato/Thiosulfato Réductrice par spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 – pp 71-75

DEA / DESS

- *« Influence de la protection cathodique sur les bactéries et influence des bactéries sur les protections cathodiques »*

Catherine GODART – 2001

Encadrement en tant que microbiologiste pour la partie biocorrosion

DEA, Paris VI - en collaboration avec Catherine DAGBERT de l'École Centrale Paris

- *« Influence des bactéries sulfurogènes sur la germination du dépôt calcomagnésien : étude d'échantillons d'acier au carbone protégés cathodiquement en eau de mer »*

Annabelle RIBOT - 2001

DESS, Université de Toulon

Communication : Dupont I., Pineau S., Ribot A. « Interactions entre la germination du dépôt calcomagnésien et la croissance de *Desulfovibrio halophilus* et *Dethiosulfovibrio peptidovorans* à la surface d'un acier carbone sous protection cathodique » - 2002 - 1er Colloque Interdisciplinaire sur les matériaux en France – "Matériaux 2002" 21 au 25 / Tours

- « *Inter-Influence entre la protection cathodique d'acier au carbone, et le développement de biofilms de bactéries sulfato-réductrices et thiosulfato-réductrices, en milieu marin* »

Samuel PINEAU - soutenue le 7 novembre 2002

Encadrement en collaboration avec le professeur Daniel THOMAS de l'Université de Compiègne de la préparation d'un diplôme de l'École Pratique des Hautes Études (section biologie cellulaire et moléculaire)

Publication : Pineau S., Dupont I. - « Influence de la protection cathodique sur la vitesse de colonisation de la flore sulfurogène sur l'acier en milieu marin : flore sulfurogène naturelle et monocultures de Bactéries Sulfato-Réductrices et Thiosulfato-Réductrice » - 2002 - Matériaux et Techniques - n° 7-8 - pp 23-28

Communications : Dupont I., Pineau S., Dagbert C., Godart C., Galland J., Scherrer P., Baril J.C., Benaïssa B. « Role of microorganisms on the formation of calcareous deposit resulted of cathodic protection applied in marine environment » - 2002 - CEFACOR / European Federation Corrosion / Aix en Provence 4 au 7 juin

Pineau S., Dupont I. - « Influence de la protection cathodique sur la vitesse de colonisation de la flore sulfurogène sur l'acier en milieu marin : flore sulfurogène naturelle et monocultures de bactéries sulfato-réductrices et thiosulfato-réductrice » - 2002 - 5ème Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFACOR – Dourdan 23 et 24 mai

- « *Influence de la flore sulfurogène sur la formation de la rouille verte en eau de mer* »

Kuoning GUO

Encadrement en collaboration avec René SABOT du LEMMA de l'Université de La Rochelle

DESS Matériaux, Université de La Rochelle

CURRICULUM VITAE

CURRICULUM VITAE

□ Diplômes

1996 **Stage Post doctoral** à la DCN Cherbourg : *Étude de biocorrosion sur l'acier au carbone TU37C en eau de mer naturelle*

1996 **Thèse de l'Université de Caen** en corrosion microbienne, laboratoire d'accueil : L.E.T.C/CEA à la Hague

Directeur de thèse : Professeur G.Novel (Université de Caen).

Responsable CEA : D.Féron (Saclay).

Sujet : *Influence des bactéries et de leur activité sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle*

Soutenue : le 25 octobre 1996 à Cherbourg

1992 **D.E.A.** de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire (IRBA Caen)

1991 **Maîtrise** de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire (IRBA-Caen)

1990 **Licence** de Biologie Cellulaire et Physiologie Animale (Faculté des Sciences de Nantes)

□ Situation au CRITT BNC

En tant que responsable du laboratoire de biodétérioration des matériaux du CRITT/BNC depuis 1997 et Directrice Industrielle de Corrodys depuis 2002, mes principales missions sont :

- **de définir et de développer les thèmes de recherche** en partenariat avec des industriels et/ou des chercheurs français ou étrangers aux compétences complémentaires,
- **d'assurer l'animation scientifique et industrielle du laboratoire** dont les activités sont centrées sur la biodétérioration des matériaux. Cette animation vise à maintenir une vie scientifique active partagée par tous, mais aussi d'offrir, aux industriels, un service pertinent et efficace répondant à leurs attentes,
- **d'assurer la gestion des ressources humaines du laboratoire** (nombre de personne : 15) **ainsi que la gestion de notre budget** au côté du directeur du CRITT BNC, Jean-Marie MOUCHEL.

□ Formation par la recherche et l'enseignement

Afin d'assurer une interface recherche-enseignement ou recherche-entreprise, qui me paraît fondamentale pour la formation ou l'information, *différentes sessions de formation pour les entreprises sont organisées :*

- COGEMA La Hague
- E.M.C.C. (Entreprise Morillon Corbol Courbot), l'un des leaders français des interventions de maintenance en eau de mer ou en eau douce
- Ministère de l'Équipement responsable de la maintenance portuaire et fluviale (CETMEF : Centre d'Etudes Techniques Maritimes et Fluviales)
- Port Autonome de Nantes Saint-Nazaire
- Port Autonome du Havre
- Institut Français du Pétrole
- Groupe BELL
- Profilarbed -Arcelor
- Participation à la formation sur "*la biodétérioration des matériaux*" organisée par l'INSTN et le CEA/Saclay sur une durée de 3 jours,

ainsi que différents enseignements :

- École d'Ingénieurs de Cherbourg (3^{ème} année, 4 heures de cours)
- Ecole Centrale Paris (2^{ème} année, 4 heures de cours)
- DESS « Hygiène et sécurité » de l'Université de Caen (6 heures de cours, tous les ans)
- Institut des Techniques de la Mer (2^{ème} année, 6 heures de cours, tous les ans)
- DEA de microbiologie de Lorient (4 heures de cours)

□ Organisation de Colloques, Séminaires et Conférences

- Séminaires à Cherbourg en mars 1999 avec des collègues français et étrangers sur la problématique de la biocorrosion en eau de mer.
- Le 3^{ème} Forum de biodétérioration des matériaux du CEFRAFOR, en mars 1999, qui a compté une soixantaine de participants
- Une journée technique en mars 2001 "Biofilm et ses conséquences" à Caen en collaboration avec l'ADRIA Normandie.
- Participation à l'organisation des Forums de Biodétérioration des Matériaux du CEFRAFOR (2000, 2002, 2003).

- **Vice présidente du comité d'organisation** de « International Conference on Biodegradation of Materials » qui se tiendra à Cherbourg (Cité de la Mer) du 10 au 14 juin 2007

☐ Autres activités

- De mars 1998 à mai 2005, **secrétaire scientifique** de la commission "*Biodétérioration des Matériaux*" du **CEFRACOR** (Centre FRANçais de l'antiCORrosion) au côté de ses présidents : Damien FÉRON du CEA/Saclay, Bernard TRIBOLLET de l'UPR15 CNRS Jussieu (à partir de 2003).
- Réalisation d'une **plaquette informative** sur la « corrosion et la biodétérioration des matériaux pour le **Ministère de l'Équipement** destinée à son personnel de maintenance portuaire et fluviale.
- Participation à l'accompagnement d'entreprise dans le montage de dossier de réponse à des appels d'offre de programmes européens (CRAFT)
- **Secrétaire scientifique et coordinatrice de la région Basse-Normandie** du programme **Interrégional BIOCORYS**, collaboration entre la Basse Normandie, la Picardie et l'Île de France : "*Biocorrosion des Métaux en eaux naturelles*"

www.biocorys-utc.com



- **Pilotage du Réseau National Biofilm** en collaboration avec Romain BRIANDET de l'INRA de Massy

www.biofilm-france.fr



- **Participation à l'élaboration** de la partie française du programme européen **Waterborne** (7^{ème} PCRD) sous la direction de Monsieur CAUDE, Directeur du CETMEF (Centre d'Etude Technique Maritime Et Fluvial)
- **Participation à l'élaboration d'un programme ANR** piloté par Madame Pradier, CNRS sur la mise au point de capteurs de biofilms « captofilms ».
- **Participation à l'élaboration d'un programme européen INTERREG III** sous la direction de Madame NAKACHE, chargée de mission par la Mission Interministérielle d'Aménagement du territoire.

☐ Publications

La **majorité des études** réalisées depuis 1997 (Direction Générale de l'Armement, Pont-à-Mousson, COGEMA, SGN, Ports Autonomes, Ministère du Transport, ...) sont, pour la grande majorité, **confidentielles** et n'ont de ce fait pas pu faire l'objet de communication, sauf quelques exceptions sous contrôle **très strict** de l'industriel concerné.

☛ Articles dans une revue avec un comité de lecture

- 1 - **Rubio C., Amiel C., Poisson A., Dupont-Morral I., Mariey L.** - « Sulfato/Thiosulfato Reducing Bacteria characterization by FT-IR spectroscopy, a new approach to biocorrosion control » - 2005 – accepté- Journal of Microbiological Methods.
- 2 - **Dupont-Morral I.** – « Corrosion induced by Enterobacteria on carbon steel in natural seawater » - 2004 - European Journal of water quality – tome 35, fasc2, pp 153-160
- 3 - **Bach M., Feugeas F., Dupont I., Marie-Victoire E., Cornet A.** – « Evaluation d'un inhibiteur de corrosion organique dans le cadre de la préservation des monuments historiques. Influence bactérienne » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 – pp 3-8
- 4 - **Bermond-Tilly D., Janvier M., Dupont I.** – « Isolement et Identification d'une flore sulfurogène à partir de biofilm formé en eau de mer sur des matériaux métalliques » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 – pp 53-58
- 5 - **Rubio C., Amiel C., Poisson A., Dupont I., Mariey L.** - « Caractérisation de la flore Sulfato/Thiosulfato Réductrice par spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 – pp 71-75
- 6 - **Pineau S., Lefèvre Y., Dupont I.** - « Impact de la protection cathodique sur l'activité corrosive de la flore sulfurogène » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 pp 38-44
- 7 - **Sabot R., Gadouleau M., Refait Ph., Niasse M., Dupont I.** « Interaction entre l'hydroxysulfate Fe (II)-Fe(III) et les Bactéries Sulfato-Réductrices » - 2004 - Matériaux et Techniques – n°7-8-9 – pp 65-70
- 8 - **Pineau S., Dupont I.** - « Influence de la protection cathodique sur la vitesse de colonisation de la flore sulfurogène sur l'acier en milieu marin : flore sulfurogène naturelle et monocultures de Bactéries Sulfato-Réductrices et Thiosulfato-Réductrice » - 2002 - Matériaux et Techniques - n° 7-8 - pp 23-28
- 9 - **L'Hostis V., Dagbert C., Galland J., Dupont I., Roy M., Féron D.** - « Biocorrosion d'aciers inoxydables en eau de mer » - 2002 - Matériaux et Techniques n° 7-8 - pp 57-64
- 10 - **Amiel C., Dupont I., Poisson A., Mariey L., Barillier D.** - « Identification et caractérisation de micro-organismes par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) : projet d'application à l'identification et la caractérisation de la flore thiosulfato-réductrice » - 2002 - Matériaux et Techniques n° 7-8 - pp 49-56
- 11 - **Dupont I., Novel G., Féron D.** - « Effect of glucose oxidase activity on the corrosion potential of stainless steels in seawater » -1998 - International Biodeterioration and Biodegradation 41- pp 13-18
- 12 - **Dupont I., Féron D., Novel G.** - « Microorganismi e potenziale libero di corrosione » - 1998 - Pitture e vernici 74 14 pp 40-43
- 13 - **Dupont I., Féron D., Novel G.** - « Influence de facteurs inorganiques sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle » - 1997 - Matériaux et Techniques - 11 - pp 41-46

➤ Articles dans une revue sans comité de lecture

- 14 - **Dupont I., Féron D.** - « Influence des bactéries et de leur activité sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle » - 1997 - Bulletin de liaison n°10 du Centre Français de l'Anticorrosion pp 23-28
- 15 - **Dupont-Morrall I.** « Les bactéries Sulfato-Réductrices et la corrosion bactérienne » - 2004 - Bulletin de la Société Française de Microbiologie – Vol.19, n°2

➤ Chapitre dans des ouvrages collectifs

- 16 - **Féron D., Dupont I.** - « Marine biofilms on stainless steels : effects on the corrosion behaviour. Development in marine corrosion » - 1995 - edited by Campbell SA, Campbell N and Walsh FC – Royal Society of Chemistry pp 89-102
- 17 - **Féron D., Compère C., Dupont I., Magot M.** - « Biodétérioration des matériaux métalliques ou biocorrosion » - 2002 - Corrosion des métaux et alliages. Edité chez Lavoisier-Hermès Sciences - pp 385-405

☐ Communications

➤ Communications aux manifestations scientifiques ou techniques avec une publication

- 1 - **Bermond-Tilly D., Janvier M., Braisaz T., Dupont-Morrall I., Grimont P.A.D.** - « Microbially influenced corrosion : studies on bacteria isolated from seawater environment » - EUROCORR 2003 - Budapest Hongrie - 28 sept au 2 oct
- 2 - **Dupont I., Poisson A., Pineau S.** - « Use of Mexel 432/0 for the control of microbiologically influenced corrosion in seawater systems » - Ceocor 2003 - 6^{ème} colloque international et exposition technique-13 au 16 mai Sicilia-Italia
- 3 - **Dupont I., Pineau S., Braisaz T.** « Interrelationship between cathodic protection and microbiologically influenced corrosion in marine environment: brief-review and prospects » - 2003 - 13th International Harbour Congress, Anvers - 30 mars au 2 avril
- 4 - **Dupont I., Pineau S., Ribot A.** « Interactions entre la germination du dépôt calcomagnésien et la croissance de *Desulfovibrio halophilus* et *Dethiosulfovibrio peptidovorans* à la surface d'un acier carbone sous protection cathodique » - 2002 - 1^{er} Colloque Interdisciplinaire sur les matériaux en France – "Matériaux 2002" 21 au 25 / Tours
- 5 - **Dupont I.** « Biocorrosion et implants orthopédiques » - 2002 - 8^{ème} Journées Internationales des Biomateriaux de l'Institut Européen des Biomateriaux et de Microchirurgie de Nancy - 26 et 27 septembre
- 6 - **Dupont I., Pineau S., Dagbert C., Godart C., Galland J., Scherrer P., Baril J.C., Benaïssa B.** « Role of microorganisms on the formation of calcareous deposit resulted of cathodic protection applied in marine environment » - 2002 - CEFRACOR / European Federation Corrosion / Aix en Provence 4 au 7 juin
- 7 - **Pineau S., Dupont I.** - « Influence de la protection cathodique sur la vitesse de colonisation de la flore sulfurogène sur l'acier en milieu marin : flore sulfurogène naturelle et monocultures de bactéries sulfato-réductrices et thiosulfato-réductrice » - 2002 - 5^{ème} Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFRACOR – Dourdan 23 et 24 mai
- 8 - **Dupont I., Poisson A., Dagbert C., Nouail G., Galland J.** « Biodeterioration of a cement induced by thiobacilli » - EUROCORR'2001 - The European Corrosion Congress - Italy Riva Del Garda - 30 sept au 4 oct– 13 pp 1-10

9 - **Dupont I., Féron D., Novel G.** « Influence of microorganisms on the increase of the free potentials of stainless steels in natural seawater » - EUROCORR'96 - The European Corrosion Congress. 5 – 10 pp 1-4 Nice - 24 au 26 septembre

➔ **Communications aux manifestations scientifiques ou techniques sans publication**

- 10 - **Pineau S., Janvier M., Gabassut G., Dupont-Morrall I.** « Méthode d'extraction et de purification de l'ADN total de biofilms marins naturels sur acier au carbone, en vue de la caractérisation des populations bactériennes dominantes » - 2005 - 7^{ème} Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFRACOR –Ouireham- 26 et 27 Mai
- 11 - **Boudaud N., Amiel C., Mariey L., Dupont-Morrall I., Travert J.** « Optimisation des conditions expérimentales pour la mise en place d'une spectrothèque infrarouge de bactéries sulfato et thiosulfato réductrices (BSR et BTR) - 2005 - 7^{ème} Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFRACOR –Ouireham- 26 et 27 Mai
- 12 - **Dajoux E., Malard S., Lefèvre Y., Kervadec D., Gil O., Dupont-Morrall I., Daret J.** « Dispositif expérimental d'essais de corrosion d'aciers faiblement alliés en eau de mer naturelle » - 2005 - 7^{ème} Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFRACOR – Ouireham- 26 et 27 Mai
- 13 - **Bach M., Feugeas F., Farcas F., Dupont-Morrall I., Marie-Victoire E., Cornet A.** « Influence bactérienne sur le comportement et l'efficacité d'un inhibiteur de corrosion organo-minéral pour des structures métalliques en fer pur » - 2005 - 7^{ème} Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFRACOR –Ouireham- 26 et 27 Mai
- 14 - **Denis C., Cadot P., Varin L., Barillier D., Poisson A., Dupont-Morrall I.** "Evaluation of chemical toxicity risks of biofilms in food products"- 2004 - Food Factory-Laval-October
- 15 - **Bermond-Tilly.D., Janvier M., Dupont-Morrall I.** - « Biodiversité bactérienne d'un biofilm formé sur des échantillons de matériau métallique immergé en eau de mer » - 2004 Congrès de la SFM, bordeaux, Mai
- 16 - **Dupont I., Makaroff M., Pineau P., Poisson A.** « Effet biocide du Mexel 432/0 sur les bactéries sulfato-réductrices marines fixées » - 2000 - 4^{ème} Forum de Biodétérioration des Matériaux – CEFRACOR – Toulouse - 28 et 29 septembre (ISBN2-9516844-0-1)
- 17 - **Dupont I. & Poisson A.** « Testing the effectiveness of biocides in natural seawater » - 1999 - 3^{ème} forum de biodétérioration des matériaux - CEFRACOR – Cherbourg - 25 et 26 mars
- 18 - **Le Guyader H., Debout V., Dupont I., Cousin B.** « Influence d'un biocide : le Mexel sur l'évolution du potentiel d'un acier inoxydable en eau de mer naturelle et sur la quantification de la flore marine » - 1997 - 2^{ème} Forum de biodétérioration des Matériaux. Ottrott. 2 et 3 octobre
- 19 - **Dupont I., Novel G., Féron D.** « Flore marine fixée sur de l'acier inoxydable à 20°C et 40°C en eau de mer naturelle » – 1996 - 1^{er} Forum de Biodétérioration des Matériaux CEFRACOR Landerneau - 22 et 23 mai
- 20 - **Féron D., Dupont I.** « Marine biofilms on stainless steels: effects on the corrosion behaviour » - 1995 - 9th International Congress on Marine Corrosion and Fouling, Portsmouth - 17 au 21 juillet
- 21 - **Féron D., Dupont I.** « Marine biofilms on stainless steels » - 1994 - 4th Mast Meeting on biofilms, Estoril, Portugal - 17 et 18 mars

☐ Prix Honorifiques

- Obtention du premier prix de présentation lors du 1^{er} forum de biodétérioration des matériaux de Landerneau en mai 1996
- Obtention du prix jeune chercheur 1997 décerné par le CEFRACOR (Centre Français de l'Anticorrosion)

☐ Etudes Industrielles

L'ensemble des études recensées ci-dessous ont été réalisées, sous ma responsabilité de 1999 à 2002, en tant que responsable du laboratoire de biodétérioration des Matériaux du CRITT / BNC, puis de 2003 à 2005 en tant que directrice industrielle de Corrodys. Ces études ont été effectuées par l'ensemble du personnel du CRITT BNC rattaché à Corrodys.

1999

Société	Objet	durée
1-MEXEL	Etude : efficacité de biocides sur flore sulfurogène marine naturelle	6 mois
2-ROAD RAIL FRANCE (Alu Suisse)	Tenue de tranches Aluminium/polyester aux champignons de l'environnement	6 mois
3-DCN Cherbourg (service 2EI)	Quantification/caractérisation flore sulfurogène dans le cadre d'une expertise de corrosion	2 mois
4-PONT A MOUSSON	Tenue des systèmes de protections des canalisations en fonte aux micro-organismes des réseaux d'assainissement	12 mois
5-MEXEL	Efficacité de biocides sur des cultures pures de BSR et de BTR	6 mois
6-BRITTANY FERRIES	Analyses microbiologiques dans un circuit eau de mer dans le cadre d'une expertise de corrosion	2 mois
7-BRITTANY FERRIES	Suivi microbiologique de l'efficacité du Mexel 432 lors du traitement d'un circuit de refroidissement	2 mois
8-MEXEL	Efficacité biocide du Mexel 162 sur flore sulfurogène marine naturelle et sur des cultures pures de BSR et BTR	6 mois

2000

Société	Objet	Durée
9-MEXEL	Efficacité du Mexel 432/0 sur des cultures pures de BSR et BTR	6 mois
10-COGEMA	Expertise de corrosion	4 mois
11-LEGRAND NORMANDIE	Expertise de biocorrosion	6 mois
12-MEXEL	Efficacité du Mexel 432/0 sur la flore sulfurogène naturelle marine	6 mois
13-BRITTANY FERRIES	Quantification de la flore sulfurogène sur des prélèvements réalisés sur un circuit de refroidissement	1 mois
14-COGEMA	Expertise de biocorrosion sur une boucle de refroidissement	6 mois
15-MEXEL	Etude de l'efficacité Mexel B2005 de biocides sur la flore sulfurogène marine naturelle	4 mois

2001

Société	Objet	Durée
16-JOHNSON FILTRATION	Expertise de biocorrosion sur des échantillons en Cupro-nickel	6 mois
17-IFREMER (Ministère Transports)	Essais de traitement des eaux et boues de ballasts par biocide	12 mois
18-JOHNSON FILTRATION	Observation d'échantillons en Cupro-Nickel	1 mois
19-COGEMA	Étude de l'effet Mexel 786B sur une boucle de refroidissement	6 mois
20-COGEMA	Expertise de biocorrosion	3 mois
21-JOHNSON FILTRATION	Observation d'échantillons en cupro-nickel	1 mois

22-EDF CHATOU	Analyses physico-chimiques sur site	2 mois
23-JOHNSON FILTRATION	Observations d'échantillons métalliques	1 mois
24-Port Autonome Nantes St Nazaire	Expertise de biocorrosion sur des palplanches portuaires	4 mois
25-Voies Navigables de France	Expertise de corrosion sur le barrage de Charmes	2 mois
26-CETMEF	Evaluation de risques biocorrosion sur site maritime	2 mois
27-Mairie de Balaruc Les Bains	Analyses microbiologiques aux Thermes de Balaruc	2 mois

2002

Société	Objet	Durée
28-Port Autonome du Havre	Étude corrosion des structures portuaires - 1 ^{ère} partie	6 mois
29-Port Autonome du Havre	Étude corrosion des structures portuaires - 2 ^{ème} partie	10 mois
30-COGEMA	Expertise de biocorrosion	2 mois
31-SIPLAST	Efficacité de substances biocides sur des bardeaux bitumineux	6 mois
32-COGEMA	Etude de corrosion sur acier boré	2 mois
33-COGEMA	Efficacité du Mexel 336HO dans le cadre du traitement biocide d'une boucle de refroidissement	4 mois
34-MAISONNEUVE	Analyses microbiologiques sur un réservoir en acier 304 corrodé	1 mois
35-EDF CHATOU	Recherche de bactéries nitrifiantes	1 mois
36-MAISONNEUVE	Évaluation du risque de biocorrosion	2 mois
37-SGN / HRB	Analyses microbiologiques sur des systèmes de filtration	1 mois
38-SGN / HRB	Analyses microbiologiques	1 mois

2003

Société	Objet	Durée
39-Port Autonome Havre	Etude de Corrosion sur des structures immergées protégées cathodiquement - 3 ^{ème} partie	10 mois
40-Port Autonome Nantes St-Nazaire	Tests de l'efficacité de la peinture employée sur site et du processus de réparation des lésions	8 mois
41-Johnson Screens	Expertise contradictoire de corrosion	1 mois
42-FOUCHARD	Analyses microbiologiques sur un circuit de chauffage dans le cadre d'une expertise de corrosion	
43-COGEMA	Expertise de biocorrosion sur une boucle de refroidissement	3 mois
44-CETIM-CERMAT	Analyses microbiologiques pour expertise de corrosion	1 mois
45-ALSTOM / Chantiers de Saint-Nazaire	Recherche de flore sulfurogène dans le circuit de refroidissement d'un navire connaissant des problèmes de corrosion	1 mois
46-COGEMA	Etudes de corrosion	3 mois
47-Hall de Recherche de Beaumont	Analyses microbiologiques	1 mois
48-Voies Navigables de France	Analyses du dépôt de structures en béton	3 mois
49-SAINT GOBAIN	Quantification et Caractérisation de micro-organismes sur des joints de vitrage dégradés	1 mois
50-FOUCHARD	Analyses microbiologiques sur un circuit de chauffage	1 mois
51-PROFRACTAL	Caractérisation et quantification de flore sulfurogène sur des prélèvements réalisés par la société	1 mois
52-INSA	Caractérisation et quantification de flore sulfurogène sur des prélèvements d'eau de rivière	1 mois
53-Institut Français du Pétrole	Aide à la mise en œuvre et la caractérisation de bactéries sulfurogènes pour études sur la fragilisation des matériaux à l'hydrogène	4 mois
54-COGEMA	Expertise de biocorrosion	2 mois
55-COGEMA	Expertise de corrosion	3 mois
56-MENARD / PROFRACTAL	Expertise corrosion microbienne	2 mois
57-CCI Centre et Sud Manche	Expertise de corrosion	

58-Port Autonome Dunkerque	Expertise corrosion microbienne sur des gabions corrodés	3 mois
59-CETIM CERMAT	Analyses microbiologiques pour expertise de corrosion	1 mois
60-COGEA	Recherche de micro-organismes/biocorrosion	2 mois
61-M. BENEITO-Huissier de justice	Analyses microbiologiques sur des dépôts à la surface du bois (recherche de merule)	1 mois
62-FILTRAUTO	Analyse microbiologiques sur des filtres contaminés	3 mois
63-ALSTOM	Etude de corrosion sur 4 pièces corrodées provenant d'un circuit de refroidissement d'un navire	3 mois

2004

Société	Objet	Durée
64-COGEA	Etude de corrosion	4 mois
65-RITEAU	Programme de recherche sur la mise au point de capteur de biofilms pour les circuits industriels	12 mois
66-CREMA / ADRIA	Programme de recherche sur le relargage d'ions toxique par les matériaux métalliques dans le domaine de l'agro-alimentaire Communication : Denis C., Cadot P., Varin L., Barillier D., Poisson A., Dupont-Morral I. "Evaluation of chemical toxicity risks of biofilms in food products"- 2004 - Food Factory-Laval-Octobre	12 mois
67-CREMA FOUCHARD	Programme de recherche sur l'efficacité microbologique de flux divergents sur un plan de travail destiné à l'agro-alimentaire	10 mois
68-MEXEL	Test de l'efficacité biocide du Mexel 336H0 sur des micro-organismes « industriels »	3 mois
69-EDF Tours	Expertise biocorrosion	5 mois
70-PACKINOX	Expertise de biocorrosion sur les palplanches d'une piscine	6 mois
71-Conseil Général de la Manche	Expertise de corrosion	3 mois
72-FILTRAUTO	Recherche de bactéries pathogènes sur des filtres contaminés	2 mois
73-CETIM CERMAT	Analyses microbiologiques pour expertise de corrosion	2 mois
74-FILTRAUTO	Identification de moisissures sur des filtres contaminés	4 mois
75-JOHNSON SCREENS	Expertise de corrosion	3 mois
76-PACKINOX	Test efficacité biocides pour le traitement d'installation industrielle	6 mois
77-BRITTANY FERRIES	Mise en évidence de bactéries dans l'huile d'étambot de moteur	
78-ALSTOM	Expertise de corrosion	3 mois
79-Un des leaders de l'eau embouteillée	Confidentielle	8 mois
80-Port Autonome Nantes St Nazaire	participation au programme : thèse de S Pineau- 1ère tranche	12 mois
81-Port de Marseille	participation au programme : thèse de S Pineau - 1ère tranche	12 mois

2005

Société	Objet	Durée
82-Saint Gobain matériaux	Programme de recherche confidentiel	12 mois
83-COGEA	Expertise de Corrosion	3 mois
84-Garrot-Chaillac	Etude de l'agressivité des bétons	4 mois
85-Fugro France	Quantification de bactéries sulfurogènes dans le cadre d'une étude de sols	2 mois
86-Port du commerce de Cherbourg	Assistance à la maîtrise d'ouvrage	2 mois
87-FILTRAUTO	Essais de résistance à la contamination de filtres préconditionnés	6 mois
88-Société Générale de Géothermie	Conseils et analyses microbiologiques dans le cadre de process d'exploration de sols sous-marins	3 mois
89-Société Bretonne de Galvanisation	Expertise de biocorrosion sur une tonne à lisier	3 mois