HAL open science

Biodétérioration microbienne des déchets : définitions, principes et méthodes d'évaluation

Rémy Gourdon, Rémy Bayard, G. Valla

To cite this version:

Rémy Gourdon, Rémy Bayard, G. Valla. Biodétérioration microbienne des déchets : définitions, principes et méthodes d'évaluation. Environnement, Ingénierie & Développement, 1996, N°1 - 1er Trimestre 1996, pp.13-21. 10.4267/dechets-sciences-techniques.554 . hal-01963024

HAL Id: hal-01963024

https://hal.science/hal-01963024v1

Submitted on 29 Mar 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

BIODÉTÉRIORATION MICROBIENNE DES DÉCHETS : DÉFINITIONS, PRINCIPES ET MÉTHODES D'ÉVALUATION

R. Gourdon et R. Bayard, G. Valla*
Laboratoire de chimie physique appliquée et environnement (LCPAE) - Insa de Lyon /
Laboratoire de biosystématique et nuisances fongiques - Université Claude Bernard - Lyon

Lors de leur stockage ou de leur valorisation, les déchets peuvent être soumis à des agressions d'origine microbienne, même lorsque les conditions de stockage ou valorisation sont destinées à les réduire. Les mécanismes de biodétérioration peuvent être directs lorsque les micro-organismes transforment les constituants des déchets, ou indirects lorsque ce sont leurs métabolites qui sont agressifs. La biodétérioration peut s'avérer significative lorsque le déchet ou son environnement contient ou apporte des substances telles que matière organique, composés soufrés, composés azotés, fer. Elle peut être ralentie ou empêchée par des conditions physico-chimiques défavorables, notamment de faible teneur en eau, pH très alcalin et mauvaise oxygénation. Les méthodes d'évaluation reposent sur des essais accélérés qui tentent d'optimiser le contact déchet/micro-organismes, et des tests de simulation visant à reproduire le scénario de stockage ou utilisation envisagé.

During their re-utilization or after disposal, wastes may undergo various agressions of microbial origins, even when the scenario of disposal or utilization is designed to reduce them. The mechanisms of biodeterioration may be direct (when micro-organisms metabolize the constituents of the waste), or undirect (when the metabolites are responsible for the deterioration). Biodeterioration may have significant effects when the waste or its environment contains or provides such substances as organic matter, sulfur - or nitrogen - containing substances, or iron. It may be partly or totally inhibited under unfavorable physical-chemical conditions such as low water content, high pH and poor oxygenation. The methods of evaluation are based on accelerated assays designed to improve the contact between waste constituents and micro-organisms, and simulation tests designed to reproduce the conditions of disposal or utilization.

DÉFINITIONS

Au cours de son stockage ou de sa valorisation ou après banalisation, tout déchet est soumis à des agressions mécaniques, physico-chimiques, mais aussi biologiques lorsque son environnement est suffisamment humide et non stérile, ce qui est très généralement le cas. L'ensemble des agressions auxquelles le déchet est soumis vont induire sa détérioration.

Le verbe « détériorer » provient du latin *deterior* qui signifie « plus mauvais ». Détériorer signifie donc « mettre en mauvais état […], rendre moins bon, compromettre », et la forme pronominale « se détériorer » signifie « s'abîmer, subir des dégradations, devenir plus mauvais » (définitions extraites du Petit Larousse 1995). La détérioration, qui est l'action de (se) détériorer ou son résultat, désigne donc une réduction de qualité ou de valeur du système considéré (le système pouvant être un objet, un matériau, un organisme ou une situation donnée). La biodétérioration sera ainsi définie comme une réduction de la qualité ou de la valeur du système considéré dont la cause peut être, au moins partiellement, attribuée à des agents biologiques. Dans cet article, les agents biologiques considérés sont des micro-organismes, mais des organismes supérieurs peuvent également être des agents de biodétérioration.

On voit que les définitions retenues impliquent une appréciation du système en termes de « valeur » ou de « qualité ». Les paramètres d'appréciation varient bien évidemment en fonction du système considéré. Ils peuvent parfois être difficiles à évaluer, voire à définir, comme c'est le cas lorsque le système considéré est un ouvrage (au sens général du terme) de valorisation, stockage ou banalisation de déchets.

Ces considérations suggèrent au moins deux commentaires :

– d'une part, l'évaluation de la (bio) détérioration implique qu'il soit possible d'apprécier la « qualité » ou la « valeur » du système. Globalement, la « qualité » d'un système de valorisation, stockage ou banalisation de déchets pourra être appréciée par sa capacité à retenir les polluants qu'il contient (Ademe, travaux en cours) ;

– d'autre part, dans de nombreux cas, il sera difficile de distinguer la biodétérioration des autres détériorations abiotiques, car l'ensemble des agressions biologiques et abiotiques auront lieu simultanément.

A ce stade, il convient de bien distinguer les termes « biodétérioration » et « biodégradation ». Dans notre esprit, le terme de biodétérioration s'applique à des systèmes conçus

pour être relativement protégés des agressions microbiennes. La biodétérioration désigne donc une réduction de la « qualité » ou de la « valeur » du système et non pas leur perte, par opposition à la biodégradation. Cette définition rejoint celle de nombreux auteurs (Griffin et al., 1991 ; Rose, 1981 ; Eggins et Oxley, 1980 ; Calleja, 1980). Ce distinguo peut être fait dans le cas des déchets. Ainsi la mise en décharge d'ordures ménagères ou l'épandage de boues de stations d'épuration ne se conçoivent pas comme des systèmes destinés à protéger les déchets des agressions microbiennes. La biodégradation des ordures ménagères ou des boues dans ces scénarios ne sera donc pas considérée dans cet article. En revanche, l'enfouissement de déchets « ultimes », la banalisation de certains déchets ou leur utilisation comme matériaux de substitution constituent des systèmes visant respectivement à stocker ou à valoriser des déchets dans des conditions de stabilité optimales, y compris au niveau biologique. Les agressions microbiennes éventuelles entrent alors dans la définition donnée à la biodétérioration.

Les agressions microbiennes d'un matériau quel qu'il soit reposent sur la biotransformation des constituants de ce matériau (agressions ou biodétérioration directes) ou l'effet agressif de certains métabolites produits par biotransformations de substances se trouvant dans le matériau lui-même ou dans son environnement immédiat (agressions ou biodétérioration indirectes). Dans le cas des déchets comme dans la plupart des cas, il est clair que biodétériorations directe et indirecte peuvent se produire simultanément.

PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA BIODÉTÉRIORATION

Il est connu que les micro-organismes jouent un rôle important dans la détérioration des roches, minéraux, ciments, bétons et pierres d'ouvrage. De nombreux exemples de biodétérioration sont rapportés dans la littérature (se reporter par exemple à Janton, 1974 ; Berthelin, 1976 ; Krumbein, 1988 ; Caneva et al, 1989 ; Griffin et al, 1991). Les études réalisées sur la biodétérioration mettent en évidence que les micro-organismes accentuent l'action des autres agents agressifs. On parle de synergie lorsqu'il y a couplage de plusieurs agents agressifs (Krumbein et al, 1978). Cependant, pour certains auteurs, la biodétérioration est typiquement un processus secondaire de dégradation qui apparaît lorsque le matériau a atteint un certain degré de détérioration (Griffin et al, 1991).

Les micro-organismes susceptibles de détériorer un déchet dans un système de stockage, de banalisation ou de valorisation, peuvent provenir de l'environnement direct du déchet (sol, eau, air, autres déchets) ou du déchet lui-même. Leurs caractéristiques métaboliques sont très variées.

Généralités sur les métabolismes microbiens

Le métabolisme énergétique de tous les êtres vivants repose sur des réactions d'oxydo-réduction. Cela signifie que les organismes vivants retirent l'énergie nécessaire à leur vie en oxydant des substrats (qualifiés de donneurs d'électrons et de protons) et en réduisant un ou des accepteurs.

Du fait des conditions d'environnement très variées des différents biotopes de la planète, le monde microbien est très diversifié et ses capacités métaboliques très vastes. La vie microbienne est ainsi possible dans des environnements extrêmes. De nombreuses substances peuvent être utilisées par les micro-organismes comme substrats donneurs d'électrons et comme accepteurs finals de ces électrons (pour plus de détails, se reporter notamment à Pelmont, 1993).

Réactions d'oxydation - Substrats oxydables

Lorsque les réactions d'oxydo-réduction sont induites par l'excitation lumineuse de certains pigments cellulaires, les organismes compétents sont qualifiés de phototrophes. Les procaryotes phototrophes appartiennent à deux groupes :

– Les cyanobactéries (« algues bleues ») qui pratiquent la photosynthèse sur le même mode que les plantes vertes (c'est-à-dire avec production d'oxygène par lyse de l'eau) ;

– les rhodospirillales (bactéries pourpres et bactéries vertes) dont le métabolisme est anaérobie strict (à part quelques espèces) et non producteur d'oxygène. Ces bactéries photolithotrophes utilisent comme sources d'électrons des substances minérales telles que H_2, H_2S, S ou d'autres composés soufrés réduits. Certaines bactéries photo-organotrophes (bactéries non sulfureuses) peuvent oxyder des composés organiques.

Lorsque les réactions d'oxydo-réduction ont lieu en l'absence de lumière, les organismes compétents sont qualifiés de chimiotrophes. Les micro-organismes chimiotrophes sont très nombreux et très divers.

Les substrats organiques oxydables par les chimio-organotrophes sont extrêmement nombreux. Ces micro-organismes sont à l'origine des principales agressions microbiennes possibles sur un déchet, dès lors que sa fraction organique est suffisante, biodisponible et biodégradable.

Les substrats minéraux oxydables par les micro-organismes chimio-lithotrophes sont également assez variés. On peut citer par exemple :

– le soufre et les composés réduits du soufre tels que H_2S (*Thiobacilles* notamment) ;

– l'ammoniac (*Nitrosomonas*) ;

– les ions nitrite (*Nitrobacter*) ;

– le fer (II) (*Thiobacillus, Gallionella* et *Leptothrix*) et le Mn(II) (*Leptothrix*).

Réactions de réduction - Substances pouvant jouer le rôle d'accepteurs finals

Une substance quelconque (substrat ou donneur) ne peut être oxydée que si une autre substance (accepteur) peut, en se réduisant, accepter les électrons arrachés à la première. Cela est thermodynamiquement possible si, dans les conditions du milieu, le potentiel du couple donneur est inférieur à celui du couple accepteur. Les micro-organismes sont capables de catalyser, c'est-à-dire d'accélérer de manière considérable, les réactions de transfert d'électrons entre des donneurs, qui nous l'avons vu sont de nature très variée,

et des accepteurs qui sont eux-mêmes très divers. Ces accepteurs peuvent être minéraux ou organiques.

Un accepteur très courant chez les organismes chimiotrophes est l'oxygène moléculaire O_2. Le potentiel normal du couple $O_2/2\ H_2O$ est de + 810 mv, ce qui rend possible l'oxydation de très nombreux substrats. Les organismes compétents sont qualifiés d'aérobies. Les aérobies stricts ne peuvent se passer d'oxygène, alors que les aérobies facultatifs peuvent utiliser, en l'absence d'oxygène, d'autres accepteurs de remplacement.

Des substances minérales autres que l'oxygène ou des substances organiques peuvent être utilisées comme accepteurs finals d'électrons. Les micro-organismes compétents sont qualifiés d'anaérobies stricts s'ils sont incapables d'utiliser l'oxygène ou anaérobies facultatifs s'ils peuvent utiliser l'oxygène lorsqu'il est présent. Notons que pour ces derniers, l'utilisation de l'oxygène est préférée (lorsqu'il est présent) car l'énergie récupérée est plus grande qu'avec la plupart des autres accepteurs à cause du potentiel élevé du couple $O_2/2H_2O$. Les principaux composés ou éléments pouvant jouer le rôle d'accepteurs d'électrons et de protons sont les suivants :

– Substances organiques diverses qui peuvent être initialement présentes dans le milieu ou être issues du métabolisme des micro-organismes.

– Formes minérales oxydées de l'azote : Nitrate (très grand nombre d'espèces), nitrite et oxydes d'azote (certaines espèces d'*Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodobacter*, *Thiobacillus*...).

– Soufre (Bactéries sulfo-réductrices telles que des *Desulforomonas* et bactéries méthanogènes telles que *Methanosarcina barkeri*) et sulfate (bactéries sulfato-réductrices telles que des *Desulfovibrio, Desulfolobus,* etc.).

– Formes minérales du carbone (CO_2, hydrogénocarbonates) pour les bactéries méthanogènes (*Methanobacterium, Methanococcus*...).

– Le Fer (III) et le Mn (IV) pour de nombreuses espèces bactériennes anaérobies strictes ou facultatives, en tant que contribution secondaire à leur métabolisme énergétique (*Vibrio, Bacillus, Clostridium*), et par un nombre restreint d'espèces encore mal caractérisées en tant que contribution principale ou unique (Pelmont, 1993). Le couple Fe^{3+}/Fe^{2+} a un potentiel élevé de + 770 mV en conditions normales, ce qui en fait un bon oxydant. Le potentiel normal du couple MnO_2/Mn^{2+} est de + 380 mV.

– D'autres éléments à l'état oxydé, tels que As (V) (Benjamin et Honeyman, 1994), U (VI), et Se (VI) pour des bactéries telles que *Geobacter metallireductens* ou *Thiobacillus denitrificans* pour U (VI), *Clostridium propionicum* et *C. Sticklandii* pour As (V) et Se (VI) (Jones et al., 1988).

Il faut souligner que pour les métaux, certaines réactions d'oxydo-réduction sont effectuées par des micro-organismes comme mécanismes de défense vis-à-vis de la toxicité du métal, et non pas pour leur métabolisme énergétique. C'est le cas notamment du mercure, qui, en anaérobiose, peut être méthylé et réduit en Hg° volatil par des bactéries diverses (*Thiobacillus, Pseudomonas,* etc.). De même, il a été montré que plusieurs espèces appartenant aux genres *Pseudomonas* ou *Bacillus* sont capables de réduire le Cr (VI) en Cr (III) moins toxique (Romaneko et al., 1977 ; Horitsu et al., 1987).

Tableau I : Facteurs et paramètres principaux pour l'étude de la biodétérioration des déchets

Facteurs prépondérants	Paramètres prépondérants
Conditions d'alimentation en eau et composition de la solution apportée	Teneur en eau ou activité en eau, et capacité de rétention de l'eau
Température	Granulométrie
pH, Eh et force ionique (salinité)	Porosité
Exposition à la lumière	pH, Eh et force ionique
Aération et/ou teneur en oxygène dissous dans l'eau	Biomasse microbienne
Apports[1] extérieurs de substances susceptibles de stimuler l'activité microbienne, et notamment : – composés organiques biodégradables – soufre S, composés réduits du soufre – sulfates SO_4^{--} – azote ammoniacal NH_3 – nitrates NO_3^{--} – phosphates HPO_4^{--} ou autres formes biodisponibles du phosphore	Présence[1] et biodisponibilité[2] de substances sources d'énergie pour les organismes chimiotrophes, notamment : – carbone organique (CO) – soufre S, composés réduits du soufre – azote ammoniacal NH_3 – Fer II Biodégradabilité intrinsèque de la fraction organique du déchet
Exposition à l'air (banalisation, valorisation comme tuiles ou briques,...)	Présence[1] et biodisponibilité[2] de composés accepteurs d'électrons (dans le cas de milieux non aérés), et notamment : – nitrates NO_3^{--} – sulfates SO_4^{--} – CO_2 dissous ou hydrogénocarbonates HCO_3^{--} – Fer (III), Mn (IV)
Exposition à un autre milieu naturel microbiologiquement actif. Ce milieu peut être notamment un sol (enfouissement, soubassements...), un milieu marin (digues...), des eaux de surface (berges...)	Présence[1] et biodisponibilité[2] de nutriments divers même à faibles teneurs, et notamment de sources d'azote et dephosphore
Exposition à un milieu non naturel microbiologiquement actif. Notamment, présence d'autres déchets dans l'environnement immédiat	Présence de substances biocides ou biostatiques à ces concentrations toxiques

1. Si ces substances ne sont initialement ni présentes dans le déchet, ni apportées par l'extérieur, il faut penser qu'elles peuvent être produites au cours du temps par biotransformations de substances contenues dans le déchet ou dans le milieu extérieur.

2. La biodisponibilité est liée notamment à la solubilité des différentes espèces chimiques considérées, ainsi qu'à leur accessibilité aux micro-organismes (elle-même liée à la granulométrie et la porosité du déchet).

Facteurs et paramètres importants de la biodétérioration

Un certain nombre de facteurs (grandeurs externes au déchet) et de paramètres (grandeurs caractéristiques intrinsèques du déchet) doivent être considérés pour évaluer la possibilité qu'un déchet donné puisse subir certaines agressions microbiennes dans des conditions d'environnement données. Ces facteurs et paramètres sont cités dans le tableau 1.

Parmi ceux-ci, la teneur en eau et le mode d'alimentation en eau sont prépondérants. Un développement microbien n'est possible que dans des milieux ayant des activités en eau comprises entre 0,60 et 0,99 environ. La granulométrie et la porosité influent sur la surface de contact et donc sur la réactivité du déchet. Les pH alcalins peuvent inhiber la croissance microbienne bien que des adaptations soient possibles en milieu non immergé. Enfin, les autres facteurs et

paramètres déterminants sont principalement ceux qui régissent le métabolisme énergétique des micro-organismes : exposition à la lumière, conditions d'oxygénation, température, présence ou apport de composés ou éléments donneurs et accepteurs d'électrons.

Mécanismes de la biodétérioration directe

Les mécanismes directs d'interaction se caractérisent par une métabolisation de la matière organique ou minérale du déchet qui est de ce fait altéré directement. Ces phénomènes sont possibles notamment pour les déchets contenant une fraction organique biodégradable par divers micro-organismes chimio-organotrophes si l'humidité est suffisante. Les déchets riches en soufre ou en composés soufrés, en fer ou en manganèse, sont également a priori susceptibles de subir une biodétérioration directe en aérobiose.

Biodégradation de composés organiques

Les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et/ou d'énergie par les micro-organismes s'ils leur sont accessibles et s'ils sont biodégradables. Dans le cas de déchets massifs ou granulaires, l'agression a lieu dans un premier temps à la surface solide par des enzymes exocellulaires et/ou fixation des micro-organismes sur la surface (d'où l'importance de la porosité). Les moisissures peuvent accéder à des substances moins superficielles grâce à la pénétration de leur mycélium. Ce sont surtout les micro-organismes à forte activité hydrolytique qui se développent si le déchet contient des polymères organiques biodégradables. L'hydrolyse des polymères par les enzymes exocellulaires excrétés par ces micro-organismes libère des oligomères ou des monomères qui peuvent servir de sources de carbone à ces mêmes micro-organismes ou à d'autres espèces non hydrolytiques. Les métabolites ainsi libérés sont généralement beaucoup plus hydrosolubles que la fraction organique initiale du déchet. D'autre part, ils peuvent avoir un comportement agressif vis à vis du déchet lui-même ou d'autres déchets, entraînant leur biodétérioration indirecte. Enfin, la production de métabolites gazeux (CO_2, CH_4 en anaérobiose) peut avoir des effets néfastes importants interdisant certains types d'utilisation ou de stockage, ou nécessitant des mesures particulières (collecte des gaz).

Consommation et transformation de composés minéraux

Nous avons vu que le soufre et ses dérivés réduits, des composés réduits de l'azote, le Fer (II) et le Mn (II) peuvent servir de substrats donneurs d'électrons à de nombreux micro-organismes. Un déchet contenant ces substances minérales pourra donc être le siège de biotransformations en aérobiose. La production d'acides sulfurique ou nitrique par oxydation aérobie du soufre ou de l'ammoniac peut engendrer des agressions indirectes. Quant à l'oxydation du fer (II) ou du Mn (II), elle tend généralement à réduire la solubilité de ces éléments (formation possible de $Fe(OH)_3$ et MnO_2 très peu solubles).

A l'inverse, les formes oxydées de ces éléments peuvent, en anaérobiose, jouer le rôle d'accepteurs finals d'électrons. Ainsi, la réduction des ions sulfate en sulfures peut diminuer considérablement la solubilité des métaux éventuellement présents. En revanche, la réduction de nitrates en ammonium peut induire la solubilisation de métaux par formation de complexes.

Altérations mécaniques

La croissance des micro-organismes sur le déchet, ainsi qu'à l'intérieur des pores, modifie les propriétés de surface. Dans le cas des déchets massifs, la porosité de surface (rugosité) peut ainsi être augmentée significativement par éclatement des pores résultant, entre autres phénomènes, de la croissance et de la pénétration des mycéliums de diverses moisissures. Ces phénomènes peuvent être amplifiés par des cycles éventuels de gel-dégel dans les conditions d'utilisation ou de stockage des déchets. D'autre part, si le déchet est exposé à la lumière, la croissance d'algues en surface apporte une source de matière organique utilisable par d'autres micro-organismes hétérotrophes. Cette association est bien connue dans les lichens et les altérations des pierres des monuments historiques.

Mécanismes de biodétérioration indirecte

Les mécanismes indirects concernent l'altération du déchet par les métabolites libérés par les micro-organismes. Ces phénomènes sont souvent prépondérants dans la biodétérioration des matériaux minéraux, et peuvent être couplés à des mécanismes directs comme nous l'avons vu précédemment. Ils sont relativement bien connus dans les processus d'altération de la pierre et du béton. On peut distinguer les processus principaux suivants :

– production d'acides minéraux ou organiques,
– production d'agents complexants,
– production d'agents oxydants.

La production d'acides peut être liée à l'oxydation du soufre ou de produits soufrés par des bactéries (principalement du genre *Thiobacillus*), à la formation d'acide nitrique par les bactéries nitrifiantes, ou à la fermentation de matières organiques par des bactéries acidogènes. Les acides produits peuvent altérer les déchets en accélérant la solubilisation de la matrice (cas des déchets solidifiés) ou en solubilisant des substances insolubles à des pH neutres ou basiques. De même, les agents complexants (acide citrique, ions ammonium, polyphosphates, etc.) et les agents oxydants (Fe^{3+}, ...) peuvent accélérer la solubilisation de divers composés.

Les agressions microbiennes indirectes ne doivent pas être considérées comme des interactions purement chimiques. En effet, si le mécanisme d'altération est bien chimique, la production de l'agent d'altération est microbienne. Le processus ne pourrait donc pas avoir lieu (ou alors beaucoup plus lentement) sans intervention microbienne. D'autre part, la production microbienne de l'agent agressif peut avoir lieu à l'intérieur des pores du déchet solide, ou être localisée dans des zones particulières du déchet. L'altération

qui en résulte peut être très différente de celle qu'on observerait avec le même agent présent en solution dans la phase aqueuse en contact avec le déchet.
Les mécanismes de biodétérioration indirecte sont particulièrement importants lors du mélange de plusieurs déchets (par exemple en sites d'enfouissement). Ainsi, la biodégradation anaérobie d'un déchet organique peut conduire à la libération d'acides organiques et d'ions ammonium capables de solubiliser des métaux présents dans un autre déchet exclusivement minéral.

CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DES PROCÉDURES D'ÉVALUATION DE LA BIODÉTÉRIORATION DES MATÉRIAUX

Généralités et définitions

Il n'existe pas à notre connaissance, en France comme à l'étranger, de procédures normalisées spécifiques à l'évaluation de la biodétérioration des déchets solides massifs, granulaires ou pulvérulents. Les tests proposés au Canada par le Wastewater Technology Center (WTC) pour l'évaluation des déchets stabilisés et solidifiés sont des tests américains de l'ASTM (American Society for Testing and Materials) destinés en fait à l'évaluation des plastiques. Aux États-Unis, il n'y a pas non plus de procédures spécifiques et on se réfère également, en cas de nécessité, aux normes ASTM (voir Méhu et al., 1993 et Landreth, 1980). Les articles scientifiques publiés sur le sujet rapportent généralement des recherches portant sur la biodégradation ou sur les mécanismes de biodétérioration davantage que sur les méthodes d'évaluation.
Il existe en revanche, en France et à l'étranger, de nombreuses procédures normalisées destinées à évaluer la résistance de divers types de matériaux aux agents biologiques. Ces procédures peuvent, moyennant un certain nombre de modifications, être adaptées à l'étude de l'altération microbienne des déchets.
On peut distinguer trois grandes catégories de tests :
– Tests en milieu de culture artificiel solide
– Tests en milieu de culture artificiel liquide
– Tests de simulation (plus ou moins complexes, mettant en œuvre un milieu réel ou simulant la réalité).
Le tableau 2 donne les caractéristiques des principales normes d'évaluation de la biodétérioration des matériaux. Des méthodes dérivées de certaines de ces normes ont été utilisées dans le cadre de procédures d'évaluation du comportement à long terme de déchets stabilisés (WTC, 1990 ; Ministère de l'Environnement, 1991).
L'approche classique consiste à mettre en contact le matériau pendant quelques semaines avec un agent microbien (généralement une souche pure ou un mélange de souches pures de micro-organismes) dans des conditions favorables au développement microbien. Puis, après la période d'incubation, les paramètres de description du matériau sont mesurés et comparés aux paramètres initiaux. La biodétérioration est donc mesurée par la diminution (altération) des caractéristiques essentielles du matériau (réduction de sa « qualité » ou de sa « valeur »).
On cherche souvent à conduire les tests dans des conditions qui favorisent la croissance des micro-organismes afin de réduire la durée des tests, et on travaille pour cela en présence d'un milieu de culture artificiel. On parle alors de « tests accélérés ». En fonction du degré d'optimisation des conditions expérimentales, on pourra parler, comme on le fait déjà pour caractériser la biodégradation des substances chimiques , de « biodétérioration facile » ou de « biodétérioration intrinsèque » (Nyholm, 1991 ; OCDE, 1992 ; Cabridenc 1993).
Cependant, ces tests ne fournissent qu'une information partielle souvent difficilement utilisable pour prévoir correctement l'évolution dans les conditions réelles. En effet, l'influence du milieu extérieur peut être considérable dans l'évolution biologique d'un déchet, du fait notamment des mécanismes de biodétérioration indirecte qui peuvent s'avérer prépondérants. Il est donc souvent nécessaire de chercher à reproduire ou à simuler les conditions réelles d'environnement qui seront celles du matériau ou du déchet lors de son utilisation ou de son stockage. On s'oriente alors vers des « tests de simulation », qui sont généralement plus longs et plus complexes que les tests accélérés.
La transposition des procédures mises au point pour un type de matériau (généralement les plastiques ou les peintures dans les procédures normalisées) à un autre type de matériau (les déchets considérés ici) n'est envisageable qu'après adaptation des conditions expérimentales. Les principaux facteurs qui doivent être reconsidérés sont la nature de l'inoculum, le mode d'inoculation, les conditions d'incubation, et la composition du milieu d'incubation.

Nature de l'inoculum

Il existe trois types d'inoculum :
– utilisation d'une souche pure,
– utilisation d'un mélange de souches pures,
– utilisation d'une microflore complexe.
On peut également envisager un quatrième cas où aucun inoculum exogène n'est apporté. Cette approche peut être intéressante dans le cas des déchets puisqu'elle permet d'évaluer l'activité potentielle des micro-organismes endogènes. Elle présente cependant l'inconvénient de rendre nécessaires des durées d'incubation parfois très longues.

Souche pure
Il s'agit de micro-organismes bien étudiés et qui ont la propriété d'être assez ubiquistes comme par exemple *Pseudomonas aeruginosa* (utilisé dans le test ASTM G22-76). Dans le cas des déchets qui sont susceptibles de contenir un mélange de différentes substances organiques et minérales, l'utilisation d'une souche pure peut s'avérer trop restrictive. En effet, la souche inoculée risque de ne pas être capable de dégrader l'ensemble des polluants organiques considérés, et certains polluants organiques peuvent n'être biodégradables que par une association de micro-organismes différents. Ainsi il nous apparaît plus judicieux de travailler

Biodétérioration microbienne des déchets

Tableau 2 : Caractéristiques des principales normes d'évaluation de la biodétérioration des matériaux

				Conditions d'incubation					Témoins		Évaluation de la biodétérioration		
Norme	Titre	Matériaux testés	Tests proposés	Inoculum	Ensemencement	Température (C°)	Humidité (%)	Durée	Témoin stérile	Contrôle de la viabilité de l'inoculum	Analyse visuelle	Variation de masse	Autres paramètres physiques suivant matériau testé
ASTM G21-90	Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to Fungl	Polymères de plastiques	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé synthétique sans carbone exogène	Suspension de spores de champignons : 5 souches pures	Pulvérisation de la suspension	28 - 30	85	21 jours	Non	Oui	Oui	Oui	Suivi des variations des propriétés optiques, mécaniques et électriques du matériau
ASTM G22-76	Standard practice for detrmining resistance of plastic to bacteria	Matériaux plastiques	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé synthétique sans carbone exogène	Suspension bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa* (souches pures)	Inoculum incorporé à une gélose fondue et refroidie à 45°C	37	85 minimum	21 jours	Non	Oui	Oui	Oui	Suivi des variations des propriétés optiques, mécaniques et électriques du matériau
ASTM D3273	Resistance to growth of mould on the surface of interior coating in an environnemental chamber	Peinture	Test en chambre avec atmosphère contrôlée	Non	Non	?	95	?	Non	Non	Oui	?	?
DIN 53739 (1967)	Résistance des matières plastiques aux agents de dégradation biologiques	Matériaux plastiques	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé synthétique : Méthode A : sans carbone Méthode B : avec carbone	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores de champignons : 5 espèces dont 2 différentes des tests précédents	Pulvérisation ou étalement	28	85	28 jours	Oui pour test A	Oui : essai sur milieu synthétique + carbone organique	Oui	Oui	Non
			Test d'enfouissement dans une terre naturelle (30 % d'humidité)	Non	Non	Ambiante	Étuve avec 90	De 6 à 24 mois	Non	Non	Oui	Oui	Oui : résistance à la traction
NF X41-513	Protection des matières plastiques - Partie 1 - Méthode d'essai de resistance des constituants aux micro-organismes (évaluation du degré de comestibilité et effet fongistatique)	Matières plastiques	Tests en boîte de Petri avec ou sans source de carbone organique	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores de champignons : 12 souches pures	Inoculum mélangé à la gélose à 45°C	30	95	De 14 à 28 jours	Oui	Oui : essai sur tissu de coton	Oui	Oui	Oui : résistance à la traction
NF X41-514	Protection des matières plastiques - Partie 2 - Détermination du comportement sous l'action des champignons et des bactéries - Évaluation par estimation visuelle ou par mesurage des variations de masse ou de caractéristiques physiques	Matières plastiques	Tests en boîte de Petri avec ou sans source de carbone organique exogène pour essai champignon et sans carbone exogène pour essai bactérie	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores champignons (même inoculum que DIN 53739), ou inoculum bactérien (*pseudomonas aeruginosa*)	Suspension de spores déposée avec une pipette sur échantillons. Suspension bactérienne mélangée à la gélose	30	> 90 %	28 jour ou plus	Oui	Oui : sur milieu nutritif complet	Oui	Oui	Oui : dépend du matériau testé
			Test d'enfouissement dans une terre naturelle (30 % d'humidité)	Non	Non	30	Terre < 30 %	14 à 28 jours	Oui : autoclave 120°C 30 min 3 fois	Oui	Non	Oui	Oui : dépend du matériau testé
NF X41-515	Méthode d'essai de résistance des matériels et appareillages aux micro-organismes		Cf. NF X41-513										
NF 41-520	Protection - Méthode d'essai de résistance des peintures et de leur pouvoir de protection	Peintures	Tests en boîte de Petri avec (action fongistatique) ou sans source de carbone organique exogène (comestibilité)	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores de champignons : 10 souches pures - Soit dans l'eau distillée soit dans milieu nutritif sans carbone	Pulvérisation ou avec une pipette de préférence	30	Incubation dans une étuve à 95 % d'humidité	14 jours	Non	Oui	Oui	Non	Oui : résistance à l'éclatement de la peinture
			Essai d'enfouissement dans le sol	Terre constituée d'un mélange tamisé à l'avance, de terre de jardin, de terreau, de fumier d'herbivore et de sable de rivière, pH de 5 à 7,5 et C/N entre 8 et 15	Non	30	Humidité du sol de 30 % environ, et incubation dans une étuve à 95 % d'humidité	14 jours	Non	Oui : contrôle de l'activité biodégradative du sol	Non	Non	Oui : résistance à l'éclatement de la peinture
			Exposition en chambre tropicale	Au fond de la chambre, terreau et feuilles en décomposition + suspension de spore de 10 champignons	Pulvérisation de la suspension de spores, au moment de la première mise en service de la chambre	30	95	De 1 à 6 mois	Non	Non	Oui	Non	Oui : résistance à l'éclatement de la peinture

avec des micro-organismes seuls, plutôt qu'avec une souche recommandée a priori. On peut également envisager une présélection de souches capables de métaboliser les constituants du déchet. Cette démarche a été suivie pour étudier par exemple la détérioration de la matrice cimentaire de déchets radioactifs solidifiés (Rogers et McConnell, 1988 ; Perfettini, 1989).

Mélange de souches pures

C'est le cas des tests américains de biodétérioration des plastiques ASTM D 5247-92 et G21-90 et du test français de résistance aux champignons NF X 41-514, dont l'objectif est d'évaluer l'action des champignons sur les matériaux polymériques synthétiques. Dans les 2 dernières procédures, l'inoculum recommandé est une suspension de « spores » de différents champignons. La procédure D 5247-92 laisse quant à elle le choix entre un mélange de 3 espèces de *Streptomycès* (bactéries), une moisissure (*Phanenochaete chrysosporium*), ou tout(s) autre(s) micro-organisme(s) jugé(s) adéquat(s).

Ces tests sont nettement moins restrictifs que les tests de résistance aux bactéries qui n'emploient qu'une seule souche. En revanche, les espèces fongiques sélectionnées pour évaluer la biodétérioration des matières plastiques risquent de ne pas convenir à l'évaluation de la biodétérioration des déchets. Il nous semble, d'une manière générale, plus judicieux d'utiliser une microflore complexe.

Microflore complexe

C'est l'approche choisie par exemple pour le test normalisé français de Demande Biochimique en Oxygène (DBO), NFT 90.103, ainsi que pour de nombreuses autres procédures normalisées étrangères mises au point pour les rejets liquides, les agents de surface ou les substances chimiques solubles (Essai de Sturm modifié, Essai MITI modifié, essai de screening de l'OCDE, etc.). Les tests consistent à travailler avec la microflore déjà présente dans le milieu récepteur ou l'effluent, ou provenant d'autres milieux naturels ayant déjà été en présence de la substance étudiée, ou plus généralement apportée par une boue de station d'épuration urbaine. Citons également les tests de l'ASTM développés pour la détermination de la biodégradation aérobie ou anaérobie des plastiques en présence de boues de stations d'épuration urbaines aérobies (D 5209-92 et D 5271-93) ou anaérobies (D 5210-92), ou dans des conditions de compostage (D 5338-92).

Mode d'inoculation

Il dépend de la nature du test. On peut envisager d'apporter l'inoculum sous forme d'une suspension de micro-organismes ou de spores fongiques qui sera soit diluée dans le milieu d'incubation (tests en milieu liquide noyé), mélangée à la gélose en surfusion (tests en boîtes de pétri) ou « aspergée » à la surface du déchet solide (tests en chambre d'incubation ou sur boîtes de pétri).

Conditions d'incubation

Les conditions d'incubation dépendent de la nature du test et du type d'inoculum utilisé. Elles sont choisies pour favoriser la croissance des micro-organismes et optimiser la biodétérioration (tests accélérés) ou pour simuler les conditions réelles de stockage ou d'utilisation du matériau. On distingue plusieurs critères :

– Durée de l'incubation : 28 jours dans la plupart des cas. Pour les déchets, cette durée peut être notablement accrue (jusqu'à plusieurs mois).

– Température : 25-30°C si on utilise des micro-organismes mésophiles (cas général).

– Aération : Nécessaire pour les essais aérobies, elle est obtenue par agitation ou insufflation d'air dans les essais en milieu liquide, ou par contact avec l'air dans les autres cas. Les essais de biodégradation anaérobie doivent, eux, être conduits en l'absence totale d'oxygène, ce qui fait préférer les tests en milieu noyé d'où l'oxygène dissous est purgé initialement à l'azote (ECETOC, 1989).

– Lumière : elle est nécessaire si on travaille avec des micro-organismes phototrophes. Au contraire, l'obscurité est préférée si l'inoculum est constitué de micro-organismes chimiotrophes (cas général) afin d'éviter les phénomènes éventuels de photodégradation. Pour les tests anaérobies, l'obscurité est indispensable car le développement d'algues est à proscrire pour éviter la libération d'oxygène par photosynthèse.

– Humidité : au moins 85 %.

– pH du milieu : entre 6 et 8 en général. Notons que le déchet testé peut influencer le pH du milieu de culture, ce qui conduit à utiliser des milieux tamponnés ou à contrôler le pH en cours de test.

– Contact déchet/micro-organismes/milieu de culture : Il doit être le meilleur possible si l'on cherche à accélérer les phénomènes pour réduire la durée des tests. Pour les déchets solides, on est conduit souvent à réduire la granulométrie pour augmenter la surface de contact. Cependant, les dimensions des échantillons testés dépendent des essais que l'on veut effectuer sur le déchet après la période d'incubation, et on peut vouloir également, le cas échéant, respecter la structure massive du déchet pour simuler l'évolution dans des conditions plus proches de la réalité.

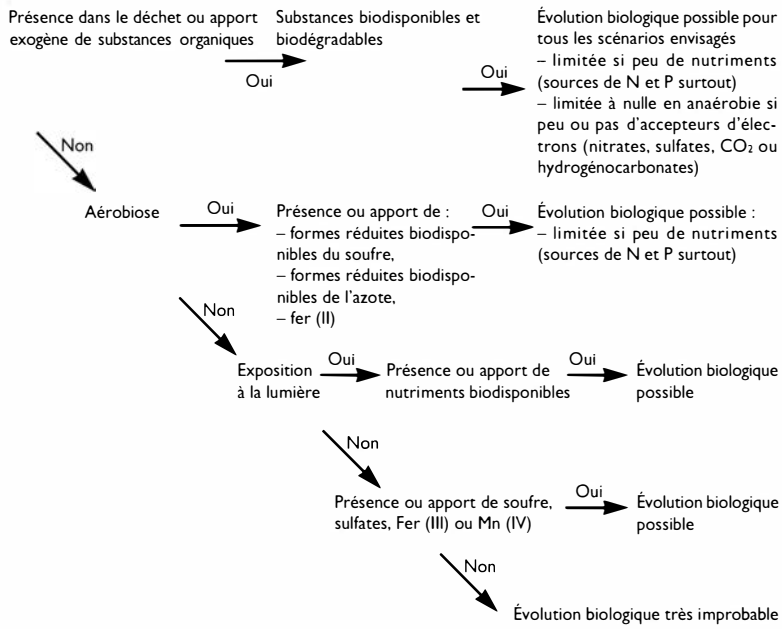

Figure 1 : synthèse des principaux facteurs et paramètres susceptibles d'influencer la biodétérioration d'un déchet

Composition du milieu de culture

La vitesse de biodétérioration des déchets dépend, entre autres facteurs, de la disponibilité des nutriments minéraux et de la source de carbone pour les micro-organismes.

– Nutriments minéraux : Dans les tests en milieu liquide ou sur boîte de pétri, le milieu nutritif apporte généralement les nutriments nécessaires aux micro-organismes afin d'accélérer la biodétérioration éventuelle du déchet.

– Source de carbone : Dans la plupart des tests, aucun substrat carboné exogène n'est ajouté au milieu. Les micro-organismes hétérotrophes ne peuvent alors satisfaire leur besoin en carbone organique qu'à partir des matériaux testés. Toutefois, l'altération de certains composés requiert la présence d'une source de carbone supplémentaire qui permet d'induire une activité microbienne et rend possible soit une biodétérioration indirecte, soit un métabolisme fortuit des polluants du déchet (phénomène de cométabolisme). Signalons les normes européenne ISO 846-1978 et française NF X 41-514 qui proposent l'exposition des plastiques aux micro-organismes avec ou sans source de carbone supplémentaire dans le milieu.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Les points abordés dans cet article peuvent être synthétisés par la figure 1. Comme toute synthèse, cette figure doit être utilisée avec prudence. La figure ne prétend pas en effet rendre compte de toutes les situations possibles. En outre, elle ne considère pas les paramètres et facteurs physico-chimiques importants que sont la température, le pH, la teneur en eau et le mode de contact avec l'eau, la capacité d'absorption en eau, la granulométrie et la porosité.

On peut distinguer trois axes principaux dans lesquels des travaux de recherche apparaissent encore nécessaires malgré le nombre important d'articles publiés sur la biodétérioration des roches, des minéraux et des matériaux. Ces trois axes de recherche sont les suivants :

– étude des différents types possibles de biotransformations et de leurs mécanismes,

– étude des effets des développements microbiens (c'est-à-dire des résultats de la biodétérioration),

– prévision de ces effets par le biais de modélisations.

Dans le domaine de la biodétérioration des déchets, ce sont surtout les deux derniers axes qui semblent prioritaires, mais cependant il paraît difficile d'étudier de manière relativement exhaustive les effets des biotransformations et de modéliser ces phénomènes sans une connaissance suffisante des différents types de biotransformations.

L'axe de recherche à privilégier pour l'heure dans le domaine de la biodétérioration des déchets est sans doute celui portant sur l'étude des effets de la biodétérioration. En effet, si les méthodes d'évaluation de la biodétérioration permettent bien de déterminer si un développement microbien est possible, elles ne renseignent que très imparfaitement sur les effets du développement microbien sur les « qualités » du déchet.

La prévision des phénomènes par le biais de leur modélisation est l'objectif ultime, mais il apparaît nécessaire dans un premier temps d'acquérir les données expérimentales permettant de bâtir puis de valider les modèles.

*** R. Gourdon, R. Bayard**
Laboratoire de chimie physique appliquée et environnement (LCPAE) - Insa - Bât. 404, 20 avenue A. Einstein - 69621 Villeurbanne cedex

*** G. Valla**
Laboratoire de Biosystématique et Nuisances Fongiques - Université Claude Bernard - Bât. 405 - 69622 Villeurbanne cedex

Cet article a été rédigé sur la base d'études bibliographiques et de réflexions conduites notamment dans le cadre d'un programme portant sur l'écocompatibilité des déchets financé par l'Ademe. Les auteurs souhaitent remercier l'Ademe pour son soutien, ainsi que les équipes collaborant au programme pour les nombreuses discussions fructueuses sur le sujet, et notamment Y. Perrodin (Polden Insavalor), coordonnateur scientifique du programme.

Bibliographie

Ademe (en cours) Programme de recherche sur l'écocompatibilité des déchets

American Society for Testing and Materials, (1993). *ASTM Standards on environmentally degradable plastics*. P.C. Fazio et al, Eds, Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 64 pages.

American Society for Testing and Materials, (1990). *Standard Practice for Determining Resistance of Synthetic Polymeric Materials for Fungi*. ASTM G21-90. Annual Book of Standard, Part 35.

American Society for Testing and Materials, (1976). *Standard Practice for Determining Resistance of Plastic to Bacteria*. ASTM G22-76. Annual Book of Standard, Part 35.

American Society for Testings and Materials, (en cours de développement). Standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials under contolled composting condition and standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions. ASTM D-20.96.

Benjamin, M.M. & Honeyman, B.D. (1994) *Trace metals. In Global Biogeochemical Cycles*, Academic Press Limited, Londres.

Berthelin, J. (1976). *Étude expérimentale des mécanismes d'altération des minéraux par des micro-organismes hétérotrophes*. Thèse : Université Nancy I, 198 p.

Cabridenc, R. (1993) *L'approche de la biodégradabilité au laboratoire*. Colloque SCE Ecotox, 8-12 mars 1993.

Caneva, G. & Salvadori, O. (1989). *Biodeterioration of stone*. In : The deterioration and conservation of stone, ed. L. Lazzarini, p. 182-234.

ECETOC (1989) *Évaluation de la biodégradation anaérobie*, Rapport Technique N°28, Nov. 1989, ISBN 2-86988-022-7, 41 pages.

Eggins, H.O et Oxley, T.A. (1980) International Biodeterioration Bulletin, 16, 53.

Griffin, P.S., Indictor, N. & Koestler, R.J. (1991). *The biodeterioration of stone : a review of Deterioration mechanisms, Conservation Case Histories, and Treatment*. International Biodeterioration, 28, 187-207.

Horitsu, H. Futo, S., Miyazawa, Y., Ogai, S. & Kawai, K. (1987) *Enzymatic reduction of hexavalent chromium by hexavalent chromium tolerant Pseudomonas ambigua G 1*. Agric. Biol. Chem., 51, 2417-2420.

International Organization for Standardization Plastics - *Determination of behaviour under the action of fungi and bacteria - evaluation by visual examination or measurement of change in mass or physical properties*. ISO 846 1978 (E), 10 p.

Janton, C. (1974). *Attaque des pierres calcaires et des bétons. Dégradation microbienne des matériaux*. Collection Colloques et Seminaires. 28. Technip. Paris.

Jones, D., Wilson, M.J. & McHardy, W.J. (1988). *Effects of lichens on mineral surfaces*. In Biodeterioration, Houghton, D.R., Smith, R.N., Eggins, H.O.W. (Eds), Elsevier. New York, p. 129-134.

Krumbein, W. E. (1988). *Microbial interaction with mineral materials*. In Biodeterioration 7, eds. D. R. Houghton, R. N. Smith, & H. O. W. Eggins. Elsevier, New York, p. 78-100.

Krumbein, W. E. & Lange, C. (1978). *Decay of plaster, paintings and walls material of the interior of buildings via microbial activity*. In environmental Biogeo-chemistry and Geomicrobiology, vol 2 : the Terrestrial Environment, ed, W. E. Krumbein, Ann Arbor Science. Ann Arbor, MI, 687-697.

Landreth, R.E. (USEPA) (1980) *Guide to the disposal of chemically stabilized and solidified wastes*, Rapport EPA-IAG N° D4-0569, 114 pages.

Méhu, J., Gourdon, R. & Gobey A. (1993). *Étude comparative et critique des normes et procédures retenues au plan international pour évaluer le potentiel polluant des déchets solidifiés*. Rapport de contrat 91-3002 réalisé pour l'Association RE.CO.R.D., janvier 93, 149 pages.

Ministère de l'Environnement (1991) *Protocole de lixiviation des déchets solidifiés et solides massifs*, rapport de contrat N° 237 01 89 40152, SRETIE/MERE/89210.

Norme Française NF X 41 513 (1961). Protection des matières plastiques, 1ère partie. Méthode d'essai de résistance des constituants aux micro-organismes. 8 p.

Norme Française NF X 41 514 (1981). Protection des matières plastiques, 2ème partie. Détermination du comportement sous l'action des champignons et des bactéries ; évaluation par estimation visuelle ou par mesurage des variations de masse ou de caractéristiques physiques. 16 p.

Norme Française NF X 41 515 (1961). Protection. Méthode d'essai de résistance des matériels et appareillages aux micro-organismes.

Norme Française NF X 41-520 (1968). Protection. Méthode d'essai de résistance des peintures aux micro-organismes et de leur pouvoir de protection. 23 p..

Nyholm, N. (1991) *The european system of standardized legal tests for assessing the biodegradability of chemicals*. Environ. Toxicol. Chem., 10, 1237-1246.

OCDE (1992) Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Section 3 : Dégradation et accumulation. Adoptées le 17-7-92.

Pelmont, J. (1993) *Bactéries et environnement - Adaptations physiologiques*. Presses Universitaires de Grenoble, 899 pages.

Perfettini, J. (1989). *Étude de l'altération d'un matériau d'enrobage des déchets radioactifs, le ciment CPA, par les micro-organismes hétérotrophes isolés de milieux naturels*. Thèse : Université de Droit, d'Économie et des Sciences d'Aix-Marseille III, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérome, Centre d'Etude Nucléaire de Cadarache, 276 p.

Rogers, R.D. & McConnell, J.W. (1988). *Biodegradation testing of radioactive waste forms*. Environmental Monitoring and Assessment, 11, 89-100.

Romanenko, V.I. & Koren'Ken, V.N. (1977) *A pure culture of bacteria utilizing chromates and bichromates as hydrogen acceptors in growth under anaerobic conditions*. Microbiology, 46, 414-417.

Rose, A. H. (1981). *Economic microbiology*, vol 6, p. 1-18. Rose A. H. (ed), Academic Press, London.

WTC. Wastewater Technology Center (1990). *Proposed evaluation protocol for cement-based solidified wastes*. Environmental Protection Agency (EPA), Service Research and development. Ontario Ministry of the Environment, Waste Management Branch.

Association Française des Ingénieurs et Techniciens de l'Environnement

Bulletin d'adhésion à l'Afite

A remplir de façon détaillée et à renvoyer à l'Afite 9, rue de Rocroy - 75010 Paris (Tél. : (1) 40 23 0450)

NOM : ..... Prénom : .....

Fonction : ..... Service : .....

Société / Administration / Organisme : .....

Domaine d'activité de l'activité : .....

Adresse professionnelle : .....

..... Tél. : ..... Fax : .....

Autre adresse éventuelle pour envoi du courrier : .....

Spécialité : ❑ eau ❑ air ❑ bruit ❑ déchets ❑ risques technologiques ❑ autre (préciser)

Je désire adhérer à l'AFITE et joins par chèque à l'ordre de l'AFITE ma cotisation de :

❑ 600,00 Frs (1996), je suis en activité professionnelle

❑ 300,00 Frs (1996), je suis en retraite ou en recherche d'emploi (sous réserve d'une déclaration sur l'honneur)

Date : Signature :

Le « Club de rencontres » des PROFESSIONNELS de L'ENVIRONNEMENT INDUSTRIEL

afite 1200 membres