LA BIODETERIORATION DES MATÉRIAUX ÉTAT DES LIEUX

Nous nous proposons dans cette première partie de dresser un état des lieux sur la biodétérioration des matériaux de construction en général, et plus particulièrement des matériaux cimentaires. Nous nous intéresserons ensuite aux micro-organismes de l'étude, à travers la présentation des champignons microscopiques, des souches sélectionnées, et des différentes méthodes de quantification de la biomasse[*] fongique. Enfin, nous aborderons un aspect plus physico-chimique en décrivant les caractéristiques des matrices cimentaires.

De nombreux matériaux de construction sont sujets à la colonisation par les micro-organismes. Cette colonisation est responsable de changements dans la couleur, et les propriétés chimiques ou physiques du matériau. Depuis la fin des années 60, ces changements ont été regroupés sous les termes de « biodégradation » et « biodétérioration » (Guillitte, 1995) selon les auteurs. Afin d'éviter les confusions, et par soucis de clarté pour la suite, nous entamons ce chapitre par quelques définitions.

1. Biodétérioration ou biodégradation ?

H. J. Hueck définit dès 1965 la biodétérioration comme étant « *tout changement indésirable dans les propriétés d'un matériau causé par l'activité vitale d'organismes* ». La biodégradation est généralement associée à « *l'exploitation, par l'homme, des capacités de décomposition d'organismes pour rendre un déchet plus utile ou plus acceptable* » (Hueck, 1965 ; Allsopp et al, 2003). Eggins et Oxley (1980) tentent d'approfondir ces définitions. Selon les auteurs, la biodétérioration est vue comme un processus qui diminue la valeur et la biodégradation comme un qui l'accroît, mais les deux sont identiques en principe, la distinction étant basée uniquement sur les besoins humains. Conventionnellement, la

[*] Biomasse : masse totale (quantité de matière) de toutes les espèces vivantes présentes en un milieu donné.

biodétérioration se réfère aux dommages causés aux matériaux, constructions, et processus de valeur relativement élevée tandis que la biodégradation se réfère seulement aux matériaux et se distingue par le traitement biologique principalement parce qu'elle s'applique aux matériaux de valeur basse ou même négative.

Urzì (2006) définit la biodégradation comme une transformation irréversible causée par des organismes de tout type de matériaux (organique ou inorganique) en environnement naturel. La biodétérioration est qualifiée de transformation irréversible causée par des organismes de tout type de matériaux (organique et inorganique) qui présentent une valeur économique, historique ou artistique.

Selon la norme ISO 846 : 1997, sur l'évaluation de l'action des micro-organismes sur les plastiques, la biodétérioration est définie comme étant la « *variation des propriétés chimiques ou physiques d'un matériau provoquée par l'action d'un micro-organisme* ». Cette définition semble néanmoins un peu restrictive dans le sens où les changements relatifs à l'aspect esthétique ne sont pas abordés. En ce qui concerne la biodégradation, le terme fait l'objet de discussions au sein du comité technique.

Il apparaît à travers ces définitions que les termes « biodétérioration » et « biodégradation » ne peuvent être employés pour décrire le même phénomène. Ce travail fait l'objet d'une étude sur la biodétérioration, et nous retenons la définition suivante : « changement indésirable engendré par l'activité d'organismes vivants, des propriétés (esthétique, chimique, physique) d'un matériau (organique ou inorganique) présentant une valeur économique, historique ou artistique.

2. Les facteurs influençant la biodétérioration

La composition du matériau utilisé et son état de conservation, les conditions environnementales et climatiques favorables (température, humidité, pluie, exposition au soleil, polluants organiques et inorganiques) peuvent créer de bonnes conditions, parfois même optimales, pour le développement des organismes sur la surface (détérioration esthétique), et/ou jusqu'à des couches plus profondes (détérioration physique/mécanique et chimique) (Urzì et al., 2000). L'estimation de la contribution biologique dans la détérioration des pierres commence par la description du type de pierre/bâtiment, y compris la présence d'eau (par exemple, humidité qui monte du sol, défauts d'écoulement de l'eau, humidité de

condensation), et des nutriments (par exemple, composés organiques ou inorganiques issus de sources naturelles ou anthropogéniques[*]) (Warscheid et Braams, 2000).

2.1. Bioréceptivité

En 1995, Guillitte définit le concept de la bioréceptivité comme « *l'aptitude d'un matériau à être colonisé par un ou plusieurs groupes d'organismes vivants sans nécessairement induire une biodétérioration* ». La bioréceptivité peut aussi être définie comme l'ensemble des propriétés du matériau qui contribuent à l'installation, l'accrochage, et le développement de la faune et/ou de la flore. La bioréceptivité dépend donc des propriétés intrinsèques de la matrice, telles que sa composition, la porosité, la perméabilité, ou encore la rugosité.

2.1.1. Influence de la composition de la matrice

La surface de la matrice est utilisée comme support pour la croissance, mais aussi comme source de nutriments par les micro-organismes. Sa composition minérale ou organique, de même que son pH, ont une influence sur le type de micro-organismes et les espèces sélectionnées (Dubosc, 2000).

2.1.2. La porosité

La porosité du support influence l'absorption et la rétention par le matériau d'eau après les intempéries ou une humidification quelconque (Dubosc, 2000). Des valeurs de porosité élevées (environ 14% vol) permettent une pénétration en profondeur de l'humidité à l'intérieur du matériau, préparant la voie pour une contamination microbienne[*] jusqu'à 3-5 cm. Les matériaux possédant de larges pores favorisent une contamination microbienne temporaire, à cause de leur faible rétention d'eau. Les matériaux à petits pores, avec des temps de rétention d'eau plus longs, offrent des conditions plus favorables pour la colonisation par les micro-organismes (Warscheid et al., 1989a, 1993). La plupart des micro-organismes peuvent se développer à des humidités relatives (HR) comprises entre 60 et 98%.

[*] Anthropogénique : lié aux activités humaines.

[*] Microbe : vient du grec *mikros*=petit, et *bios*=vie. Ce mot désigne tous les micro-organismes visibles au microscope comme les bactéries, les champignons, ou plus petit encore comme les virus. Dans le langage familier, se dit de tout micro-organisme pathogène.

2.1.3. La rugosité

Elle influence l'accrochage des cellules apportées par le vent, surtout celles qui sont véhiculées par un écoulement sur un mur. D'autre part, le bullage de surface peut créer des zones de rétention d'eau favorables aux algues (Dubosc, 2000).

2.2. Les conditions environnementales

Les conditions environnementales, telles que le vent, la pluie, la neige, l'exposition au soleil, la pollution, … jouent un double rôle dans la biodétérioration. D'une part, elles contribuent au vieillissement naturel du matériau (Warscheid et Braams, 2000), et modifient donc sa bioréceptivité. D'autre part, elles ont une influence directe sur le développement des micro-organismes créant selon les cas un environnement propice ou néfaste à la colonisation microbienne. Ces dernières années, les activités urbaines et industrielles ont modifié la composition de l'atmosphère, créant un environnement plus agressif, qui accélère la détérioration des matériaux. Le dioxyde de soufre est l'un des composés gazeux majeurs des atmosphères polluées en environnement urbain. Comme l'oxydation du dioxyde de soufre conduit à la formation d'acide sulfurique, il y a une forte corrélation entre la sulfatation des roches calcaires et les concentrations en SO_2. L'attaque des roches calcaires par l'acide sulfurique conduit à la formation de gypse. Pendant la cristallisation du gypse, les particules organiques des polluants, les particules carbonées, la poussière, le pollen, etc. s'accumulent à la surface des bâtiments et sont piégés dans la matrice minérale. Cela aboutit à la formation d'une croûte dure, de couleur grise à noire (Saiz-Jimenez, 1993). Manifestement, cette croûte enrichit le substrat et les composés anthropogéniques peuvent influencer, de façon importante, la colonisation et le modèle de croissance des micro-organismes sur les pierres situées dans un environnement pollué en comparaison à la croissance des micro-organismes sur un matériau similaire en environnement rural (Saiz-Jimenez, 1997).

Par opposition, une faible exposition à la lumière défavorise le développement d'organismes photosynthétiques, c'est-à-dire qui ont besoin de lumière pour produire leur énergie.

3. Les mécanismes de la biodétérioration

Dans l'environnement naturel, il est difficile, si ce n'est impossible de séparer l'influence biologique de l'impact physique et/ou chimique. Mais en se basant sur les connaissances actuelles sur la biodétérioration des pierres, nous pouvons éliminer l'approche purement abiotique* dans l'analyse et l'évaluation de la détérioration des pierres (Warscheid et Braams, 2000). Les effets néfastes du développement des micro-organismes sur les matériaux de construction s'échelonnent de l'altération de l'aspect esthétique aux changements des caractéristiques physiques et/ou chimiques (Planche 1). Les dommages principaux dérivés de l'activité métabolique des organismes sont associés aux mécanismes physiques, chimiques et esthétiques, tandis que l'intensité des dommages est directement corrélée aux types et dimensions de l'organisme impliqué, au type de matériau et à son état de conservation, aux conditions environnementales, à l'exposition, au type et niveau de la pollution atmosphérique (Tiano, 2001).

3.1. La biodétérioration esthétique

Le développement de micro-organismes à la surface des matériaux est responsable de changements dans l'aspect esthétique, diminuant généralement sa valeur économique (Planche 1). Néanmoins, dans certains cas ce développement est souhaité et encouragé. Cela peut donner du charme à certaines bâtisses en milieu rural ou harmoniser un mur colonisé en d'autres endroits (Dubosc, 2000). On peut appliquer, pour favoriser les développements biologiques, un lavage avec du fumier de vache et de l'eau. Des traitements plus élaborés sont également mis au point. Ils sont à base de nutriments et de cellules congelées et séchées (Jones, 1987).

3.2. La biodétérioration chimique

L'action chimique est imputable à la production de divers métabolites, qui agissent par assimilation ou dissimilation. Lors des processus d'assimilation, les constituants du matériau sont utilisés comme nutriments après avoir été réduits par diverses enzymes extracellulaires

* Abiotique : qualifie un milieu où la vie n'existe pas, ou dans lequel la vie est impossible.

qui facilitent la pénétration des hyphes* dans le matériau (Boissier, 2003). Les processus de dissimilation sont liés à la production d'acides organiques et de pigments. Les acides organiques sont capables de réagir avec le substrat par dissolution des cations ou par chélation des ions métalliques. Le dioxyde de carbone produit par tous les organismes aérobies, notamment les moisissures lors de la respiration, joue également un rôle dans la dégradation des supports. En effet, à partir d'un certain taux d'humidité, ce gaz peut se transformer en acide carbonique, capable de dissoudre le calcium et le magnésium pour former des bicarbonates de calcium et de magnésium hydrosolubles (Boissier, 2003 ; Warscheid et Braams, 2000 ; Sand, 1997). Outre l'action directe de ces acides, leur production favorise la croissance d'espèces fongiques acidophiles qui pourront poursuivre la dégradation du support (Sand, 1997 ; Garg et al., 1995 ; Singh, 1994).

3.3. La biodétérioration physique

Il s'agit de la pression exercée par les micro-organismes sur le matériau pendant sa croissance. Ce sera le cas des hyphes pour les champignons, ou des racines pour des systèmes plus complexes comme les mousses et les lichens (Warscheid et Braams, 2000 ; Sand, 1997). Les champignons peuvent être responsables de l'écaillage et de l'exfoliation de la surface, ils peuvent engendrer également des lésions comme de petits cratères (Urzì et al., 2000b).

4. Les organismes impliqués dans la biodétérioration

L'étude de la communauté microbienne est généralement réalisée en utilisant les méthodes de culture traditionnelles, ce qui favorise l'identification des souches à croissance rapide, mais tend à sous-estimer la part de souches à croissance plus lente. Actuellement moins de 10% des micro-organismes ont été découverts dans des écosystèmes individuels, et ces méthodes de culture sont partiellement inadéquates pour l'étude de la composition de la communauté microbienne naturelle. Il est reconnu que probablement plus de 90% des micro-organismes présents dans les biens culturels ne sont pas découverts. Ceci a une importance majeure, étant donné que la plupart des travaux de restauration utilisent les biocides conventionnels qui ne conviennent probablement pas aux communautés microbiennes complexes et inconnues qui se

* Hyphes : vient du grec *hyphe* = tissu, filaments longs, fins et ramifiés à structure cellulaire qui constituent les mycètes.

développent sur et sous les surfaces (Saiz-Jimenez, 2000). D'autre part, il faut également souligner que la présence d'un organisme sur un matériau détérioré n'implique pas nécessairement qu'il en est la cause (Saiz-Jimenez, 1997 ; De Leo et Urzì, 2006).

4.1. Les macro-organismes

Les oiseaux, en particulier les pigeons, causent de remarquables dégâts sur le plan esthétique et de la détérioration chimique par l'intermédiaire du guano[*]. Il y a également une multitude d'autres organismes vivants qui vivent sur et à l'intérieur de la texture minérale, tels que les araignées, moustiques…. (Urzì et al., 2000). Nous pouvons également citer les plantes, les mousses et lichens responsables entre autres d'une détérioration esthétique, mais aussi d'une importante détérioration chimique et physique. Les lichens provoquent aussi bien une détérioration physique que chimique ; les métabolites acides solubilisent et désintègrent le substrat (Nimis et al., 1992).

4.2. Les micro-organismes

Généralement, tous les types de micro-organismes – bactéries, cyanobactéries, algues, champignons – sont capables d'attaquer et de dégrader les matériaux (Sand, 1997). Plusieurs groupes microbiens coexistent en même temps, sur un même matériau. Toute biodétérioration qui se produit est probablement le résultat d'interactions microbiennes complexes (Warscheid et Braams, 2000).

4.2.1. La succession biologique

Les micro-organismes sont sélectionnés naturellement selon le pH et les nutriments disponibles. Le développement des premiers colonisateurs modifie les paramètres physico-chimiques de la surface, rendant possible la colonisation par de nouvelles espèces, les seconds colonisateurs, et ainsi de suite, on parle alors de succession biologique. La colonisation du béton est un excellent exemple de succession microbienne, comme l'illustre Roberts et al.. (2002) dans leurs travaux sur la biodétérioration des tuyaux d'égouts : dès que le pH de surface est réduit à ~9, et avec suffisamment de nutriments, d'humidité et d'oxygène, certaines espèces de bactéries comme *Acidithiobacillus sp.* peuvent s'accrocher à la surface

[*] Guano : nom donné aux excréments des oiseaux et des chauves-souris.

du béton et se reproduire. Ils identifièrent 5 espèces de *Acidithiobacillus* se développant pour une gamme de pH allant de 10 à 0,5. Donc, selon les caractéristiques physico-chimiques, une ou deux espèces se développent au détriment des autres. On parle alors de succession biologique (Figure 1). Les bactéries sont généralement les premiers colonisateurs, car elles peuvent se développer sur tout type de support et sur des gammes de pH étendues (Dubosc, 2000).

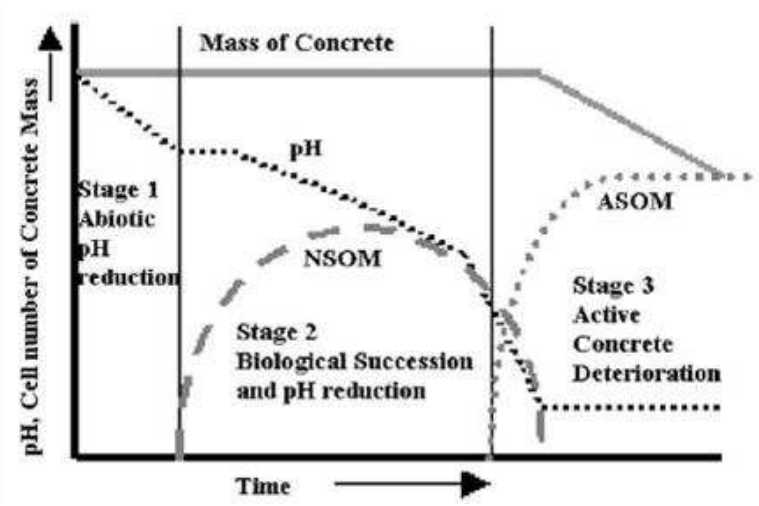


Figure 1 : Evolution théorique des propriétés biologiques et physiques du béton en fonction du temps d'exposition – NSOM: Neutrophilic sulfur-oxidizing micro-organisms ; ASOM: Acidophilic sulfur-oxidizing micro-organisms (Selon Roberts et al., 2002)

4.2.2. Le biofilm

Les micro-organismes vivant sur des substrats inorganiques forment des communautés plus ou moins complexes structurées en biofilm, ou en tapis microbien. Les biofilms microbiens sont des assemblages de cellules microbiennes encastrées dans une matrice complexe de substances polymériques complexes (EPS). En fait, les EPS représentent le ciment qui permet le développement microbien et assure son adhésion au substrat, protègent les cellules de la déshydratation, et représentent un accumulateur de carbone organique. Elles jouent un rôle important dans la formation du biofilm. Les biofilms microbiens se développent pratiquement sur tous les substrats inorganiques, altérant la couleur originale et l'aspect par le développement d'une population avec des pigments variés, en piégeant la poussière, la suie et la matière particulaire dans les EPS. Généralement, la pollution environnementale représente une source de nutriments, augmentant considérablement la croissance du biofilm microbien et ainsi le processus de détérioration (Tomaselli, 2002).

4.2.3. Les bactéries

Ce sont des organismes unicellulaires procaryotes (cellules sans noyau véritable). Elles peuvent être autotrophes ou hétérotrophes. Un organisme autotrophe est capable de synthétiser lui-même les matières organiques qui le composent à partir de l'oxydation de composés minéraux. En revanche, un organisme hétérotrophe utilise des molécules organiques préformées, réduites, comme sources de carbone. Il existe une telle variété d'espèces que l'on considère que tout support est obligatoirement colonisé par des bactéries (Dubosc, 2000). Elles sont capables (i) de se lier aux particules cristallines et d'être ainsi plus persistantes à la surface de la roche et dans le réseau poreux, (ii) de solubiliser $CaCO_3$ via la production de métabolites acides et/ou à travers la respiration et le rejet de CO_2, (iii) de précipiter les carbonates, oxalates ou autres minéraux et de contribuer ainsi à la formation de croûtes (Urzì *et al*., 2000).

Les bactéries sont largement impliquées dans la formation du biofilm sur les pierres et sont responsables de changements considérables dans les propriétés physico-chimiques de la structure minérale (Warscheid et al., 1991 ; 1996). Elles utilisent une large variété de nutriments, et sont, de ce fait, capables de servir toute la microflore par la cassure de composés faiblement dégradables, comme les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques et contribuent à la stabilisation de la microflore sur les pierres (Warscheid et al., 1991 ; Ortega-Calvo et Saiz-Jimenez, 1996 ; Zanardini et al. 2000).

La colonisation des matériaux par les bactéries sulfo-oxydantes, ou nitrifiantes dépend de la présence de composés réduits soufrés et azotés (H_2S, S, SO_3^{2-}, NH_3, NO_2^-). La biodétérioration par les bactéries sulfo-oxydantes *Acidithiobacillus* sp. a été décrite en premier en France et au Cambodge (Pochon et al., 1960 ; Pochon et Jaton, 1967, 1968 ; Jaton, 1973). Dans une série d'étude, Parker et son équipe établirent que la présence de Thiobacilli acidophiles est corrélée à la dégradation du béton en isolant *Acidithiobacillus concretivorus* (renommée *Acidithiobacillus thiooxidans*), et *Acidithiobacillus* sp., de tuyaux d'égouts corrodés (Gu, 1998). Des études montrent que la biodétérioration des pierres par les bactéries nitrifiantes en chambre de simulation se produit à des taux 8 fois supérieurs comparé à un processus d'altération purement chimique (Warscheid et Bramms, 2000).

4.2.4. Les champignons

Les champignons sont des organismes eucaryotes (cellules à noyau). Ils sont dépourvus de chlorophylle et donc incapables de photosynthèse : ils sont hétérotrophes vis-à-vis du carbone,

c'est-à-dire qu'ils ont besoin d'une source extérieure de carbone (Dubosc, 2000 ; Kumar et Kumar, 1999). Les déchets issus d'algues et de bactéries (ou les cellules mortes de ces micro-organismes), les feuilles mortes, et les fientes d'oiseaux constituent une source de carbone (Kumar et Kumar, 1999). Les champignons peuvent être considérés comme les organismes associés à la biodétérioration des matériaux organiques et inorganiques les mieux armés (De Leo et Urzì, 2006). Ils sont omniprésents et attaquent une grande variété de substrats, tels que le textile, le cuir, le papier, les pierres, le bois, le plastique, la peinture, les matériaux de construction etc. (Khandelwal, 2001). Ils sont capables de pénétrer à l'intérieur du matériau par la croissance des hyphes et par une activité corrosive, due à l'excrétion d'acides organiques ou à l'oxydation de composés de la matrice. Leur activité de détérioration inclut la décoloration de la surface des matériaux, par l'excrétion de mélanine par les champignons *Dematiceous* (Warscheid et Braams, 2000). La biodétérioration par les champignons est détaillée dans le chapitre suivant.

4.2.5. Les algues et les cyanobactéries

Les algues sont des organismes eucaryotes (cellules à noyau) autotrophes[*]. Les cyanobactéries, également appelées algues bleues ou cyanophycées, sont des organismes procaryotes, autotrophes. Elles possèdent de la chlorophylle *a* et d'autres pigments, d'où leur couleur qui peut varier beaucoup, mais qui est en principe bleu, ce qui explique leur nom. Elles utilisent également la photosynthèse comme source d'énergie (Prescott et al., 2003). Les principales conditions pour le développement algal sont : l'humidité, la chaleur, la lumière et des nutriments inorganiques (Kumar et Kumar, 1999).

On pensait que les micro-organismes phototrophes[*] n'avaient pas d'effets directs sur la détérioration des pierres, excepté d'un point de vue esthétique due à leurs pigments (Pietrini et al., 1985 ; Urzì et al., 1992). Certains auteurs parlent même de film protecteur à la surface de la pierre, sous certaines conditions climatiques (e.g. environnement tropical), qui régule l'humidité et la température (Wendler et Prasartset, 1999 ; Warscheid et Braams, 2000). Néanmoins, d'autres études ont souligné l'importance des organismes phototrophes dans la détérioration physique et chimique des pierres, spécialement lorsqu'ils sont alimentés par la

[*] Autotrophe : désigne un organisme capable de synthétiser par lui-même les matières organiques qui le composent à partir d'éléments minéraux.

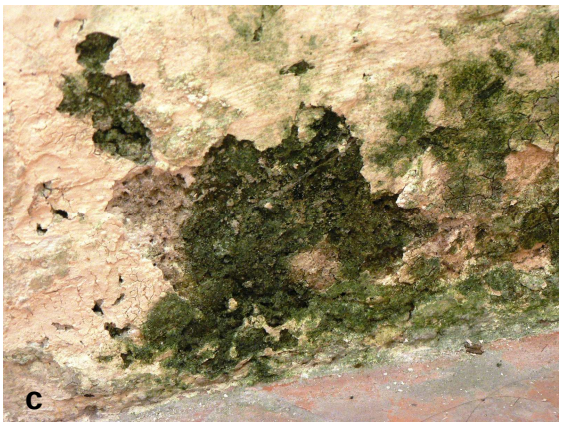
[*] Phototrophe : désigne un organisme qui utilise la lumière comme source d'énergie.

pollution anthropogénique sous climats modérés. Ces processus de biodétérioration sont caractérisés entre autres par (i) l'excrétion d'acides organiques corrosifs particulièrement sur le marbre et les roches calcaires (Arino et al., 1997), (ii) l'assimilation et l'accumulation de soufre et de calcium dans leurs cellules (Ortega-Calvo et al., 1994). L'accumulation de biomasse photosynthétique constitue une base excellente de nutriments organique pour la microflore hétérotrophe suivante et leur activité de biodétérioration (Caneva et salvadori, 1989). Cependant leur présence sur la surface des pierres n'implique pas forcement une action destructive. Le développement de la flore algale observé sur la surface de monuments situés en Asie, en Europe et en Amérique n'est en générale pas influencé par la composition chimique du substrat. La colonisation et la croissance sont plutôt influencées par le climat et les conditions environnementales. Les espèces les plus communes appartiennent aux genres des (i) cyanobactéries filamenteuses : *Phormidium, Microcoleus* et (ii) des algues : *Klebsormidium, Tentepohlia*. Des formes unicellulaires, par exemple les cyanobactéries *Gloeocapsa* et *Chroococcus*, et les algues *Chlorella* et *Chlorococcum*, sont également observées (Ortega-Calvo et al., 1995, Gaylarde et Gaylarde, 2005).

Planche 1 (ci-après) : Exemples de biodétérioration de matériaux en environnement naturel. (a) Détail de la statue de l'Ange présente au musée de Messine avec une pigmentation noire due à la colonisation fongique (De Leo, 2005), (b) Tuyau d'égout détérioré suite à l'activité bactérienne, (c) et (d) détail d'une corniche présente au musée de Ravello, le développement d'algues est responsable de la coloration verte, (e) crypte de la Villa Ruffolo (Ravello) avec un développement microbien important, (f) et (g) détail d'une corniche de la cathédrale d'Amiens, avec le développement de mousses, lichens et plantes.

b

a


c

d

e
Villa Ruffolo (Italie)

f

g

5. Les techniques d'analyse et de caractérisation

Comment étudier les micro-organismes responsables de la biodétérioration ? On va distinguer le travail sur site et en laboratoire. Sur site, il faut tout d'abord procéder à une estimation des caractéristiques de l'altération, puis en faire une description, dresser une cartographie et compléter la documentation par des photographies. Après avoir déterminé la meilleure procédure (destructive ou non) à utiliser, vient l'étape d'échantillonnage avec le prélèvement. Puis en laboratoire, nous pouvons utiliser les méthodes microscopiques pour l'observation, les analyses culturales avec l'identification des isolats, et les analyses moléculaires des populations colonisatrices (Figure 2) (Urzì, 2005).

Différentes techniques optique, chimique, et physique peuvent être utilisées pour l'étude de l'impact microbien sur les matériaux de construction. Les techniques optiques les plus utilisées sont l'observation directe, la microscopie optique, la pétrographie de section mince, la microscopie électronique à balayage (environnementale), la microscopie laser confocale, et la microscopie à force atomique. Les techniques physiques les plus communes sont l'assimilation d'eau, la porosimétrie, la thermogravimétrie, les analyses thermiques différentielles, les mesures de perte de masse. Parmi les techniques chimiques importantes, nous pouvons citer la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, l'analyse de la dispersion d'énergie des rayons X, la diffraction des rayons X, chromatographie échangeuse d'ions, chromatographie liquide haute performance, spectroscopie d'émission atomique (Welton et al., 2005).

5.1. Les techniques biologiques

5.1.1. Echantillonnage

L'échantillonnage et le suivi de la croissance biologique sur les matériaux de construction doivent être réalisés en utilisant des techniques qui sont non seulement non contaminantes, et si possible non destructives. Plusieurs méthodes non destructives ont été proposées pour la mise en évidence directe ou indirecte de la colonisation microbienne. Procédures avec aiguilles et seringue, empreinte sur agar, mesure de l'activité microbienne, détection des bactéries par fluorescence des anticorps, techniques de bioluminescences, et dosage de l'ATP ont été décrites par plusieurs auteurs (Eckhardt, 1978 ; May et Lewis, 1988 ; Hirsh et al., 1995 ; Wollenzien et al., 1995 ; Ranalli et al., 2000). Cependant, malgré leur indéniable utilité, ces techniques ne donnent aucune information sur les relations entre les micro-

organismes et la surface même (Urzì et De Leo, 2001). L'utilisation de bandes adhésives, technique empruntée à la mycologie clinique, a été utilisée pour la première fois par Gargani en 1968 dans le domaine du patrimoine culturel pour mettre en évidence la croissance de champignons sur des fresques après les inondations de 1966 à Florence (Gargani, 1968 ; Urzì et De Leo, 2001 ; Welton et al., 2005). Les bandes adhésives sont appliquées délicatement sur la surface de la pierre et sont placées immédiatement sur une lame de microscope stérile et sont conservées dans une boîte jusqu'au laboratoire. Les bandes sont ensuite coupées en petits morceaux pour l'observation au microscope et l'analyse culturale. L'utilisation de bandes adhésives est une technique simple qui offre plusieurs avantages : (i) elle est non destructive et peut être utilisée pour suivre la colonisation microbienne sur une période donnée, (ii) c'est une méthode peu chère qui ne requiert aucun instrument excepté un microscope, (iii) elle montre les relations existantes entre la surface et les micro-organismes colonisateurs (étape de croissance), diffusion des micro-organismes à l'intérieur de la matrice, (iv) cette méthode met en évidence les relations qui existent entre les communautés microbienne (par exemple micro-organismes dominants), (v) cette technique permet l'identification de micro-organismes isolés. Parmi les méthodes destructives, nous pouvons citer l'utilisation du scalpel pour gratter et prélever un échantillon de la surface du matériau colonisé (Urzì et De Leo, 2001).

5.1.2. Méthodes de cultures

Les méthodes de culture ont pour but de quantifier, d'isoler et de réaliser une caractérisation taxonomique, biochimique, et physiologique des micro-organismes présents. L'identification est basée sur la macro-morphologie des colonies qui se sont développées sur différents milieux de culture, et sur la micro-morphologie des structures reproductives. Dans certains cas, des méthodes moléculaires telles que le séquençage complet des gènes de l'ADNr, offrent la possibilité d'identifier et de caractériser des espèces qu'il est impossible de reconnaître par les procédures morphologiques, biochimiques, et physiologiques traditionnelles. Ces méthodes donnent également des informations sur la phylogénie des souches (De Leo et Urzì, 2005).

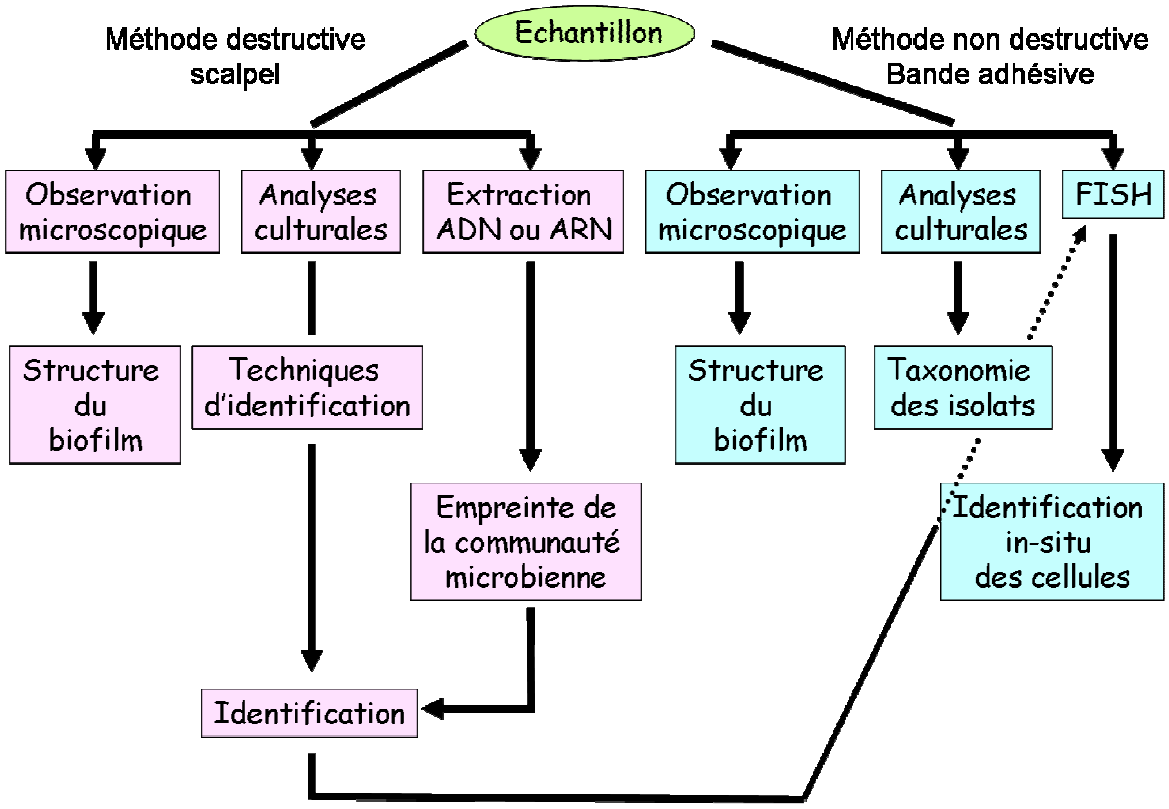


Figure 2 : Méthodologie schématique pour l'étude microbiologique de la biodétérioration selon les techniques d'échantillonnage (Urzì, 2005)

5.1.3. Méthodes moléculaires

Actuellement, une approche pour étudier la communauté microbienne est l'utilisation de techniques moléculaires comme la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) et la SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) (Rolleke et al., 1998 ; Pinar et al. 2001 ; Urzì et al., 2003c). Le but de ces techniques est de caractériser la communauté microbienne totale (micro-organismes cultivables et non cultivables) par extraction de l'ADN total et amplification à l'aide d'amorces universelles de l'ADNr 16S. L'électrophorèse des fragments amplifiés est réalisée sur gel de polyacrylamide dans un gradient dénaturant en urée et formamide (DGGE), ou après digestion d'un des deux filaments d'ADN (SSCP). Dans les deux cas, les bandes obtenues correspondent à une seule espèce microbienne. Ces techniques sont largement utilisées pour la caractérisation de la communauté bactérienne sur des échantillons de pierre prélevés sur différents monuments (Rolleke et al., 1998 ; Pinar et al., 2001). Vaestrate et al. (2001) ont utilisé des méthodes moléculaires pour déterminer les communautés microbiennes présentes sur les parois en béton de tuyaux d'égouts (Vincke et

al., 2001). L'empreinte génétique est obtenue par DGGE de fragments de gènes d'ARNr 16s. Ils observèrent des changements au niveau des bandes dominantes en comparant les profils DGGE des communautés bactériennes présentes sur la surface du béton sain et du béton corrodé. Avec l'utilisation d'outils statistiques, il a été possible de distinguer deux groupes différents, correspondants à la communauté microbienne de tuyaux sains et corrodés respectivement. La caractérisation des communautés microbiennes a montré que les séquences de bandes les plus représentatives présentent le plus haut niveau de correspondance avec les séquences des souches bactériennes *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus* sp., *Mycobacterium* sp., et différents hétérotrophes appartenant aux α-, β- et γ-*Proteobacteria*, *Acidobacteria* et *Actinobacteria* (Welton et al., 2005).

5.1.4. Détection de biomolécules

Les cellules peuvent être détectées et quantifiées par analyse de molécules biologiques spécifiques, telles que les protéines, les phospholipides, les acides nucléiques, la chlorophylle ou les enzymes. Les dosages d'enzymes peuvent être particulièrement utiles, étant donné qu'ils mesurent les cellules actives plutôt que simplement les cellules qui peuvent se reproduire pour donner des colonies sur milieu solide (Welton et al., 2005).

5.1.5. Coloration des cellules

Différentes colorations peuvent être utilisées pour rendre les cellules microbiennes visibles au microscope. Certains colorants fluorescents, tels que l'acridine orange et DAPI (4',6-diamino-2-phenyllindole) permettent de compter les cellules et de distinguer leur forme, sans les enlever du substrat. D'autres colorants fluorescents permettent de différencier les cellules vivantes ou actives de celles qui sont mortes ou non-actives (Welton et al., 2005).

L'utilisation de l'acide périodique et du réactif de Schiff permet la coloration en rouge de composés tels que les EPS, le glycogène, l'amidon, la cellulose, la chitine, les complexes protéines-carbohydrates, et les glycolipides. Cette technique a été proposée pour les matériaux de construction par Warscheid (1990) et a été ensuite appliquée avec succès pour estimer l'étendue de la colonisation microbienne sur/dans les matériaux (Urzì et Albertano, 2001).

5.2. Analyses physiques et chimiques

5.2.1. Analyse chimique élémentaire par voies physiques

Les méthodes physiques couramment utilisées sont la spectrométrie d'absorption atomique (SAA), la spectroscopie d'émission atomique par plasma (ICP), et la spectrométrie de fluorescence X (SFX). Les spectromètres utilisés comportent tous une source lumineuse (SAA) ou une source d'excitation (ICP et SFX), un monochromateur, un système de comptage et très souvent un micro-ordinateur pour l'acquisition et le traitement des données. Ces méthodes physiques sont des méthodes comparatives qui nécessitent des étalonnages réalisés soit à partir de matériaux étalons de composition connue avec précision, soit à partir de mélanges synthétiques préparés avec des produits de pureté analytique ou bien encore en utilisant des solutions prêtes à l'emploi. Ces étalons servent à l'établissement de courbes d'étalonnage qui permettent de déterminer la concentration de l'élément dans le produit à analyser. Pour les méthodes SAA et ICP, les analyses sont réalisées après mise en solution des matériaux. Par contre, pour la SFX, les analyses sont effectuées directement sur le matériau en poudre (Witier et al., 1999).

5.2.2. Analyse minéralogique d'un matériau

Elle a pour objet l'identification et le dosage des minéraux constitutifs du matériau. Son processus est très différent de celui de l'analyse chimique qui ne donne que la composition élémentaire des matériaux, exprimée en oxydes, à l'exception de quelques cas où les teneurs de certaines espèces minérales peuvent être calculées directement à partir de l'analyse élémentaire (chlorures alcalins, carbonates de calcium). L'analyse minéralogique utilise les résultats de plusieurs méthodes instrumentales qui sont utilisées pour caractériser un minéral par :

- sa structure cristalline (répartition des atomes dans des réseaux géométriques), qui est mise en évidence par la diffractométrie des rayons X.
- son réseau cristallin, qui peut être extrait du spectre de diffraction de rayons X obtenu sur l'échantillon (méthode de Debye et Scherrer) ;
- sa teneur dans un mélange, qui peut être déterminée, dans certains cas par la diffractométrie quantitative de rayons X, par les méthodes dites de l'étalon interne, de l'étalon externe et d'addition ; les choix des raies et des étalons peuvent parfois

poser des problèmes dans le cas de composés comportant plusieurs minéraux, ce qui entraîne une erreur relative souvent élevée sur les résultats obtenus ;

- sa morphologie (taille et forme des particules), ainsi que ses défauts (dislocation, joints de grain, etc.) qui peuvent être observés ou évalués par microscopie optique et électronique ;
- sa composition élémentaire approchée, qui peut être déterminée localement par l'analyse à la sonde électronique (dite sonde de Castaing) ou au microscope électronique à balayage équipé d'un spectromètre X soit à dispersion de longueur d'onde soit à dispersion d'énergie (EDS) ;
- son comportement thermique (polymorphisme en fonction de la température, identification et dosage de certaines phases cristallines et surtout amorphes, état de l'eau dans les hydrates), qui peut être mis en évidence principalement par analyse thermogravimétrique (ATG), par analyse thermique différentielle (ATD), par analyse enthalpique différentielle (AED, DSC) et aussi par dilatométrie ;
- les énergies de réaction, d'oxydation et de décomposition, exprimées en variation d'enthalpie, qui peuvent être mesurées par microcalorimétrie, par analyse enthalpique différentielle. Les énergies de liaison intramoléculaires et interatomiques qui peuvent être révélées dans certains cas par la spectrométrie d'absorption dans l'infrarouge (Broll, 1996).

5.2.3. Exemples d'application

Nele De Belie et al. (2004) ont travaillé sur l'analyse de matériaux de construction soumis à la biodétérioration. Ils ont analysé du béton, des mortiers, et des pierres. Le but de leur étude était de déterminer la composition de composés cristallins formés suite à l'action de micro-organismes. L'observation au MEB a montré la présence de cristaux formés sur des échantillons de béton suite à l'interaction avec des acides organiques produits par des bactéries. Les analyses DRX ont révélé que ces cristaux contenaient de l'acétate de calcium, différents hydrates d'acétate de calcium, et des hydrates de lactate de calcium. Ces analyses ont également montré que les cristaux de carbonate de calcium formés par l'action microbiologique de *Bacillus sphaericus* étaient de la vatérite et de la calcite.

Moema Ribas Silva et al. (1995) ont étudié la biodétérioration du béton en combinant l'analyse de plusieurs techniques : ATD-TG, DRX, et MEB/EDS. Ces techniques ont donné des informations très utiles sur les caractéristiques du matériau concernant la biodétérioration.

Les analyses ATD et DRX ont permis d'identifier les composés amorphes et cristallisés, y compris les produits issus de la détérioration. Les analyses MEB/EDS ont permis d'observer, entre autres, la présence de ces composés, la texture du matériau et également de détecter la présence de micro-organismes et de caractériser leur morphologie.

6. Les outils actuels de lutte contre la biodétérioration

Lorsque les processus de la biodétérioration sont considérés importants, le développement et la sélection de traitements résistants aux micro-organismes sont conseillés. D'un autre coté, les mesures peuvent être de très courte durée, et peuvent même conduire à une augmentation de la contamination microbienne et par conséquent de l'activité biodétérioratrice (Warscheid et Krumbein, 1996).

6.1. Nettoyage

Le nettoyage à l'eau des surfaces aide à enlever les efflorescences et les sels solubles, mais à long terme cela conduit à une répartition microbienne plus importante due à l'augmentation de l'humidité (Warscheid et al., 1988a). Les nettoyages physiques et chimiques peuvent occasionner une décoloration et de sévères dommages aux ouvrages (Ashurst et Ashurst, 1990).

6.2. Méthodes chimiques

Au Brésil, le coût pour repeindre les bâtiments sont estimés approximativement à 4% du coût total des bâtiments, et il est nécessaire de repeindre environ tous les 2 à 5 ans, selon les caractéristiques du bâtiment. Les biocides (en particulier les algicides et les fongicides) sont généralement incorporés dans les formulations des peintures dans le but d'allonger la période entre deux opérations de peinture. Les biocides commerciaux et les substances actives antimicrobiennes peuvent être classées en : alcools, aldéhydes, acides organiques, esters, phénols et leur dérivés, composés halogénés, métaux et substances organo-métalliques, oxydants, enzymes, surfaces actives, divers produits synthétiques organiques (Allsopp et Allsopp, 1983).

L'utilisation de biocides a un impact négatif sur l'environnement : ils peuvent être lessivés et se retrouver dans différents compartiments écologiques. L'objection la plus importante à

l'utilisation de biocides pour les ouvrages exposés à la fréquentation humaine est l'impact écotoxicologique des agents biocides. Les effets allergènes et synergiques des biocides sur la santé humaines ne sont pas totalement compris. Ces effets potentiels doivent être sérieusement considérés lors de la sélection d'un biocide et de sa méthode d'application (Warscheid et Braams, 2000). En ce qui concerne la recherche de traitements moins agressifs pour l'environnement, Leznicka (1992) a démontré l'efficacité à long terme de l'éthyl ester p-hydroxybenzoïque (PHB, Aseptine A) en combinaison avec des résines de silicones pour contrôler la biodétérioration causée par les champignons et les algues (Warscheid et Braams, 2000).

Plus récemment, le projet européen PICADA (Photocatalytic Innovative Covering Applications for De-pollution Assessment, 2006) a vu le jour. L'objectif est de développer une gamme de revêtements de façades autonettoyants et dépolluants à base de photocatalyseur, le TiO_2. Ce projet regroupe des centres de recherche, dont le CSTB, des industriels des matériaux, de la chimie et du bâtiment.

6.3. Méthodes physiques

Les traitements par radiation ionisantes et l'irradiation sous UV ont prouvé leur efficacité contre la contamination microbienne des pierres. Cependant leur application est limitée aux objets mobiles et de petites tailles (Warscheid et Braams, 2000).

7. La biodétérioration étudiée à l'échelle du laboratoire

De nombreuses études sur la biodétérioration portent sur des études cas. Les travaux dédiés à l'étude de la biodétérioration en laboratoire sont moins nombreux. De plus, la biodétérioration est un sujet tellement vaste de par la variété des matériaux touchés et la diversité microbienne concernée, que les tests ont besoin d'être adaptés et optimisés selon le contexte que l'on souhaite étudier. Nous présentons ici des essais de laboratoire sur l'étude de la biodétérioration de mortiers ou béton, sur lesquels nous nous sommes basés pour développer notre test accéléré. Le tableau 1 reprend les matériels et méthodes de chaque essai, afin d'avoir une vision générale des points communs et des différences entre ces essais.

7.1. Etude de M. A. Shirakawa sur le développement d'une méthode pour évaluer la bioréceptivité d'un enduit de plâtre intérieur à la croissance fongique (Shirakawa et al., 2003)

Le but de cette étude était de développer et de standardiser un essai de laboratoire accéléré pour détecter la bioréceptivité d'un mortier intérieur au développement fongique. Pour déterminer les souches fongiques dominantes en conditions naturelles, un isolement à partir d'échantillons de mortier prélevés sur 41 bâtiments a été réalisé dans deux villes de l'état de São Paulo au sud-est du Brésil. Le genre le plus retrouvé est *Cladosporium*. Différents mortiers ont été étudiés. Plusieurs paramètres ont été testés pour déterminer les facteurs qui influencent la bioréceptivité fongique : le type de mortier, le degré de carbonatation et les valeurs de pH du mortier, l'humidité relative. Tous les mortiers sauf un ont montré un développement fongique significatif. Cependant la croissance a lieu à 100% HR. L'interaction entre *Cladosporium sphaerospermum* et le mortier a été étudiée par MEB/EDS.

7.2. Etude d'Arnaud Dubosc sur la mise au point d'essais accélérés de vieillissement pour l'étude du développement de salissures biologique sur les parements en béton (Dubosc, 2000 ; Escadeillas et al., 2007)

L'objectif de cette étude était de mettre au point, en laboratoire, des bancs d'essais simulant des conditions propices aux développements biologiques sur des supports cimentaires. Dans le cadre de cette étude, seul l'aspect esthétique du problème était pris en compte. Des investigations dans la région toulousaine ont confirmé la présence majoritaire d'algues dans les recouvrements visibles de murs salis, et notamment des espèces ubiquistes des classes cyanophycées et chlorophycées. Pour la mise au point des essais de vieillissement, une méthodologie générale a été appliquée (choix et préparation des espèces, préparation des corps d'épreuve, techniques de quantification, etc..). Plusieurs conditions environnementales ont été testées, conduisant à développer quatre essais complémentaires variant par le mode d'humidification du support (remontée capillaire, écoulement, brumisation et maintien dans différentes hygrométries). Les essais de validation, effectués sur différentes formulations de mortier, ont montré que trois simulations donnent des résultats positifs en moins de deux mois et peuvent être retenus pour des études ultérieures. De plus, ces essais ont montré que si les algues chlorophycées se développent rapidement dans des conditions d'humidité favorables, les cyanophycées sont plus résistantes aux périodes sèches. Ils ont aussi mis en évidence que

la porosité et la rugosité du matériau sont des facteurs de premier ordre pour les développements biologiques sur support cimentaire.

Ces travaux ont été approfondis par Escadeillas et son équipe (2007). Cela a abouti au développement de deux tests de croissance algal sur des mortiers. Le premier recrée le développement de salissures observées à la base des murs et liées aux remontées capillaires. Le second simule les salissures observées sur la partie haute des murs ou pour des localisations particulières (rebords de fenêtre, pilier de ponts…) qui sont essentiellement dues au ruissellement.

7.3. Etude de de Moraes Pinheiro, sur l'altération de la microstructure du béton par les mécanismes de la biodétérioration (de Moraes Pinheiro et al., 2003)

Les travaux de de Moraes Pinheiro et al. portent sur l'impact du développement du champignon *Cladosporium sphaerospermum* sur des échantillons en béton. L'étude s'inspire des travaux de Shirakawa (1999) et de Dubosc (2000). Elle consiste en l'analyse d'échantillon de béton soumis à une contamination fongique.

Pour évaluer l'impact sur la microstructure, les techniques suivantes ont été utilisées : MEB/EDS, DRX, ATD-TG, analyses chimiques, et calculs minéralogiques. Ces techniques ont permis d'observer des altérations dans la microstructure d'échantillons inoculés et non inoculés soumis à l'incubation, telles que la présence de gypse et un déficit en aluminium et en fer dans le matériau. La présence de gypse montre une attaque sulfatique. Ces altérations peuvent cependant être originaire d'une contamination bactérienne observée au MEB et peuvent être caractérisées morphologiquement. Une autre altération observée au MEB est la solubilisation de certains cristaux de carbonates de calcium, qui indique que *Cladosporium sphaerosperum* prend place dans le processus d'altération.

7.4. Etude de Akira Ohshima sur le développement de champignons et d'algues sur un mortier (Ohshima et al., 1999)

Cette étude traite de la relation entre la croissance de champignons et d'algues et la structure poreuse du béton. Des échantillons de mortier ont été préparés avec différents rapports eau/ciment et différentes périodes de séchage. Les échantillons ont été inoculés par aspersion de suspension de spores de champignons et d'algues, puis ont été incubés en conditions

accélérées. Les mêmes échantillons ont été également exposés à l'extérieur. Le test fongique accéléré a consisté à déposer les échantillons avec un angle de 30° par rapport à la verticale. Chaque semaine une solution nutritive a été vaporisée avec la suspension de spores. Les conditions d'incubation ont été accélérées par l'ajout progressif de nutriments, ainsi que par l'augmentation de la température, et de l'humidité. Le test accéléré avec les algues est similaire, avec en plus une exposition à la lumière UV. Les échantillons ont été exposés à l'extérieur pendant 1,5 ans. Les auteurs ont conclu que dans les conditions accélérées, les croissances fongique et algale étaient modérées avec une source de nutrition inorganique, mais l'addition d'une source de nutriments organiques a provoqué une croissance rapide. L'apport de nutriments organiques a donc eu un effet accélérateur. D'autre part, la croissance des algues a été affectée par l'équilibre hydrique dans la structure poreuse. Lorsque l'humidité relative était la même, la teneur en eau variait selon le réseau poreux. Cet équilibre est corrélé avec la croissance des algues. La croissance des champignons est également affectée par l'équilibre hydrique, mais dans une moindre mesure. En revanche, la croissance fongique est hautement affectée par le mode de nutrition, car les champignons sont hétérotrophes. En ce qui concerne les échantillons exposés à l'extérieur, aucune croissance fongique n'est observée, mais une croissance algale est constatée (Ohshima et al., 1999).

7.5. Etude d'Hélène Barberousse sur la recherche des facteurs favorisant l'implantation des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France (Barberousse, 2006)

Une partie de l'étude était dédiée à l'évaluation de la résistance à la colonisation par des micro-organismes d'éprouvettes de matériaux à l'aide d'un banc d'essai par ruissellement d'eau. Ce banc d'essai était inspiré de l'essai mis au point par Boulon et repris par Dubosc. Le système consistait en un caisson de verre, dans lequel étaient installés deux supports inclinés à 45°. Le principe était le suivant : le caisson était rempli d'une culture de micro-organismes qui était pompée et venait ruisseler sur le haut des éprouvettes. Le ruissellement de la culture à la surface des matériaux reproduisait le phénomène de colonisation d'un revêtement de façade : les micro-organismes, transportés par la solution avait la possibilité de s'accrocher et d'adhérer au revêtement en fonction des caractéristiques du matériau. Ces essais ont montré que des facteurs, tels que la porosité, la rugosité, et le pH de surface des matériaux, influent sur la colonisation par les micro-organismes.

7.6. Etude de Clara Urzì et Filomena De Leo sur l'évaluation de l'efficacité de biocide et de composés hydrofuges contre la colonisation microbienne de mortiers (Urzì et al., 2007)

Le but de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'un traitement sur un mortier contre la colonisation microbienne. Les expériences ont été menées en laboratoire et également en conditions naturelles par exposition des échantillons à l'extérieur sur une terrasse. Deux compositions de mortier, 3 composés hydrofuges et 2 biocides ont été testés. Les échantillons de mortiers ont été inoculés soit par une suspension de spores fongiques, soit par une suspension bactérienne ou par une suspension d'algues et cyanobactéries. Les résultats obtenus montrent que les mortiers non traités possèdent une importante bioréceptivité. Il a également été montré que l'application de composés hydrofuges seuls n'était pas suffisante pour prévenir le développement du biofilm sur la surface. Au contraire, il est apparu évident que la combinaison de composés hydrofuges et de biocides appliqués en même temps, pendant 15 mois en condition de laboratoire, créait des conditions défavorables au développement microbien. Des résultats similaires ont été obtenus pour une exposition à l'extérieur. En effet, les « black fungi » (champignons *Dematiceous*) se sont révélés être les principaux colonisateurs des mortiers traités ou non avec l'hydrofuge seul. Ceci peut s'expliquer par le fait que les champignons peuvent se développer à des humidités moins élevées que les algues et les bactéries.

7.7. Etude K. F. Nielsen sur l'influence de l'humidité et de la température sur le développement fongique ainsi que des métabolites secondaires agissant sur des matériaux de construction (Nielsen et al., 2004)

Ce travail porte sur l'influence de la température et de l'humidité relative sur la croissance et le métabolisme de 8 champignons microscopiques vis-à-vis de 21 types de matériaux de construction différents (matériaux à base de bois, ciment, gypse, laine de verre, …). Les champignons ont été inoculés sous forme déshydratés sur les matériaux, et ont été incubés à 5°C, 10°C, 20°C ou 25°C pour 3 valeurs d'humidité relative dans une gamme allant de 69% à 90% HR, pendant 4 à 7 mois. Les résultats ont montré que la limite inférieure pour le développement fongique sur les matériaux en bois et en composites à base de bois était de 78% HR, à 20-25°C et augmentait à 90% à 5°C. Une humidité relative de 86% était nécessaire pour avoir un développement fongique sur des plaques de plâtre. Le développement a été détecté sur les matériaux en céramiques pour une humidité relative

supérieure à 90%, bien que 95% HR était nécessaire pour détecter chimiquement la biomasse. Seulement *Aspergillus*, *Penicillium* et *Eurotium* se sont développés sur les matériaux inoculés. La production de métabolites secondaires et de mycotoxines ont diminué avec les valeurs d'HR. De plus, les quantités de métabolites ont été non significatives par rapport à celles obtenues pour des humidités relatives élevées (>95% HR) sauf pour *Eurotium* (Nielsen et al., 2004).

8. Conclusion

Nous avons vu dans ce chapitre que les micro-organismes ont la capacité de se développer sur les matériaux de construction, et sont responsables de changements dans la coloration, et dans les propriétés chimiques et physiques. Nous rappelons ici les points essentiels :

- La biodétérioration est influencée par les conditions environnementales, telles que le vent, la pluie ou encore l'exposition à la lumière, mais également par la bioréceptivité : la composition de la matrice, le pH de surface, la porosité, et la rugosité.
- Les mécanismes impliqués dans la biodétérioration sont d'ordre esthétique (développement des micro-organismes), chimique (utilisation de la surface comme source de nutriments, production de métabolites acides), et physique (pression exercée sur le matériau pendant la croissance des micro-organismes).
- Les principaux micro-organismes impliqués dans la biodétérioration sont les bactéries, les champignons, les algues et les cyanobactéries.
- Les techniques d'analyses couramment utilisées pour l'étude de la biodétérioration sont empruntées à la microbiologie pour l'analyse de la communauté microbienne (méthodes classiques de microbiologie, méthodes moléculaires, …), et au domaine des matériaux pour la caractérisation de la matrice (DRX, ATD-TG, porosimétrie …). Les microscopies optique ou électronique apportent également de précieuses informations sur l'interaction entre les micro-organismes et la matrice.

Tableau 1 : Synthèse des protocoles utilisés pour les essais de laboratoire sur la biodétérioration des matériaux

	matériau étudié				
Auteurs	**nature**	**taille échantillon**	**conservation**	**traitement**	**stérilisation**
Shirakawa et al.	mortier	4 x 4 x 1 cm 1 x 1 x 0,3 cm	démoulage après 24h 48h à 22°C et 80% HR	carbonatation à 80% HR sous 5% CO_2 durée : 10 à 56 jours	Autoclavage 2h à 110°C puis séchage 72h à 80°C et acclimatation 6 jours à 25°C à 100% HR
de Moraes Pinheiro et al.	béton	5 x 5 x 1 cm	démoulage après 24h 15 jours cure humide puis 10 jours en laboratoire	carbonatation atmosphère saturée en CO_2 65% < HR < 70% 25°C < T < 30°C durée : 120 jours	alcool ethylique puis séchage et acclimatation 6 jours à 25°C
Ohshima et al.	mortier	4 x 4 x 1 cm	démoulage après 24h ou après 28 jours puis conservation à 20°C et 60%HR		oxyde d'éthylène gazeux
Dubosc Escadeillas et al.	mortier	5 x 5 x 1 cm	démoulage après 24h conservation 24h sous cellophane puis 15 jours à 20°C et 50% HR	carbonatation sous 50% CO_2 60%<HR<70% durée : 1 à 3 mois	non
Barberousse	mortier	20 x 8 x 1 cm	conservation 48h sous film puis 26 jours à 23°C et 50% HR et démoulage	carbonatation 5 jours sous eau puis 5 jours à 23°C et 50% HR	non
Urzì et De Leo	mortier	1 x 1 x 0,5 cm		immsersion 3 secondes dans une solution avec biocide seul ou hydrofuge seul ou hydrofuge + biocide puis séchage 72h sur papier filtre	non
Nielsen et al.	matériaux construction	25 x 15 x 5 cm	3 mois à 65% HR	non	ionisation rayonnement gamma

micro-organismes	inoculation	incubation T°C	incubation HR %	incubation durée	techniques analyses	références
champignon *Cladosporium sphaerospermum*	suspension de spores concentration 10^5 spores/ml 25 µl	25 °C	75% 85% 100%	30 jours	microscope optique MEB MEBE/EDS	Shirakawa et al, int. Biodeter. & Biodeg. 2003, 51: 83-92
champignon *Cladosporium sphaerospermum*	suspension de spores concentration 10^4 spores/ml 250 µl	25°C	NC	60 jours	MEB/EDS DRX ATD-TG calcul minéralogique	de Moraes Pinheiro et al., proceeding of conference on microbial impact on building material, Lisbon, 2003
champignon *Aspergillus niger* *Penicilium citrinum* *Cladosporium cladosporioides*	suspension de spores	26°C 29°C	NC NC	21 jours 42 jours	Index de croissane	Ohshima et al., transaction of the japan concrete institute vol 21, 1999
algue *Chlorella vulgaris* *Oscillatoria laetevirens*	suspension de spores	26°C 29°C	NC NC	21 jours 42 jours	porosimétrie Hg	
algue *Chlorhormidium* *Chlorella*	culture liquide	21°C 25°C	80% 95%	60 jours	microscope optique MEBE analyse d'images colorimétrie	Dubosc, Thèse de doctorat INSA Toulouse, 2000
cyanobactérie *Chroococcidiopsis*		21°C 25°C	80% 95%	60 jours	dosage chla résistance mécanique microscrope confocale	Escadeillas et al., Materials and Structures, 2007, 40: 1061-1071
algue *Klebsormidium flaccidum* *Stichococcus bacillaris* *Chlorella*	culture liquide	23°C	50%		MEB MET porosimétrie Hg rugosimétrie laser	Barberousse, Thèse de doctorat Muséum National d'Histoires Naturelles, 2006
champignon *Aletrnaria alternata* *Cladosporium* sp.	suspension spores concentration 10^5 cfu/ml 0,1 ml	Tamb		15 mois	microscope optique	
bactérie *Micrococcus* sp.	suspension cellulaire - 0,1 ml concentration 10^7 cellules/ml	Tamb		15 mois	microscope à épifluorescence	Urzì and De Leo, Int. Biodeter. & Biodeg. 2007
biofilm prélevé sur site *Nostoc* sp., *Chlorella* sp., *Humicola, Ulocladium, Phoma* *Micrococcus*	suspension 0,1 ml	Tamb		15 mois	cultures cellulaires	
16 souches fongiques *Aspergillus, Penicillium,* *Chaetomium, Trichoderma* *Cladosporium, Stachybotrys*	coton tige roulé à la surface de la boîte de pétri puis inoculation en 20 locations sur les échantillons	5°C à 25°C	69% à 90%	4 mois à 7 mois	microscope otpique GC-MS/MS HPLC-DAD	Nielsen et al., int. Biodeter. & Biodeg. 2004, 54: 325-336